

Estudio preliminar de las propiedades físicas y antibacteriales de películas de almidones modificados de avena mezclados con quitosano

Preliminary study of physical and antibacterial properties of films of modified oats starches mixed with chitosan

Juan Manuel Tirado-Gallegos¹, Paul Baruk Zamudio-Flores^{2*}✉, Juan Carlos Bustillos-Rodríguez², Carlos Horacio Acosta-Muñiz², Rogelio Calderón-Loera², Miguel Ángel López-Mata³, Glenda Pacheco-Vargas⁴, María Hernández-González⁵, Haydeé Yajaira López-De la Peña⁵, Adalberto Ortega-Ortega⁶, Gilber Vela-Gutiérrez⁷, Vicente Espinosa-Solis⁸

¹ Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua, Periférico Francisco R. Almada km. 1, C.P. 31453, Chihuahua, Chihuahua, México.

² Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Unidad Cuauhtémoc, Fisiología y Tecnología de alimentos de la Zona Templada. Avenida Río Conchos s/n, Col. Parque Industrial, Apartado postal 781, C.P. 31570, Ciudad Cuauhtémoc, Chihuahua, México. Teléfono: 625 5812920, 21 y 70, Ext. 111.

³ Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad de Sonora, Ciudad Obregón, Sonora, México.

⁴ Instituto Politécnico Nacional, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, km 6 carretera Yautepec-Jojutla, Calle Ceprobi No. 8, Colonia San Isidro, C.P. 62731, Yautepec, Morelos, México.

⁵ Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro 1923, C.P. 2315, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

⁶ Facultad de Ciencias Agrotecnológicas, Universidad Autónoma de Chihuahua, Extensión Cuauhtémoc, Barrio de la Presa s/n, Ciudad Cuauhtémoc, Chihuahua, México, C.P. 31510.

⁷ Laboratorio de Investigación y Desarrollo de Productos Funcionales, Facultad de Ciencias de la Nutrición y Alimentos. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, Libramiento Norte Poniente 1150. Col. Lajas Maciel, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México, C.P. 29000.

⁸ Coordinación Académica Región Huasteca Sur, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. km 5, Carretera Tamazunchale-San Martín, Tamazunchale, San Luis Potosí, México, C.P. 79960.

RESUMEN

Se realizó una modificación física (autoclaveado) y cinco modificaciones químicas (linterización, entrecruzamiento, acetilación, hidroxipropilación y oxidación) al almidón nativo de avena. Los almidones se mezclaron con quitosano (Q) y plastificante (glicerol) para elaborar películas. Las soluciones formadoras de película (SFP) se caracterizaron reológicamente. En las películas se evaluaron las propiedades físicas (color, grosor, humedad y solubilidad), la permeabilidad al vapor de agua y al oxígeno (10 y 25 °C) y las propiedades mecánicas. Se evaluó la actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* mediante el método de difusión en agar. La funcionalidad de las películas como envase de carne picada de cerdo se evaluó mediante el recuento de coliformes fecales y aerobios totales durante 21 días a 4°C. Todas las SFP presentaron comportamiento pseudoplástico. La adición de Q aumentó la tensión a la fractura (TF) y disminuyó el porcentaje de elongación (% E) en todas las películas; siendo la formulación Oxidado-Q la que presentó el mayor incremento ($\approx 200\%$) en TF y la menor disminución (38 %) en %E. Todas las formulaciones con Q presentaron actividad antibacteriana, la cual fue mayor en la película Oxidado-Q y disminuyó con el tiempo de evaluación. En general, los resultados indicaron que la película Oxidado-Q puede representar una formulación conveniente como envase antibacteriano con adecuadas propiedades físicas, mecánicas y de barrera.

*Autor para correspondencia: Paul Baruk Zamudio-Flores

Correo-e: pzamudio@ciad.mx

Recibido: 20 de junio de 2023

Aceptado: 29 de febrero de 2024

Publicado: 8 de abril de 2024

Palabras clave: Películas degradables, autoclaveado, linterización, propiedad antibacteriana, permeabilidad al vapor de agua, solubilidad.

ABSTRACT

One physical modification (autoclaving) and five chemical modifications (linterization, crosslinking, acetylation, hydroxypropylation, and oxidation) were performed on the native oat starch. The starches were mixed with chitosan (Ch) and plasticizer (glycerol) to make films. The film-forming solutions (FFS) were characterized rheologically and evaluated for physical properties (color, thickness, humidity and solubility), water vapor and oxygen permeability (10 and 25 °C), and mechanical properties. Antibacterial activity was evaluated against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* by the agar diffusion. The functionality of the films as packaging in ground pork was evaluated by counting fecal coliforms and total aerobes for 21 days at 4°C. All the FFS presented a pseudoplastic-type behavior. The addition of Ch increased the stress at fracture (TF) and decreased the percentage elongation (% E) in all the films; being the Oxidized-Ch formulation the one that presented the greatest increase ($\approx 200\%$) in TF and the smallest decrease (38 %) in % E. All formulations with Ch presented antibacterial activity, which was higher in the Oxidized-Ch film and decreased with the evaluation time. The results

generally indicated that the Oxidized-Ch film may represent a suitable formulation as antibacterial packaging with adequate physical, mechanical, and barrier properties.

Keywords: Degradable films, autoclaving, lintnerization, antibacterial property, water vapor permeability, solubility.

INTRODUCCIÓN

El uso de películas biodegradables como envases para conservar la calidad de los alimentos ha aumentado de manera considerable en los últimos años. Estas películas se elaboran a partir de biopolímeros renovables y naturales con el objetivo de reducir los problemas de contaminación ambiental causados por el uso excesivo de envases sintéticos no biodegradables (Mali *et al.*, 2006; Biduski *et al.*, 2017). El almidón es un biopolímero que ha sido ampliamente utilizado para elaborar películas biodegradables, obteniéndose comercialmente de diversas fuentes botánicas como la papa (Wu *et al.*, 2009), maíz (Cheng *et al.*, 2010) y trigo (Delville *et al.*, 2003). Sin embargo, el almidón de algunos cereales como la avena ha sido muy poco estudiado en la elaboración de películas biodegradables, a pesar de que se ha reportado que forma películas con propiedades mecánicas y de barrera similares a las que se obtienen de las fuentes comerciales (Galdeano *et al.*, 2014; Zamudio-Flores *et al.*, 2015). Generalmente se considera que las películas de almidón nativo presentan algunas desventajas en comparación con los materiales plásticos sintéticos comunes, las cuales son atribuidas principalmente a su carácter hidrofílico y a su tendencia a la retrogradación (Mali *et al.*, 2005; Hernandez-Izquierdo y Krochta, 2008). Para reducir estas desventajas y diversificar sus aplicaciones, el almidón ha sido modificado químicamente (Zamudio-Flores *et al.*, 2010; Pérez-Gallardo *et al.*, 2012), además de que ha sido mezclado con otros biopolímeros, como el quitosano (Shen *et al.*, 2010; Lopez *et al.*, 2014). Actualmente existen diversos reportes sobre películas de almidones modificados mezclados con quitosano, un biopolímero policatiónico, que además de formar películas biodegradables, presenta propiedades antimicrobianas (Ruiz-Navajas *et al.*, 2013; Lopez *et al.*, 2014).

Por otra parte, la modificación química del almidón nativo reduce su carácter hidrofílico (Arijaje *et al.*, 2014; Osundahunsi *et al.*, 2014) e incrementa las propiedades mecánicas y de barrera de sus películas (López *et al.*, 2008; Zamudio-Flores *et al.*, 2010), así como también otorga diversas funcionalidades a las películas elaboradas con este polisacárido (López *et al.*, 2010; Lago-Vanzela *et al.*, 2013; Zamudio-Flores y Bello-Pérez, 2013). Debido a que el almidón químicamente está conformado por unidades de anhidroglucosa, las cuales presentan grupos hidroxilo (OH⁻) en las posiciones del C-2, C-3 y C-6, la modificación química del almidón se logra con la sustitución de estos OH⁻ por grupos éster (acetilación), éter (hidroxipropilación) y carboxilo (oxidación), así como por el entrecruzamiento por grupos que estabilizan las estructuras de cadenas adyacentes (Rutenberg y Solarek, 1984; Wurzburg, 1986; López *et al.*, 2008).

Comparado con otros almidones, el almidón de avena (60 % del peso del grano) destaca por presentar un conte-

nido superior en lípidos (1-3 %), lo que puede conducir a incrementar el carácter hidrofóbico de sus películas, reduciendo así su permeabilidad al vapor de agua, una de las más grandes desventajas en este tipo de materiales (Galdeano *et al.*, 2014). Aunque ya se han reportado algunos estudios sobre películas de almidón de avena, al momento no existen investigaciones sobre almidones modificados por tratamientos físicos y químicos a partir de esta fuente y de sus mezclas con quitosano, ni tampoco del efecto antibacterial en estas películas biodegradables. Por tal razón, en este estudio se realizó una modificación física (autoclaveado) y cinco modificaciones químicas (lintnerización, entrecruzamiento, acetilación, hidroxipropilación y oxidación) a un almidón nativo de avena con dos objetivos:

- 1) Preparar películas con los almidones modificados y evaluar el efecto de las modificaciones y la inclusión de quitosano sobre sus propiedades físicas, mecánicas y de barrera, y 2) Determinar por medio de difusión en placa el efecto de la adición de quitosano sobre las propiedades antibacteriales de las películas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Se utilizaron 5 kg de avena (*Avena sativa* L.) descascarillada, procedentes de Canadá, obtenidos de la compañía Avenas del Norte S.A. de C.V. (Cuauhtémoc, Chihuahua, México). El quitosano (% de desacetilación = 75 – 85 %; peso molecular = medio (250 kDa); viscosidad = 200 cps) y todos los reactivos químicos utilizados fueron de grado analítico, adquiridos en Sigma-Aldrich, Co. (Toluca, Estado de México, México).

Aislamiento del almidón y modificación física por autoclaveado

El almidón se aisló de acuerdo con la metodología reportada por Zamudio-Flores y Bello-Pérez (2013). La modificación física se realizó siguiendo el protocolo reportado por Berry (1986). Para lo cual se preparó una dispersión con 60 g y 210 mL de agua. Posteriormente, esta dispersión se autoclaveó (121 °C, 103 kPa) durante 1 h, luego se dejó enfriar a temperatura ambiente (20 ± 5 °C) y se almacenó a 4 °C por 24 h. Este proceso se repitió tres veces. Finalmente se liofilizó, se molió en un mortero y se tamizó (tamiz estándar de 70 µm, US 200) para homogeneizar el tamaño de las partículas. Este proceso de molienda y tamizado se realizó después del secado en todas las modificaciones.

Lintnerización

La lintnerización o también llamada como hidrólisis ácida se realizó mediante la metodología reportada por Shin *et al.* (2003). Para lo cual, se pesaron 500 g de almidón de avena y se mezclaron con 400 mL de ácido clorhídrico (HCl) 1 N a 35 °C bajo agitación constante (50 rpm) por 6 h. Posteriormente se adicionaron 400 mL de hidróxido de sodio (NaOH) 1 N a pH 6.0. Los sólidos del almidón se lavaron 6 veces, utilizando 1500 mL de agua destilada en cada lavado. Finalmente, la mezcla se secó en una estufa de convección (VWR, Scientific Products, modelo 1370GM-2, Corneliuss, Oregon, USA) a 45 °C durante 24 h.

Entrecruzamiento

Para el entrecruzamiento se utilizó el método reportado por Seib y Woo (1999). Para lo cual, 50 g de muestra se mezclaron con 70 mL de agua destilada, 5.6 g de tripolifosfato de sodio, 10 g de sulfato de sodio y 11 g de trimetafosfato de sodio. El pH de la mezcla se ajustó a 11.5 con la adición de NaOH 1 N. Posteriormente, la dispersión se agitó constantemente y se calentó a 45 °C por 3 h. Después de este tiempo, el pH de la dispersión se ajustó a 6.5 con HCl 1 N y se realizó un lavado, dejando un tiempo de 5 h de reposo. La suspensión se secó en una estufa a 45 °C durante 8 h, para obtener el almidón modificado.

Oxidación

El almidón nativo de avena se oxidó con hipoclorito de sodio (NaOCl) a una concentración de 0.5 % de cloro activo siguiendo la metodología reportada por Wang y Wang (2002). Se mezclaron 200 g de almidón (base seca) en 371 g de agua destilada. Esta dispersión se conservó a una temperatura de 35 °C y el pH se ajustó a 9.5 con NaOH 2 N. Se añadieron, gota a gota, 100 mL de NaOCl al 0.5 % de cloro activo, conservando el pH a 9.5 con H₂SO₄ 1 N. Después de agregar el NaOCl, el pH se ajustó a 9.5 con NaOH 2 N por 50 min. Al término de este tiempo, el pH de la mezcla se neutralizó (pH = 7.0) con ácido sulfúrico (H₂SO₄) 1 N, se filtró al vacío y se lavó con agua millipore para enseguida secarla a 40 °C por 48 h.

Determinación de grupos carbonilo

Los grupos carbonilo (C=O) se determinaron utilizando la metodología reportada por Smith (1967). Se realizó una suspensión de 4 g de almidón (nativo y oxidado) en 100 mL de agua destilada. La muestra se gelatinizó en un baño de agua hirviendo por 20 min, después se enfrió a 40 °C. El pH se ajustó a 3.2 con HCl 0.1 N y se agregaron 15 mL de clorhidrato de hidroxilamina (NH₂OH). Posteriormente la dispersión se dejó a 40 °C en un baño de agua con agitación lenta por 4 h. El excedente de hidroxilamina se tituló a pH 3.2 con HCl 0.1 N.

El contenido de grupos carbonilo se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{Carbonilos} = \frac{[(\text{Blanco} - \text{Muestra}) \text{ mL} \times N \text{ ácido} \times 0.028 \times 100]}{\text{Peso muestra (base seca) en g}}$$

Determinación de grupos carboxilo

El contenido de grupos carboxilo (COOH) del almidón oxidado se determinó con el procedimiento modificado por Chattopadhyay *et al.* (1997). Se mezclaron 2 g de almidón (nativo y oxidado) con 25 mL de HCl 0.1 N, se agitó ocasionalmente por 30 min. La dispersión se filtró al vacío y se lavó con 400 mL de agua destilada. La pasta obtenida se mezcló con 300 mL de agua destilada; la nueva dispersión se gelatinizó en agua hirviendo por 15 min con agitación constante. Transcurrido el tiempo, se agregaron 150 mL de agua destilada a temperatura ambiente (25 ± 3 °C), se disminuyó la temperatura a 35 ± 4 °C, y se tituló a pH 8.3 con NaOH 0.01 N.

Para calcular el porcentaje carboxilo se determinaron los miliequivalentes de acidez con la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Miliequivalentes de acidez}}{100 \text{ g de almidón}} = \frac{[(\text{Muestra} - \text{Blanco}) \text{ mL} \times N \text{ NaOH} \times 0.028 \times 100]}{\text{Peso muestra (base seca) en g}}$$

$$\% \text{ Carboxilos} = \frac{[(\text{miliequivalentes de acidez}) \times 0.045]}{100 \text{ g de almidón}}$$

Donde 0.028 son los miliequivalentes del grupo carbonilo, N NaOH es la normalidad del NaOH y 0.045 son los miliequivalentes del grupo carboxilo.

Acetilación

Se empleó la metodología propuesta por Wurzburg (1986), para la cual se obtuvo una dispersión con 162 g de almidón nativo y 220 mL de agua destilada con agitación constante durante toda la modificación. El pH se ajustó a 8.0 con NaOH 0.75 N y se adicionó gota a gota de anhídrido acético [(CH₃CO)₂O] 0.1 M; simultáneamente se adicionó NaOH 0.75 N para mantener el pH entre 8.0 y 8.4. Al terminar de agregar el (CH₃CO)₂O, el pH se ajustó a 4.5 con HCl 0.5 N. La solución se centrifugó durante 15 min a 755 × g, decantando el sobrenadante para generar una nueva suspensión en agua destilada y nuevamente centrifugar. Este procedimiento se repitió tres veces más. El almidón obtenido se secó en una estufa convectiva a 45 °C por 24 h. Finalmente, se molió, tamizó y almacenó hasta su posterior empleo.

Determinación de porcentaje de grupos acetilo

Para esta determinación se utilizó el método reportado por Wurzburg (1986). Se pesaron 5 g en base seca de almidón (nativo y modificado) y se transfirieron a un matraz Erlenmeyer de 250 mL. Se adicionaron 50 mL de agua destilada y se neutralizó con NaOH 0.1 N utilizando fenolftaleína como indicador. Se añadieron 25 mL de NaOH 0.45 N y la suspensión se mezcló vigorosamente con un agitador magnético por 30 min. La muestra saponificada se tituló con HCl 0.2 N empleado fenolftaleína como indicador.

El porcentaje de grupos acetilo es la cantidad en peso de grupos acetil en el almidón en base seca, y se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Acetilos} = \frac{[(\text{Blanco} - \text{Muestra}) \text{ mL} \times N \text{ ácido} \times 0.043 \times 100]}{\text{Peso muestra (base seca) en g}}$$

Donde N ácido representa la normalidad del ácido y 0.043 son los miliequivalentes del grupo acetilo.

Determinación del grado de sustitución

Para la determinación del grado de sustitución se empleó el método reportado por Wurzburg (1986). En donde el grado de sustitución es representado por el número promedio de grupos hidroxilos (OH) que son reemplazados por unidad de anhidroglucosa y se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{Grado de sustitución (GS)} = \frac{162 \times \% \text{ Acetilos}}{4300 - (42 \times \% \text{ Acetilos})}$$

Donde 162 es el peso molecular de la unidad de anhidroglucosa, 4300 es el producto del peso molecular del grupo acetil por 100, 42 es el peso molecular del grupo acetil - 1.

Elaboración de las películas de almidón adicionadas con quitosano

La elaboración de las películas de almidón nativo, almidones modificados y de sus mezclas con quitosano se realizó con la metodología reportada por Zamudio-Flores *et al.* (2010) con ligeras modificaciones. Para la película de quitosano (Q) se preparó una solución formadora de película (SFP) de este biopolímero al 3 % (p/p). En el caso de las formulaciones a base de almidón nativo o modificados (Almidón nativo, Autoclaveado, Lintnerizado, Entrecruzado, Acetilado, Hidroxipropilado y Oxidado) se prepararon SFP de cada almidón (4 %, p/p) por separado. Finalmente, para las películas a base de almidón con quitosano (Almidón nativo-Q, Autoclave-Q, Lintnerizado-Q, Entrecruzado-Q, Acetilado-Q, Hidroxipropilado-Q y Oxidado-Q), se mezclaron 250 g de SFP de quitosano (3 %, p/p) y 250 g de SFP de almidón nativo o modificado (4 %, p/p) para formar lotes de 500 g totales de SFP. En todas las formulaciones se incluyó glicerol como plastificante al 2 % (p/p, en base a la masa total de la SFP).

Determinación de viscosidad de las soluciones formadoras de películas (SFP)

Para determinar la viscosidad aparente de las SFP se realizaron curvas de flujo utilizando un reómetro AR1500ex (TA Instruments, New Castle, DE, EUA) con la geometría de placas paralelas, equipado con un sistema Peltier a una temperatura controlada de 30 °C. La muestra de SFP (1.5 mL) se depositó entre las placas con un gap de 500 μm . La viscosidad se determinó en función del aumento en la velocidad de deformación de 0.452 a 600 s^{-1} . Las curvas se ajustaron utilizando el modelo reológico de Ostwald-de Wael también nombrado como Ley de Potencia: $\tau = k\gamma^n$; donde: τ = Esfuerzo cortante (Pa), γ = Velocidad de corte ó deformación (s^{-1}), k = Coeficiente de consistencia ($\text{Pa}\cdot\text{s}^n$), n = Índice de comportamiento de flujo (adimensional) (Steffe, 1996).

Propiedades físicas de las películas

Determinación del color

El color tri-estímulo de las películas se evaluó con un colorímetro Minolta CR-300 (Minolta, Osaka, Japón). Las lecturas se registraron en el espacio de color de acuerdo con la escala CIELAB (L^* , a^* , b^*). Las lecturas se tomaron en cinco puntos aleatorios de la superficie de las películas utilizando como fondo el estándar blanco que se usó en la calibración del equipo. Además, se midió el cambio de color (ΔE) de las películas de acuerdo con la siguiente ecuación:

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

Donde $\Delta a = a^*$ estándar - a^* muestra, $\Delta b = b^*$ estándar - b^* muestra y $\Delta L = L^*$ estándar - L^* muestra.

Determinación de humedad, solubilidad y grosor de las películas

El contenido de humedad se determinó de acuerdo a la metodología reportada por Zamudio-Flores *et al.* (2015). Las películas se acondicionaron durante 24 h a una humedad

relativa (HR) de 52 % con una solución salina de NaBr. Se secaron muestras de 0.5 g de cada película en una estufa convectiva (VWR, Scientific Products, modelo 1370GM-2, Corneliuss, Oregon, USA) a 106 °C durante 2 h. El contenido de humedad se reportó como la media aritmética de diez repeticiones para cada formulación de película. La solubilidad de las películas se realizó a 25 y a 80 °C, de acuerdo a la metodología reportada por Zamudio-Flores *et al.* (2015). Para lo cual, se cortaron piezas de películas (2 x 3 cm), se pesaron y colocaron en vasos de precipitados de 150 mL y se adicionaron 80 mL de agua desionizada. Las muestras se conservaron bajo agitación constante (250 rpm) en una placa de calentamiento y agitación controlada (Corning, Modelo PC-620D, EUA) a 25 °C o a 80 °C durante 1 h, posteriormente, las muestras se deshidrataron a 60 °C. El porcentaje de materia soluble [Solubilidad (%)] se determinó de la siguiente manera: Solubilidad (%) = $[\text{Pesos inicial de la muestra} - \text{Peso de la muestra seca}] / \text{Peso inicial de la muestra} \times 100$. El grosor de las películas se midió utilizando un micrómetro digital manual (Mitutoyo Corporation, Modelo IP 65 Coolant Proof, Kobe, Japón) considerando al menos 10 posiciones aleatorias sobre la superficie de la película de acuerdo con la metodología reportada por Zamudio-Flores *et al.* (2006).

Determinación de las propiedades barrera

Permeabilidad al vapor de agua (PVA)

La determinación de PVA se realizó mediante la metodología gravimétrica estándar ASTM-E96-80 (2016). Las películas se cortaron en círculos de 9 cm de diámetro, se acondicionaron en un desecador con una solución de NaBr a una HR de 52 %. Las películas se sujetaron en la parte superior de las celdas de prueba, las cuales contenían sílica gel para generar una HR \approx 0 %. Cada celda se colocó dentro de un desecador con una HR de 60 % generada por una solución saturada de NaCl. El cambio en el peso de las celdas se registró cada hora durante 7 h. La pendiente de la variación en peso contra el tiempo (después de alcanzar el estado estacionario) se determinó por regresión lineal y se utilizó para calcular la velocidad de transmisión de vapor de agua a través de las películas. Las pruebas se realizaron por cuadruplicado a una temperatura de 25 °C para cada formulación de película. El grosor promedio y el área de contacto de las películas se utilizaron para el cálculo de la permeancia y la permeabilidad.

Permeabilidad al oxígeno (PO)

La PO se realizó de acuerdo al método estándar ASTM-D3985-05 (2010). La velocidad de PO se determinó con un sistema Ox-Tran 1/50 (Mocon, Minneapolis, MN, EUA) a la temperatura de 10 y 25 °C. Un lado de la película se expuso a un flujo de nitrógeno puro y el otro a un flujo de oxígeno. Las pruebas se realizaron en modo continuo a 55 ± 3 % de HR, dependiendo de la temperatura. La PO se determinó como el cociente de la velocidad de transmisión de oxígeno y el gradiente de presión parcial entre los dos lados de la película, multiplicado por el grosor promedio de la película. Las pruebas se efectuaron por triplicado para cada película.

Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas TF (tensión a la fractura), ME (módulo de elasticidad) y %E (porcentaje de elongación) se determinaron conforme a la norma estándar ASTM-882-95a (1995), con un analizador de textura universal TAXTPlus (Stable Micro Systems, Surrey, UK) equipado con un par de mordazas (Texture Technologies, Co., UK.) con una velocidad de tensión de 24 mm min⁻¹. La TF es la fuerza que una película puede soportar al aplicar la tensión de tracción antes de que la estructura de la película se rompa, y se calculó como el cociente de la fuerza máxima entre el área de sección transversal (determinada como el producto del grosor por el ancho de la película). El %E se determinó como el cambio en porcentaje de la longitud inicial de la película entre las mordazas. La TF y el %E se determinaron en rectángulos de películas de 6 × 1 cm. Las películas se acondicionaron previamente a una HR de 55 ± 2 % en un desecador con una solución saturada de NaBr. El ME se determinó mediante la pendiente obtenida del comportamiento lineal de la curva del esfuerzo en función de la deformación. Se efectuaron 10 réplicas para cada formulación de las películas.

Evaluación de la actividad antibacterial

La actividad antibacterial de las películas se evaluó con dos metodologías: a) La primera por difusión en agar como lo reportaron Rojas-Graü *et al.* (2006), utilizando las bacterias de *Listeria monocytogenes* (ATCC15313), *Staphylococcus aureus* (ATCC6538) y *Escherichia coli* (ATCC8739), obtenidas de cepas proporcionadas por el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), A.C., (Ciudad Cuauhtémoc, Chihuahua, México). Las bacterias crecieron en caldo tripticaseína enriquecido con 0.6 % (p/v) de extracto de levadura bajo agitación continua durante 24 h. Se inocularon tres mL de este caldo en 150 mL de caldo fresco y se mantuvo en agitación constante por 1 h a 25 °C. Se colocaron 25 mL del agar soya tripticaseína en cajas de Petri, una vez que solidificó se transfirió una alícuota (0.05 mL) del cultivo. Se recortaron círculos de película con 3 mm diámetro y se depositaron sobre el agar. Las muestras se incubaron a 35 °C durante 48 h. El efecto antibacterial de la película se determinó tomando mediciones en la formación de halos de inhibición alrededor de la película. b) La segunda metodología fue la reportada por Bonilla *et al.* (2013). Se utilizó carne molida de puerco moldeada en cubos de 5 cm³ (≈ 5.5 g), cada cubo de carne se cubrió con una película y se colocó en una caja Petri a 4 °C, con HR de 55 % durante 24 h. Se tomaron 10 g de cada muestra y se homogeneizaron en una batidora modelo Robot 180 (Taurus España, S.A. de C.V.) con 90 mL de una solución amortiguadora de peptona (SAP) esterilizada por 2 min, a partir de la cual se realizaron diluciones. Se determinaron los recuentos de microorganismos totales viables y coliformes fecales a los 2, 7, 14 y 21 d. Para los conteos viables, las placas se incubaron a 37 °C por 24 h. Los conteos de coliformes fecales se determinaron utilizando placas de agar bilis rojo violeta incubadas a 37 °C por 48 h. Para cada tratamiento se envolvieron 24 cubos por separado, los conteos se realizaron por triplicado para cada película formulada.

Análisis estadístico

Los experimentos se efectuaron empleando un diseño completamente al azar. Para el análisis de los datos se utilizó un análisis de varianza de un factor mediante el programa estadístico Sigma-Stat, versión 2.03 (Fox *et al.*, 1995). Cuando se encontraron diferencias estadísticas significativas, se usó la prueba de Tukey para la comparación de medias ($P \leq 0.05$) (Walpole *et al.*, 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de grupos carbonilo, carboxilo, acetilo y grado de sustitución (GS)

El contenido de grupos carbonilo y carboxilo en el almidón oxidado fue de 0.19 ± 0.01 % y 0.11 ± 0.02 %, respectivamente. El contenido de grupos carboxilo fue mayor al valor (0.039 %) reportado por Liu *et al.* (2014) en almidones de maíz oxidados con peróxido de hidrógeno, aunque estos investigadores no reportaron el contenido de grupos carbonilo; sin embargo, tanto el contenido de grupos carbonilo como carboxilo fueron similares a los reportados por otros investigadores en muestras de almidones de cebada, maíz (Chávez-Murillo *et al.*, 2008), papa, arroz y maíz oxidados todos con 0.8 y 2 % de hipoclorito de sodio (Kuakpetoon y Wang, 2001). El almidón acetilado presentó un porcentaje de grupos acetilo de 39.5 % con un GS de 1.15. Estos resultados son similares al porcentaje de acetilación de 41.3 % y GS de 1.24 reportados por Teodoro *et al.* (2015) en nano-partículas de almidón acetilado de cassava, el cual fue utilizado como material reforzante para la elaboración de películas termoplásticas. Las diferencias detectadas en el contenido de grupos carbonilo, carboxilo y acetilo en los almidones pueden ser atribuidas al arreglo de la amilosa y amilopectina en una estructura semi-cristalina, a poros o fracturas de la estructura granular, al tamaño de los gránulos, los cuales son particulares para cada fuente botánica del almidón (Wurzburg, 1986; Chávez-Murillo *et al.*, 2008).

Caracterización reológica de las soluciones formadoras de película (SFP)

El análisis del comportamiento reológico de las SFP permite establecer el comportamiento de su flujo durante el procesamiento antes de convertirse en películas (Bof *et al.*, 2015). Con base en el modelo de ley de potencia, se observó que todas las SFP presentaron un índice de comportamiento de flujo (n) < 1, indicando un comportamiento del tipo corte adelgazante (pseudoplástico) con valores que oscilaron de 0.95 en el tratamiento Hidroxipropilado a 0.61 en el Lintnerizado-Q, con una $R^2 > 0.96$ (Tabla 1). La adición de quitosano (Q) en las SFP provocó una disminución significativa ($P < 0.05$) de n en todas las formulaciones, lo cual concuerda con lo reportado por Bonilla *et al.* (2013). Comparando las diversas formulaciones, observamos que las mayores reducciones de n con respecto al Nativo se presentaron en las muestras Lintnerizado-Q y Autoclave-Q, con valores de reducción de ≈ 33 y 27.5 %, respectivamente. Los valores de n de este estudio son similares a los reportados por López *et al.* (2008; 2010) en almidones modificados de maíz.

Tabla 1. Variables reológicas de índice de comportamiento de flujo (n), índice de consistencia (k) y bondad del ajuste (R^2) del modelo Ley de Potencia de las soluciones formadoras de película (SFP)*.**Table 1.** Rheological variables of flow behavior index (n), consistency index (k) and goodness of fit (R^2) of the film-forming solutions (FFS)* Power Law model.

SFP	Variables reológicas		
	n (adimensional)	k (Pa.s ⁿ)	R^2
Almidón nativo	0.91 ± 0.05 ^f	23.18 ± 1.67 ^e	0.985
Autoclave	0.94 ± 0.03 ^f	20.41 ± 2.12 ^d	0.981
Lintnerizado	0.91 ± 0.01 ^f	18.75 ± 1.00 ^{c,d}	0.991
Entrecruzado	0.85 ± 0.04 ^e	15.69 ± 0.90 ^b	0.990
Acetilado	0.91 ± 0.01 ^f	17.83 ± 1.01 ^{b,c,d}	0.981
Hidroxipropilado	0.95 ± 0.01 ^f	18.56 ± 0.85 ^{c,d}	0.987
Oxidado	0.92 ± 0.03 ^f	25.81 ± 0.98 ^f	0.961
Quitosano (Q)	0.84 ± 0.01 ^e	26.95 ± 1.10 ^f	0.970
Nativo-Q	0.72 ± 0.02 ^c	24.61 ± 0.39 ^e	0.985
Autoclave-Q	0.66 ± 0.01 ^b	13.80 ± 0.12 ^a	0.991
Lintnerizado-Q	0.61 ± 0.08 ^a	25.15 ± 1.11 ^f	0.978
Entrecruzado-Q	0.70 ± 0.05 ^c	26.25 ± 0.90 ^{f,g}	0.968
Acetilado-Q	0.71 ± 0.10 ^c	27.78 ± 0.90 ^g	0.980
Hidroxipropilado-Q	0.70 ± 0.01 ^c	28.59 ± 0.78 ^h	0.975
Oxidado-Q	0.78 ± 0.08 ^d	35.85 ± 1.26 ⁱ	0.983

*Valores expresados como la media de cinco replicas ± error estándar. Diferencias estadísticas significativas en cada columna son expresadas mediante diferente letra ($P < 0.05$).

*Values expressed as the mean of five replicates ± standard error. Significant statistical differences in each column are identified by a different letter ($P < 0.05$).

El índice de consistencia (k) varió de ≈ 14 a 36 Pa.s^n en las muestras de Autoclave-Q y Oxidado-Q, respectivamente (Tabla 1); sin embargo, no se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre las muestras Autoclave, Lintnerizado, Acetilado e Hidroxipropilado. La adición de Q incrementó de manera significativa el valor k en los tratamientos Lintnerizado, Entrecruzado, Acetilado, Hidroxipropilado y Oxidado, con mayor efecto en esta última muestra ($\approx 10\%$), sin que se observara diferencia significativa ($P > 0.05$) en la muestra de Nativo. Además, en el autoclaveado se observó un patrón diferente, debido a que el valor disminuyó de 20.4 a 13.8 Pa.s^n . Estos resultados pueden explicarse en función de los valores obtenidos en k para la SFP de Q puro, el cual fue mayor ($k \approx 27 \text{ Pa.s}^n$) a los valores de las SFP de los almidones antes de ser mezclados con Q. Se ha reportado que en las soluciones de Q se puede incrementar la viscosidad al mezclarse con soluciones de almidón, debido a la formación de redes o entramados tridimensionales entre las cadenas adyacentes de las unidades de glucosamina del Q, y por puentes de hidrógeno de los grupos hidroxilo (OH⁻) de las unidades de anhidro-glucosa del almidón (Chillo *et al.*, 2008; Bof *et al.*, 2015; Dang y Yoksan, 2015).

Propiedades físicas de las películas

Color

El color de las películas puede afectar las características visuales del producto cubierto (Fonseca *et al.*, 2015). El tratamiento físico y los químicos en los almidones, afectaron el color de sus películas (Tabla 2) en comparación con las películas de Nativo. La película de almidón sometido a autoclave presentó la menor luminosidad (fue mayormente oscura) con un valor de luminosidad (L^*) de 85.11 , comparada con las películas de Nativo ($L^* \approx 95$). Esto pudo deberse a reacciones de oscurecimiento no enzimático (reacciones de Maillard) que se propiciaron por el tratamiento de calor-humedad y presión, debido a la reacción entre los grupos amino (presentes en proteínas residuales del almidón) y los grupos carbonilo de azúcares reductores (producidos por la hidrólisis del almidón) (Martinez-Alvarenga *et al.*, 2014). Las películas de Oxidado y Oxidado-Q presentaron la mayor claridad ($L^* = 97.40$ y 98.16 , respectivamente), lo cual coincide con valores previamente reportados en películas de almidón oxidado de plátano (Zamudio-Flores *et al.*, 2010; García-Tejeda *et al.*, 2013), cassava (Famá *et al.*, 2007), papa (Fonseca *et al.*, 2015; Zavareze *et al.*, 2012) y almidón de maíz (El Halal *et al.*, 2015). Durante la oxidación, el cloro residual (ya sea como ácido hipocloroso o ion hipoclorito) actúa sobre los compuestos fenólicos involucrados en las reacciones de oscurecimiento enzimático, reduciéndolos y causando una decoloración (blanqueamiento) (Sánchez-Rivera *et al.*, 2005; Zamudio-Flores *et al.*, 2010). Por otra parte, la variable de color a^* en las películas, presentó de manera general valores positivos cercanos a 0 (cero), lo que es indicativo de una tonalidad verde; así mismo, los valores de la variable b^* fueron todos positivos, esto indicó que las películas tendieron hacia la tonalidad

Tabla 2. Evaluación de color en películas de almidón nativo, quitosano, almidones modificados y sus mezclas con quitosano*.**Table 2.** Color evaluation in films of native starch, chitosan, modified starches and their mixtures with chitosan*.

Película	L^*	a^*	b^*	ΔE
Almidón nativo	94.65 ± 0.27 ^e	0.16 ± 0.02 ^d	2.92 ± 0.03 ^b	14.88 ± 2.20 ^{ab}
Autoclave	85.11 ± 0.14 ^a	-0.19 ± 0.01 ^a	5.06 ± 0.02 ^e	12.19 ± 0.06 ^a
Lintnerizado	90.63 ± 0.19 ^b	0.07 ± 0.03 ^{bc}	3.69 ± 0.16 ^c	18.85 ± 0.27 ^e
Entrecruzado	92.15 ± 0.21 ^d	0.45 ± 0.01 ^f	1.25 ± 0.11 ^a	14.78 ± 0.21 ^b
Acetilado	93.78 ± 0.18 ^e	0.51 ± 0.05 ^g	6.13 ± 0.10 ^f	15.21 ± 0.15 ^c
Hidroxipropilado	92.45 ± 0.35 ^d	0.61 ± 0.08 ^h	4.89 ± 0.20 ^d	12.33 ± 0.41 ^a
Oxidado	98.16 ± 0.06 ^g	0.06 ± 0.01 ^b	2.68 ± 0.02 ^b	18.73 ± 0.17 ^e
Quitosano (Q)	92.80 ± 0.33 ^d	0.28 ± 0.08 ^e	4.17 ± 0.28 ^d	11.28 ± 1.13 ^a
Nativo-Q	93.10 ± 0.16 ^e	0.45 ± 0.10 ^{fg}	7.18 ± 0.65 ^g	10.11 ± 1.10 ^a
Autoclave-Q	90.25 ± 0.20 ^b	0.15 ± 0.02 ^d	8.10 ± 0.18 ^h	12.08 ± 0.98 ^a
Lintnerizado-Q	92.16 ± 0.18 ^d	0.25 ± 0.05 ^e	7.11 ± 0.21 ^g	18.15 ± 1.10 ^e
Entrecruzado-Q	91.14 ± 0.45 ^c	0.08 ± 0.01 ^c	6.65 ± 0.11 ^f	17.12 ± 0.85 ^d
Acetilado-Q	93.00 ± 0.87 ^e	0.12 ± 0.02 ^d	7.35 ± 0.20 ^g	15.10 ± 1.08 ^{bc}
Hidroxipropilado-Q	92.85 ± 0.33 ^d	0.40 ± 0.17 ^f	5.40 ± 0.15 ^e	12.11 ± 1.11 ^a
Oxidado-Q	97.40 ± 1.08 ^{fg}	0.90 ± 0.18 ⁱ	5.13 ± 0.58 ^e	10.17 ± 0.95 ^a

*Valores expresados como la media de tres replicas ± error estándar. Diferencias estadísticas significativas en cada columna son expresadas mediante diferente letra ($P < 0.05$).

*Values expressed as the mean of three replicates ± standard error. Significant statistical differences in each column are identified by a different letter ($P < 0.05$).

amarilla, lo cual pudiera ser debido a la fuente botánica del almidón (Tirado-Gallegos *et al.*, 2018). En lo que respecta al cambio de color (ΔE), las modificaciones incrementaron esta variable; mientras que la inclusión de Q en la formulación de las películas redujo los valores de ΔE . El cambio de color es perceptible para el observador promedio cuando ΔE es mayor a 5 o 6, por lo que, el gradiente de color de los materiales se percibió a simple vista (López-Díaz *et al.*, 2018).

Grosor

El grosor de las películas estuvo dentro del intervalo de 0.199 mm (en las películas Nativo) hasta 0.216 mm (en las películas de Q) (Tabla 3). De manera general, la incorporación de Q prácticamente no tuvo efecto sobre la variable de grosor, ya a pesar de que se observaron ligeros incrementos en todas las formulaciones, estos incrementos no fueron significativos ($P > 0.05$). Estos valores son mayores a los reportados en películas de Q con almidón de frijol mungo (0.074-0.093 mm) reportado por Mei *et al.* (2013), y menores a los de películas de almidón de maíz con Q termoplástico obtenidas por extrusión (0.75 - 0.83 mm) (Mendes *et al.*, 2016). Los resultados indican que además de la formulación, el grosor de las películas depende de las condiciones del procesamiento y la velocidad del calentamiento durante el secado de la solución formadora de película (Bonilla *et al.*, 2013; Lopez *et al.*, 2014).

Solubilidad y humedad

Los resultados del contenido de humedad y solubilidad en agua de las películas a las temperaturas de 25 y 80 °C se muestran en el Tabla 4. En lo que respecta al contenido de humedad de las películas, este valor varió de manera significativa en función del tipo de modificación del almidón, con valores que oscilaron entre el 9.19 y 15.24 % películas Acetilado-Q y Oxidado, respectivamente). Los valores más altos fueron registrados para las películas de almidón Oxidado y Oxidado-Q con 15.24 y 14.94 %, respectivamente. Por otra parte, los valores más bajos de humedad fueron observados en las películas Acetilado y Acetilado-Q con 8.13 y 9.19 %, respectivamente. Estos resultados se deben a que la oxidación provoca la formación de grupos carbonilo y carboxilos que incrementan el carácter hidrofílico de las películas, mientras que la acetilación incrementa la hidrofobicidad por la inserción de grupos acetilo por esterificación (Zamudio-Flores *et al.*, 2010).

Por otra parte, se observó que la solubilidad aumentó cuando incrementó la temperatura en todas las formulaciones, probablemente por un aumento en la energía cinética que ocasiona el rompimiento en las cadenas de la matriz estructural de almidón (Zamudio-Flores *et al.*, 2015). Las películas de Acetilado presentaron la menor solubilidad (≈ 17 y 20 %) a ambas temperaturas de estudio, lo que puede ser una consecuencia de la presencia de grupos hidrofóbicos acetilos generados por esta modificación (Jiménez-Regalado *et al.*, 2021). Por otra parte, las películas de Oxidado-Q presentaron la mayor solubilidad con 38 y 42 % para las temperaturas de 25 y 80 °C, respectivamente. En comparación con la película

Tabla 3. Evaluación del grosor y propiedades mecánicas (TF: tensión a la fractura, %E: porcentaje de elongación y ME: módulo de elasticidad) de películas de almidón nativo, quitosano, almidones modificados y sus mezclas*. **Table 3.** Evaluation of the thickness and mechanical properties (stress at fracture: TF, %E: percentage of elongation and ME: modulus of elasticity) of films of native starch, chitosan, modified starches and their mixtures*.

Película	Grosor (mm)	TF (MPa)	%E	ME (MPa)
Almidón nativo	0.199 ± 0.001 ^a	6.28 ± 0.27 ^b	30.41 ± 3.22 ^d	184.15 ± 12.41 ^b
Autoclave	0.202 ± 0.004 ^{ab}	4.60 ± 1.90 ^a	51.84 ± 3.64 ^f	111.40 ± 32.74 ^a
Lintnerizado	0.205 ± 0.003 ^b	5.70 ± 0.90 ^a	45.07 ± 6.53 ^e	311.50 ± 17.10 ^c
Entrecruzado	0.210 ± 0.002 ^c	7.80 ± 0.85 ^c	25.15 ± 5.50 ^{cd}	410.15 ± 10.25 ^d
Acetilado	0.211 ± 0.001 ^c	6.75 ± 0.90 ^b	29.10 ± 2.20 ^d	320.17 ± 11.15 ^c
Hidroxipropilado	0.206 ± 0.002 ^b	7.95 ± 0.45 ^c	30.25 ± 2.56 ^d	422.15 ± 10.20 ^d
Oxidado	0.214 ± 0.002 ^d	9.17 ± 0.33 ^c	30.21 ± 2.40 ^d	539.35 ± 12.66 ^f
Quitosano (Q)	.216 ± 0.005 ^d	7.78 ± 0.52 ^c	26.18 ± 1.58 ^e	500.10 ± 10.14 ^e
Nativo-Q	0.208 ± 0.004 ^f	7.90 ± 0.63 ^c	28.11 ± 1.20 ^d	518.21 ± 12.60 ^e
Autoclave-Q	0.200 ± 0.002 ^a	5.51 ± 0.78 ^a	40.50 ± 2.60 ^e	325.16 ± 13.41 ^c
Lintnerizado-Q	0.199 ± 0.001 ^a	6.21 ± 0.90 ^b	31.17 ± 1.80 ^d	330.25 ± 11.40 ^c
Entrecruzado-Q	0.207 ± 0.003 ^{bc}	9.28 ± 0.58 ^e	25.20 ± 1.11 ^c	550.18 ± 17.80 ^f
Acetilado-Q	0.210 ± 0.005 ^c	8.50 ± 0.75 ^d	23.80 ± 1.18 ^b	515.20 ± 10.45 ^e
Hidroxipropilado-Q	0.208 ± 0.003 ^c	10.14 ± 0.91 ^f	22.65 ± 2.10 ^{ab}	510.11 ± 8.77 ^e
Oxidado-Q	0.206 ± 0.002 ^b	18.17 ± 0.80 ^g	18.78 ± 2.15 ^a	585.35 ± 12.14 ^g

*Valores expresados como la media de tres replicas ± error estándar. Diferencias estadísticas significativas en cada columna son expresadas mediante diferente letra ($P < 0.05$). *Values expressed as the mean of three replicates ± standard error. Significant statistical differences in each column are identified by a different letter ($P < 0.05$).

de Nativo, observamos que la modificación por oxidación incrementó el porcentaje de solubilidad (en la película Oxidado) en ≈ 26 y 10 % para la temperatura de 25 y 80 °C, es importante señalar que esta formulación también presentó el mayor contenido de humedad. Si consideramos que la película de Q presentó una solubilidad de ≈ 22 y 28 % para las temperaturas ambiente (25 °C) y de calentamiento (80 °C), respectivamente, podríamos inferir que, al adicionar este polisacárido a las formulaciones de las películas, habría de disminuir esta variable. Sin embargo, no se aprecia una clara tendencia en las películas cuando se adicionó el quitosano. Finalmente, una mayor solubilidad en agua podría mejorar la biodegradabilidad de la película, aunque limitaría su factible aplicación en alimentos con un alto contenido de humedad (Singh y Sharma, 2008; Souza *et al.*, 2017).

Propiedades de barrera

Permeabilidad al vapor de agua (PVA)

La permeabilidad al vapor de agua es una medida de la cantidad de vapor de agua que pasa a través de una unidad de área del material, por unidad de tiempo (McHugh y Krochta, 1994). Los biopolímeros utilizados para elaborar películas comestibles son generalmente hidrofílicos, debido a que contienen grupos polares que interactúan con las moléculas de agua permeantes, incrementando su movilidad, y como consecuencia, la PVA (Basiak *et al.*, 2017). La PVA de las películas varió de $\approx 11.8 \times 10^{-11}$ a $\approx 47.7 \times 10^{-11}$ g m⁻¹ s⁻¹ Pa⁻¹, para las muestras de las películas Acetilado y Oxidado, respectiva-

Tabla 4. Determinación de la permeabilidad al vapor de agua (PVA) y al oxígeno (PO), contenido de humedad y solubilidad en las películas de almidón nativo, quitosano, almidones modificados y sus mezclas con quitosano*.
Table 4. Determination of water vapor (WVP) and oxygen (PO) permeability, moisture content and solubility in films of native starch, chitosan, modified starches and their mixtures with chitosan*.

Película	Humedad (%)	PVA	PO (cm ³ mm m ⁻² atm ⁻¹ día ⁻¹)		Solubilidad (%)	
		(g m ⁻¹ s ⁻¹ Pa ⁻¹) × 10 ⁻¹¹	10 °C	25 °C	25 °C	80 °C
Almidón nativo	12.88 ± 0.25 ^e	40.39 ± 1.09 ^g	0.05 ± 0.01 ^a	0.07 ± 0.01 ^b	30.14 ± 0.75 ^e	39.02 ± 0.98 ^g
Autoclave	12.51 ± 0.22 ^e	38.38 ± 2.04 ^f	0.03 ± 0.01 ^a	0.06 ± 0.02 ^a	27.90 ± 0.66 ^d	34.20 ± 0.51 ^f
Lintnerizado	13.96 ± 0.43 ^f	34.31 ± 1.89 ^e	0.03 ± 0.02 ^a	0.07 ± 0.01 ^b	28.18 ± 0.81 ^{d,e}	31.12 ± 0.47 ^d
Entrecruzado	13.25 ± 0.50 ^f	35.23 ± 2.58 ^e	0.04 ± 0.01 ^a	0.07 ± 0.02 ^b	25.63 ± 1.15 ^c	31.19 ± 1.06 ^d
Acetilado	8.13 ± 0.21 ^a	11.73 ± 0.60 ^a	0.09 ± 0.03 ^b	0.11 ± 0.01 ^c	17.07 ± 0.68 ^a	20.45 ± 0.57 ^a
Hidroxipropilado	10.18 ± 0.32 ^c	28.12 ± 1.15 ^c	0.10 ± 0.02 ^b	0.13 ± 0.03 ^{c,d}	24.36 ± 0.83 ^c	28.46 ± 0.89 ^b
Oxidado	15.24 ± 0.51 ^g	47.65 ± 2.18 ^h	0.11 ± 0.01 ^b	0.15 ± 0.02 ^d	37.87 ± 0.53 ^f	43.17 ± 1.12 ^h
Quitosano (Q)	11.58 ± 0.36 ^d	32.28 ± 1.95 ^d	0.20 ± 0.01 ^e	0.17 ± 0.02 ^d	22.41 ± 1.03 ^b	28.30 ± 0.81 ^b
Nativo-Q	13.17 ± 0.25 ^f	37.91 ± 1.53 ^f	0.15 ± 0.03 ^c	0.18 ± 0.04 ^{d,e}	29.92 ± 0.69 ^e	33.76 ± 1.11 ^e
Autoclave-Q	12.58 ± 0.91 ^e	35.19 ± 2.45 ^{e,f}	0.17 ± 0.02 ^c	0.21 ± 0.03 ^e	25.28 ± 0.64 ^c	28.38 ± 0.55 ^b
Lintnerizado-Q	13.10 ± 0.75 ^f	30.14 ± 1.35 ^d	0.18 ± 0.02 ^{c,d}	0.23 ± 0.02 ^e	27.22 ± 1.30 ^d	33.13 ± 0.97 ^e
Entrecruzado-Q	12.69 ± 0.53 ^e	28.19 ± 0.98 ^c	0.15 ± 0.01 ^c	0.22 ± 0.03 ^e	27.10 ± 1.00 ^d	30.40 ± 0.67 ^c
Acetilado-Q	9.19 ± 0.48 ^b	10.95 ± 1.78 ^a	0.19 ± 0.01 ^d	0.24 ± 0.03 ^e	20.14 ± 0.80 ^b	22.82 ± 0.92 ^b
Hidroxipropilado-Q	10.68 ± 0.61 ^c	20.85 ± 1.14 ^b	0.20 ± 0.02 ^e	0.25 ± 0.02 ^e	25.28 ± 0.74 ^c	31.60 ± 1.12 ^d
Oxidado-Q	14.94 ± 0.17 ^g	32.95 ± 2.41 ^d	0.21 ± 0.02 ^e	0.25 ± 0.03 ^e	38.15 ± 0.88 ^f	41.75 ± 0.68 ^h

*Valores expresados como la media de tres replicas ± error estándar. Diferencias estadísticas significativas en cada columna son expresadas mediante diferente letra (P < 0.05). * Values expressed as the mean of three replicates ± standard error. Significant statistical differences in each column are identified by a different letter (P < 0.05).

mente (Tabla 4). Los valores de PVA de este trabajo son similares a los reportados por López *et al.* (2010) en películas de mezclas de almidones acetilados y nativos de maíz. Asimismo, concuerdan con los valores reportados por Palma-Rodríguez *et al.* (2012) y Bof *et al.* (2015) en películas de almidón oxidado de plátano y en películas de Q de diferentes pesos moleculares mezcladas con almidón de maíz, respectivamente. La adición de Q redujo la PVA en todas las formulaciones, esto se puede atribuir a la formación de puentes de hidrógeno entre los grupos funcionales presentes en el quitosano y el almidón, lo cual reduce los grupos disponibles en la matriz y con ello la velocidad de transmisión de moléculas de vapor de agua (Chillo *et al.*, 2008; Bof *et al.*, 2015).

Permeabilidad al oxígeno (PO)

Las películas de almidón pueden actuar como barrera a gases como el oxígeno, alargando la vida de anaquel de los productos cubiertos con ellas (Shen *et al.*, 2010; Bonilla *et al.*, 2013). La adición de Q incrementó la PO de las películas en todas las formulaciones (Tabla 4). Las películas sin Q mostraron valores de PO de 0.03 a 0.11 y a 0.06 a 0.15 cm³ mm m⁻² atm⁻¹ día⁻¹, a 10 y 25 °C, respectivamente; mientras que en las películas con Q la PO fue de 0.17 a 0.21 y de 0.21 a 0.25 cm³ mm m⁻² atm⁻¹ día⁻¹ a 10 y 25 °C, respectivamente. Estos valores indican que en general, la PO incrementó con la temperatura a la que fueron evaluadas las películas. El aumento en la temperatura podría implicar un mayor movimiento molecular en la película, favoreciendo la transferencia de masa, haciendo las películas de mayor permeabilidad y con

una mayor movilidad del oxígeno (Bonilla *et al.*, 2013). Sin embargo, se ha reportado que la adición de Q en películas de almidón reduce la PO de las películas, como lo indicaron Dang y Yoksan (2016) en películas de almidón termoplástico con 1.45 % de Q y Shen *et al.* (2010) en películas de almidón de papa adicionadas con 15 % de Q. Estos investigadores argumentaron que la PO se redujo por la formación de una capa cristalina superficial debida al Q, y por la formación de puentes de hidrógeno entre el almidón y el Q, lo cual redujo el volumen y la movilidad intermolecular de las cadenas de almidón. El aumento de la PO por la adición de Q en este trabajo puede ser atribuido a varios factores, como el tipo de almidón (el cual determina la relación de amilosa/amilopectina), el procedimiento realizado para elaborar las películas y las variables e instrumentos de medición utilizados, como lo sugieren Dang y Yoksan (2016).

Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas de las películas se evaluaron mediante la determinación de su tensión a la fractura (TF), módulo de elasticidad (ME) y porcentaje de elongación (%E). La TF se considera como el esfuerzo máximo de tensión que una película puede soportar antes de romperse (Lopez *et al.*, 2014). El %E es la capacidad que presentan los materiales para estirarse antes de romperse y ME es una medida de la dureza de la película, representada por la relación del esfuerzo a la deformación sobre la parte lineal de su curva (Ozdemir y Floros, 2008; López-Mata *et al.*, 2016). Los resultados se muestran en el Tabla 3. En todas las formulaciones de películas, la

adición de Q aumentó de manera significativa ($P < 0.05$) la TF, siendo mayor el efecto en la formulación Oxidado-Q (con un incremento de ≈ 200 %, debido a que este incrementó de 9.2 MPa para la formulación Oxidado a 18.2 MPa en la película Oxidado-Q). Por otra parte, en un comportamiento inverso, los valores del porcentaje de elongación de las películas de almidón (%E = 25.15 - 51.84 %) disminuyeron cuando se incluyó quitosano en la formulación (%E = 18.78 - 40.50 %), sugiriendo materiales de menor flexibilidad. La mayor reducción en el porcentaje de elongación se observó en la formulación Oxidado-Q (%E = 18.78 %), la cual presentó una reducción del 60.86 % en su elongación con respecto a su contraparte sin quitosano (Oxidado, %E = 30.21 %). Estos resultados sugieren una mayor compatibilidad entre los componentes de esta formulación. Diversos autores han argumentado una posible interacción por puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo, y sobre todo los grupos carboxilo de almidones oxidados y los grupos aminos protonados (NH_3^+) expuestos al solubilizar Q en ácido acético, lo cual refuerza la estructura de la película (Hu *et al.*, 2009; Zamudio-Flores *et al.*, 2010; Nourmohammadi *et al.*, 2016). En la actualidad son pocos los reportes existentes en la literatura científica sobre el efecto que puede conferir la adición de Q en almidones modificados en formulaciones de películas; la mayoría han tratado sobre el efecto del Q en almidones nativos de fuentes convencionales o comerciales.

Propiedades antibacterianas

Las propiedades antibacterianas de las películas se evaluaron utilizando bacterias *L. monocytogenes*, *S. aureus* y *E. coli*, además de la cuantificación de coliformes fecales, los cuales son algunos de los patógenos más importantes en la industria de los alimentos (Sun *et al.*, 2014). Estos resultados se observan en el Tabla 5 y en las Figuras 1 y 2. Todas las películas adicionales con Q presentaron actividad antibacteriana, la cual no se observó en ausencia de este biopolímero (Tabla 5). La actividad antibacteriana fue mayor en las películas de Q, Nativo-Q y Oxidado-Q, los cuales mostraron un mayor diámetro del halo de inhibición en presencia de las tres bacterias evaluadas, siendo mayor la actividad antibacteriana contra la bacteria de *E. coli*. El método de difusión en agar es una prueba comúnmente utilizada para evaluar la actividad antimicrobiana de películas, sus ventajas son su relativa sencillez y rapidez para determinar cualitativamente la capacidad antimicrobiana de diferentes materiales, aunque las propiedades de superficie del agente activo pueden ser una limitante (Salleh *et al.*, 2014). La presencia de halos de inhibición en películas a base de quitosano y almidón ha sido reportada previamente por Salleh *et al.* (2014), quienes no observaron zona de inhibición en películas de almidón, pero en películas a base de quitosano observaron halos contra *B. subtilis* (1.70 ± 0.12 cm) y *E. coli* (2.0 ± 0.21 cm). Posteriormente, Shariatnia y Fazli (2015) evaluaron la actividad antimicrobiana de películas de quitosano y su mezcla con almidón. Los resultados revelaron que las películas formuladas únicamente con quitosano (1.8 % p/p) presentaron halos de inhibición de 17.37 mm contra

Tabla 5. Actividad antibacteriana de películas evaluadas en tres bacterias diferentes determinadas por la técnica de difusión en agar*.

Table 5. Antibacterial activity of films evaluated on three different bacteria determined by the agar diffusion technique*.

Película	Zona de inhibición (mm)*		
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Almidón nativo	NP	NP	NP
Autoclave	NP	NP	NP
Lintnerizado	NP	NP	NP
Entrecruzado	NP	NP	NP
Acetilado	NP	NP	NP
Hidroxipropilado	NP	NP	NP
Oxidado	NP	NP	NP
Quitosano (Q)	1.88 ± 0.01^e	1.27 ± 0.01^c	0.80 ± 0.05^c
Nativo-Q	1.18 ± 0.01^d	0.91 ± 0.01^b	0.85 ± 0.04^d
Autoclave-Q	0.98 ± 0.01^c	0.78 ± 0.02^a	0.50 ± 0.01^b
Lintnerizado-Q	0.88 ± 0.02^b	0.80 ± 0.01^a	0.53 ± 0.02^b
Entrecruzado-Q	0.79 ± 0.01^a	0.79 ± 0.02^a	0.41 ± 0.08^a
Acetilado-Q	0.79 ± 0.01^a	0.80 ± 0.02^a	0.40 ± 0.05^a
Hidroxipropilado-Q	0.85 ± 0.03^b	0.82 ± 0.01^a	0.45 ± 0.01^a
Oxidado-Q	2.12 ± 0.02^f	1.70 ± 0.02^d	1.08 ± 0.06^e

*Media aritmética de tres repeticiones \pm error estándar, midiendo el halo de inhibición. Promedios dentro de cada columna no son significativamente diferentes ($P > 0.05$). NP = No presentó actividad antibacteriana.

*Arithmetic mean of three repetitions \pm standard error, measuring the inhibition halo. Means within each column are not significantly different ($P > 0.05$). NP = It did not present antibacterial activity.

E. coli y de 19.68 mm contra *S. aureus*. Cuando se incluyó almidón en la formulación (1.3 % quitosano y 1.3 % almidón, p/p) se obtuvieron zonas de inhibición de 17.96 y 20.66 mm contra *E. coli* y *S. aureus*, respectivamente. En un estudio reciente, Hasan *et al.* (2020) evaluaron la actividad antimicrobiana de películas de quitosano con almidón de caña de azúcar (7/3, g quitosano/g almidón) y diferentes concentraciones de aceite de oliva extra virgen (1, 2 y 5 %) contra *E. coli* y *S. aureus*. Estos autores observaron la mayor capacidad antimicrobiana en su película control (películas a base de quitosano y almidón sin aceite) con halos de inhibición de hasta 8 mm. La capacidad antimicrobiana del quitosano se ha relacionado con la protonación de los grupos amino cuando se disuelve en medio ácido, los cuales interactúan con la membrana celular de las bacterias y terminan desestabilizándola provocando la muerte de las células, particularmente en bacterias gram negativas. Aunque en estos trabajos se observaron zonas de inhibición por la presencia de quitosano en las películas, no queda claro el mecanismo bajo el cual se generan los halos de inhibición. Por otra parte, existen resultados contradictorios con reportes donde se incorporó quitosano en la formulación de las películas y no observaron halos de inhibición, pero si se observó la ausencia de crecimiento microbiano en el área en contacto directo con la película; por lo que algunos autores concluyen que no existe difusión del

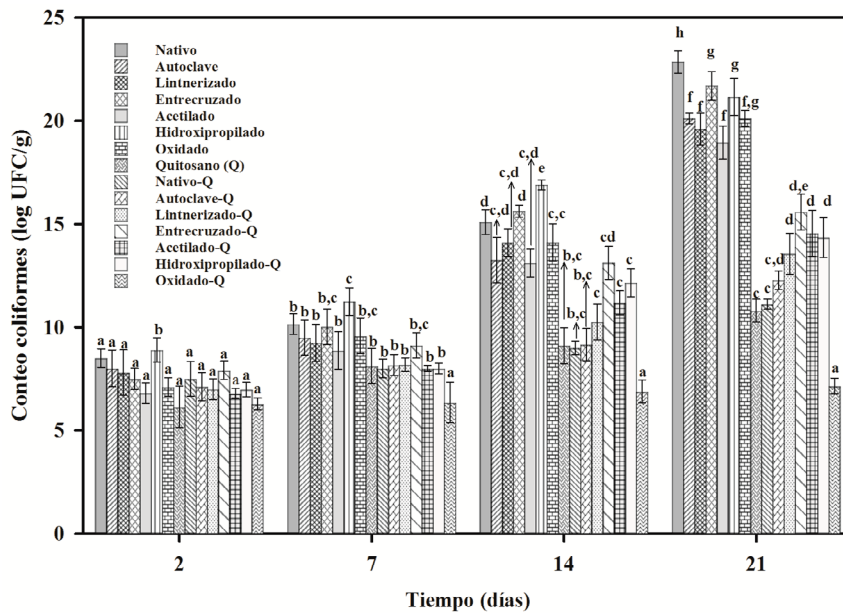


Figura 1. Conteo de coliformes fecales en muestras de carne de puerco con las diversas formulaciones de películas.

Figure 1. Fecal coliform count in pork meat samples with the various film formulations.

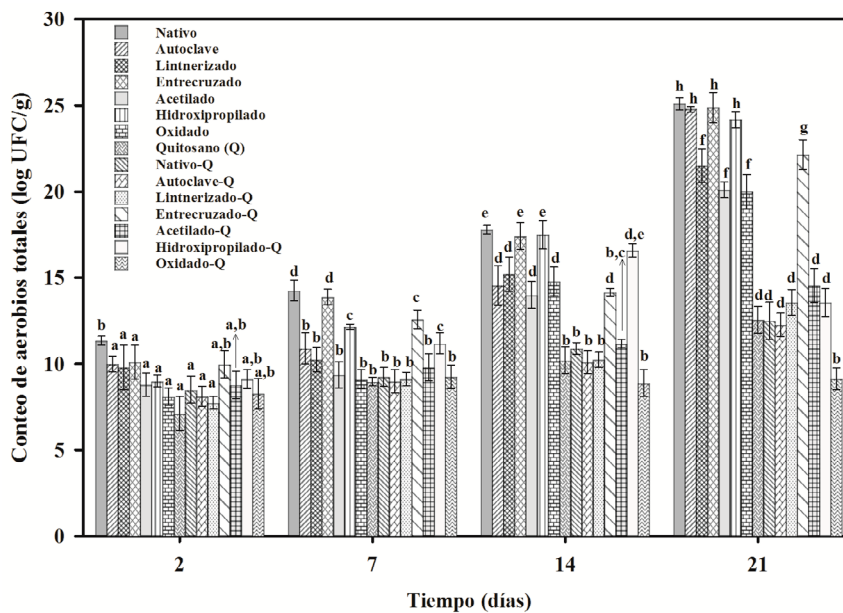


Figura 2. Conteo de aerobios totales en muestras de carne de puerco las diversas formulaciones de películas.

Figure 2. Total aerobic count in pork meat samples for the various film formulations.

quitosano y su actividad antimicrobiana se hace presente solamente cuando la película está en contacto directo con los microorganismos (Tripathi *et al.*, 2009; Luchese *et al.*, 2018; Zheng *et al.*, 2019; Shapi'i *et al.*, 2020). Además, el tipo de ácido utilizado para disolver el quitosano puede afectar esta actividad biológica del quitosano y sus películas. Al respecto, Zhong *et al.* (2011) prepararon películas a partir de la mezcla de soluciones filmogénicas almidón de kudzu (*Pueraria lobata*) al 2 % (p/v) y quitosano 2 % (p/v) disuelto en ácido acético, málico o láctico. Los autores evaluaron la capacidad antimicrobiana de las películas contra *E. coli* y *S. aureus*, la

zona de inhibición para *E. coli* fue de 7.63 a 25.11 mm² y de 5.59 a 18.81 mm² para *S. aureus*. Los autores sugieren que la cantidad de grupos -NH₂ que pueden ser protonados (-NH₃⁺) depende en gran medida de los valores de pH ácidos, por lo que cuando se utilizó ácido málico (el ácido más fuerte de los tres evaluados) existió una mayor presencia de grupos -NH₃⁺, por lo que estas películas presentaron mayor capacidad antimicrobiana. Aunado a lo anterior, resulta interesante que después de realizar la prueba de solubilidad en las películas, el estudio de FTIR evidenció que más ácido y grupos amino protonados pueden liberarse de las películas hacia el me-

dio. Quizás este fenómeno podría explicar la presencia de halos de inhibición en nuestro estudio, ya que al igual que en las pruebas de solubilidad reportadas por Zhong *et al.* (2011), aunque con menor intensidad, las películas de quitosano con almidón que evaluamos absorbieron humedad y posteriormente se hincharon modificando su integridad, lo que pudo provocar la liberación de ácido y pequeñas cantidades de grupos -NH_3^+ al medio, dando como resultado los pequeños halos de inhibición reportados en la Tabla 5. Este fenómeno probablemente se favoreció por la presencia de un almidón con mayor porcentaje solubilidad (almidón oxidado) en la formulación. Además, se debe señalar que existen diferencias cuando se aplica el método de difusión en medio sólido (cualitativo) y el método de cultivo líquido (cuantitativo), siendo este último el que brinda mayor información (Zhong *et al.*, 2011). La solubilidad y difusión del quitosano también puede verse favorecida cuando el peso molecular es menor (Xie *et al.*, 2007). Por lo anterior, estos resultados se pueden considerar como preliminares por lo que para futuras investigaciones con estos materiales se recomienda también se valore la actividad antimicrobiana por medios cuantitativos con un control de referencia.

La funcionalidad de las películas como envase activo para alimentos fue evaluada en la conservación de carne molida de cerdo. La Figura 1 muestra el conteo de coliformes totales en carne de puerco con las diferentes formulaciones de las películas a través del tiempo. En los primeros 7 d no se apreciaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los tratamientos. Sin embargo, a los días 14 y 21 se observa una clara disminución en el conteo de coliformes en las formulaciones adicionadas con Q. Estos resultados eran esperados, y están en concordancia con los resultados de las pruebas *in vitro* (Tabla 5), donde la película Oxidado-Q presentó la mayor actividad antimicrobiana. Estos resultados fueron similares a los reportados por Valencia-Sullca *et al.* (2018), quienes evaluaron la efectividad de películas de quitosano, almidón nativo de tapioca y sus mezclas con aceites esenciales de orégano o canela para controlar el crecimiento bacteriano en carne molida de cerdo. Los autores reportaron que, comparadas con el control (carne sin película) y la película de almidón; las películas formadas por la mezcla de quitosano y almidón o con incorporación aceites esenciales, registraron menor cuenta de coliformes y aerobios totales durante los diferentes días de muestreo (1, 4 y 7 d a 10 °C). La mayor efectividad para controlar el crecimiento microbiano la presentó la película formada únicamente por quitosano, incluso por encima de su mezcla con aceites esenciales; lo cual pudo deberse a la pérdida de aceite esencial durante el moldeo por compresión a 100 °C para elaborar las películas. En otro estudio, Fang *et al.* (2018) evaluaron el efecto de un recubrimiento de quitosano (2 %, p/p) sobre la calidad de carne fresca de cerdo envasada en atmosfera modificada (MAP) compuesta de 80 % O_2 y 20 % CO_2 y almacenada a 4 °C. Estos autores observaron que la cuenta total viable (CTV) de microorganismos al inicio del experimento fue de 2.5 log ufc/g para las muestras control (carne sin recubrimiento) y las muestras con recubri-

miento. Sin embargo, al término del estudio (20 días), la CTV fue de 6.39 y 5.16 log ufc/g para las muestras control y los tratamientos con recubrimiento, respectivamente. Además, la efectividad para inhibir el crecimiento microbiano de los recubrimientos de quitosano incrementó con la inclusión de ácido gálico en la formulación. En un estudio similar, Cao *et al.* (2019) evaluaron el efecto de un recubrimiento a base de quitosano (2 % p/p) sobre la calidad de lomo de cerdo envasado en MAP (80 % O_2 y 20 % CO_2) almacenados a 2 °C. Estos autores observaron que, en comparación con el control, el recubrimiento con quitosano presentó menor crecimiento bacteriano. La actividad antimicrobiana fue mayor cuando se incluyó ácido gálico (0.2 %, p/p) y nisina (0.2 %, p/p) en la formulación, demostrando un efecto sinérgico de ambos aditivos. En un estudio reciente, se reportaron resultados similares por Xiong *et al.* (2020), quienes almacenaron carne de cerdo durante 20 d a 4 °C y observaron que, comparado con el tratamiento control (muestras sin recubrimiento), las muestras cubiertas con películas de quitosano presentaron una CTV menor desde el día 5.

Las películas con almidón y quitosano también han sido aplicadas en carne de res, como lo reportan Mehdizadeh *et al.* (2020). Estos autores evaluaron el efecto de películas a base de mezclas de almidón y quitosano sobre la vida de anaquel de carne de res refrigerada (4 °C) durante 21 d. Se observó que el tratamiento control (carne sin película) presentó una CTV superior a 8 log CFU/g desde el día 4; mientras que en la carne envuelta en la película de quitosano con almidón, la CVT se mantuvo por debajo de dicho valor hasta el día 16, y las películas de almidón/quitosano con la adición de extractos de piel de granada presentaron valores en CVT inferiores a 8 log CFU/g durante todo el experimento. La actividad antimicrobiana del Q, principalmente contra bacterias, y en menor grado contra hongos y levaduras ha sido previamente reportada (Bonilla *et al.*, 2013). Dentro de las propiedades antimicrobianas que presenta el Q, se ha reportado que los grupos aminos con carga positiva interactúan con los grupos funcionales con carga negativa localizados en las membranas celulares de los microorganismos, permitiendo la adherencia de las partículas de quitosano al exterior de la membrana de los microorganismos, destruyendo su función de barrera (García *et al.*, 2017).

Por otra parte, la efectividad de las películas de quitosano para controlar el crecimiento microbiano en carne y otros productos puede deberse al contacto directo de la matriz polimérica con el alimento y la solubilidad de la matriz, como se describió en los resultados del ensayo por difusión en placa.

CONCLUSIONES

En el presente estudio se observó que las diferentes modificaciones químicas del almidón de avena afectan las propiedades físicas, mecánicas y de barrera de las películas obtenidas. En el caso de la luminosidad, esta se favoreció solamente por el proceso de oxidación; por lo que estas películas podrían ser consideradas cuando se desea un envase con menor opacidad. Se observó una mayor compatibilidad

entre el quitosano (Q) y el almidón oxidado debido a las interacciones químicas entre ambos, lo que repercutió en la obtención de películas con mayor tensión a la fractura y menor porcentaje de elongación. Una de las principales desventajas de las películas a base de almidón es su elevada permeabilidad al vapor de agua (PVA), con la adición de Q se establecieron interacciones entre los grupos hidroxilos del almidón y los grupos aminos del quitosano, reduciendo así la disponibilidad de grupo afines al agua reduciendo la PVA y solubilidad de las películas. Además, con la incorporación de Q, todas las formulaciones presentaron actividad antibacteriana; sin embargo, esta propiedad disminuyó con el tiempo. Las formulaciones con Q presentaron actividad antimicrobiana al momento de evaluarse como envases para carne fresca de cerdo (bajo condiciones de refrigeración). En general, los resultados indicaron que la película Oxidado-Q puede representar una formulación con propiedades mecánicas, de permeabilidad al vapor de agua y con propiedades antibacterianas adecuadas para utilizarse en productos cárnicos.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Ing. Ana Karen Hernández Jiménez y al Ing. Arturo Ramos Martínez por sus asistencias técnicas. Este trabajo es un producto del Grupo de Investigación (GI) en Carbohidratos, Empaques y Alimentos Funcionales (CEAF) del CIAD-Cuauhtémoc, Chihuahua, México, liderado por el Dr. Paul Baruk Zamudio Flores.

REFERENCIAS

- Arijaje, E.O., Wang, Y.-J., Shinn, S., Shah, U. y Proctor, A. 2014. Effects of chemical and enzymatic modifications on starch-stearic acid complex formation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 62(13): 2963-2972.
- ASTM-882-95a. 1995. American Society of Testing Materials. ASTM International. West Conshohocken, PA, USA.
- ASTM-D3985-05. 2010. American Society of Testing Materials. ASTM International. West Conshohocken, PA, USA.
- ASTM-E96-80. 2016. American Society of Testing Materials. ASTM International. West Conshohocken, PA, USA.
- Basiak, E., Lenart, A. y Debeaufort, F. 2017. Effects of carbohydrate/protein ratio on the microstructure and the barrier and sorption properties of wheat starch-whey protein blend edible films. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 97(3): 858-867.
- Berry, C.S. 1986. Resistant starch: Formation and measurement of starch that survives exhaustive digestion with amylolytic enzymes during the determination of dietary fibre. *Journal of Cereal Science*. 4(4): 301-314.
- Biduski, B., Silva, F.T.d., Silva, W.M.d., Halal, S.L.d.M.E., Pinto, V.Z., Dias, A.R.G. y Zavareze, E.d.R. 2017. Impact of acid and oxidative modifications, single or dual, of sorghum starch on biodegradable films. *Food Chemistry*. 214: 53-60.
- Bof, M.J., Bordagaray, V.C., Locaso, D.E. y García, M.A. 2015. Chitosan molecular weight effect on starch-composite film properties. *Food Hydrocolloids*. 51: 281-294.
- Bonilla, J., Atarés, L., Vargas, M. y Chiralt, A. 2013. Properties of wheat starch film-forming dispersions and films as affected by chitosan addition. *Journal of Food Engineering*. 114(3): 303-312.
- Cao, Y., Warner, R.D. y Fang, Z. 2019. Effect of chitosan/nisin/gallic acid coating on preservation of pork loin in high oxygen modified atmosphere packaging. *Food Control*. 101: 9-16.
- Chattopadhyay, S., Singhal, R.S. y Kulkarni, P.R. 1997. Optimisation of conditions of synthesis of oxidised starch from corn and amaranth for use in film-forming applications. *Carbohydrate Polymers*. 34(4): 203-212.
- Chávez-Murillo, C.E., Wang, Y.-J. y Bello-Pérez, L.A. 2008. Morphological, physicochemical and structural characteristics of oxidized barley and corn starches. *Starch - Stärke*. 60(11): 634-645.
- Cheng, W., Chen, J., Liu, D., Ye, X. y Ke, F. 2010. Impact of ultrasonic treatment on properties of starch film-forming dispersion and the resulting films. *Carbohydrate Polymers*. 81(3): 707-711.
- Chillo, S., Flores, S., Mastromatteo, M., Conte, A., Gerschenson, L. y Del Nobile, M.A. 2008. Influence of glycerol and chitosan on tapioca starch-based edible film properties. *Journal of Food Engineering*. 88(2): 159-168.
- Dang, K.M. y Yoksan, R. 2015. Development of thermoplastic starch blown film by incorporating plasticized chitosan. *Carbohydrate Polymers*. 115: 575-581.
- Dang, K.M. y Yoksan, R. 2016. Morphological characteristics and barrier properties of thermoplastic starch/chitosan blown film. *Carbohydrate Polymers*. 150: 40-47.
- Das, D.K., Dutta, H. y Mahanta, C.L. 2013. Development of a rice starch-based coating with antioxidant and microbe-barrier properties and study of its effect on tomatoes stored at room temperature. *LWT - Food Science and Technology*. 50(1): 272-278.
- Delville, J., Joly, C., Dole, P. y Bliard, C. 2003. Influence of photocrosslinking on the retrogradation of wheat starch based films. *Carbohydrate Polymers*. 53(4): 373-381.
- El Halal, S.L.M., Colussi, R., Deon, V.G., Pinto, V.Z., Villanova, F.A., Carreño, N.L.V., Dias, A.R.G. y Zavareze, E.d.R. 2015. Films based on oxidized starch and cellulose from barley. *Carbohydrate Polymers*. 133: 644-653.
- 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(3): 265-273.
- Fang, Z., Lin, D., Warner, R.D. y Ha, M. 2018. Effect of gallic acid/chitosan coating on fresh pork quality in modified atmosphere packaging. *Food Chemistry*. 260: 90-96.
- Fonseca, L.M., Gonçalves, J.R., El Halal, S.L.M., Pinto, V.Z., Dias, A.R.G., Jacques, A.C. y Zavareze, E.d.R. 2015. Oxidation of potato starch with different sodium hypochlorite concentrations and its effect on biodegradable films. *LWT - Food Science and Technology*. 60(2, Part 1): 714-720.
- Fox, E., Shotton, K. y Ulrich, C. 1995. Sigma-Stat: Manual del usuario, versión 2.1 para Windows 95 NT y 3.1. Editorial Jandel Scientific Co. EUA.
- Galdeano, M.C., Wilhelm, A.E., Grossmann, M.V.E. y Mali, S. 2014. Effect of processing and environmental conditions in the properties of oat starch biodegradable materials. *Polímeros*. 24(1): 80-87.
- García-Tejeda, Y.V., López-González, C., Pérez-Orozco, J.P., Rendón-Villalobos, R., Jiménez-Pérez, A., Flores-Huicochea, E., Solorza-Feria, J. y Bastida, C.A. 2013. Physicochemical and mechanical properties of extruded laminates from native and oxidized banana starch during storage. *LWT - Food Science and Technology*. 54(2): 447-455.

- García, M.R.C., Posligua, V.G.E., Mantuano, M.H.L., Basurto, R.M., Montes, Y.M.G. y Delgado, E.G.L. 2017. Recubrimiento comestible de quitosano, almidón de yuca y aceite esencial de canela para conservar pera (*Pyrus communis* L. cv."Bosc"). La Técnica: Revista de las Agrociencias. ISSN 2477-8982. 2: 42-53.
- Hasan, M., Rusman, R., Khaldun, I., Ardana, L., Mudatsir, M. y Fansuri, H. 2020. Active edible sugar palm starch-chitosan films carrying extra virgin olive oil: Barrier, thermo-mechanical, antioxidant, and antimicrobial properties. International Journal of Biological Macromolecules. 163: 766-775.
- Hernandez-Izquierdo, V.M. y Krochta, J.M. 2008. Thermoplastic processing of proteins for film formation—a review. Journal of Food Science. 73(2): R30-R39.
- Hu, G., Chen, J. y Gao, J. 2009. Preparation and characteristics of oxidized potato starch films. Carbohydrate Polymers. 76(2): 291-298.
- Jiménez-Regalado, E.J., Caicedo, C., Fonseca-García, A., Rivera-Vallejo, C.C. y Aguirre-Loredo, R.Y. 2021. Preparation and physicochemical properties of modified corn starch-chitosan biodegradable films. Polymers, 13: 4431.
- Kuakpetoon, D. y Wang, Y.-J. 2001. Characterization of different starches oxidized by hypochlorite. Starch - Stärke. 53(5): 211-218.
- Lago-Vanzela, E.S., do Nascimento, P., Fontes, E.A.F., Mauro, M.A. y Kimura, M. 2013. Edible coatings from native and modified starches retain carotenoids in pumpkin during drying. LWT - Food Science and Technology. 50(2): 420-425.
- Laohakunjit, N. y Nookhorm, A. 2004. Effect of plasticizers on mechanical and barrier properties of rice starch film. Starch - Stärke. 56(8): 348-356.
- Liu, J., Wang, B., Lin, L., Zhang, J., Liu, W., Xie, J. y Ding, Y. 2014. Functional, physicochemical properties and structure of cross-linked oxidized maize starch. Food Hydrocolloids. 36: 45-52.
- López-Díaz, A.S., Ríos-Corripio, M.A., Ramírez-Corona, N., López-Malo, A. y Palou, E. 2018. Efecto de la radiación ultravioleta de onda corta sobre algunas propiedades de películas comestibles elaboradas con jugo de granada y quitosano. Revista Mexicana de Ingeniería Química. 17(1): 63-73.
- López-Mata, M.A., García-González, G., Valbuena-Gregorio, E., Ruiz-Cruz, S., Zamudio-Flores, P.B., Burruel-Ibarra, S.E., Morales-Figueroa, G.G. y Quihui-Cota, L. 2016. Development and characteristics of biodegradable Aloe-gel/egg white films. Journal of Applied Polymer Science. 133(40).
- Lopez, O., Garcia, M.A., Villar, M.A., Gentili, A., Rodriguez, M.S. y Albertengo, L. 2014. Thermo-compression of biodegradable thermoplastic corn starch films containing chitin and chitosan. LWT - Food Science and Technology. 57(1): 106-115.
- López, O.V., García, M.A. y Zaritzky, N.E. 2008. Film forming capacity of chemically modified corn starches. Carbohydrate Polymers. 73(4): 573-581.
- López, O.V., Zaritzky, N.E. y García, M.A. 2010. Physicochemical characterization of chemically modified corn starches related to rheological behavior, retrogradation and film forming capacity. Journal of Food Engineering. 100(1): 160-168.
- Luchese, C.L., Pavoni, J.M.F., dos Santos, N.Z., Quines, L.K., Pollo, L.D., Spada, J.C. y Tessaro, I.C. 2018. Effect of chitosan addition on the properties of films prepared with corn and cassava starches. Journal of Food Science and Technology. 55(8): 2963-2973.
- Mali, S., Grossmann, M.V.E., García, M.A., Martino, M.N. y Zaritzky, N.E. 2006. Effects of controlled storage on thermal, mechanical and barrier properties of plasticized films from different starch sources. Journal of Food Engineering. 75(4): 453-460.
- 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(3): 283-289.
- Martinez-Alvarenga, M.S., Martinez-Rodriguez, E.Y., Garcia-Amezquita, L.E., Olivas, G.I., Zamudio-Flores, P.B., Acosta-Muniz, C.H. y Sepulveda, D.R. 2014. Effect of Maillard reaction conditions on the degree of glycation and functional properties of whey protein isolate - Maltodextrin conjugates. Food Hydrocolloids. 38: 110-118.
- McHugh, T. y Krochta, J.M. 1994. Edible coatings and films to improve food quality. En: Edible Coatings and Films to Improve Food Quality. J. M. Krochta, E. A. Baldwin y M. O. Nisperos-Carriedo (eds.). pp. 139-187. Technomic Publishing Company. Lancaster, Pennsylvania, USA.
- Mehdizadeh, T., Tajik, H., Langroodi, A.M., Molaei, R. y Mahmoudian, A. 2020. Chitosan-starch film containing pomegranate peel extract and *Thymus kotschyanus* essential oil can prolong the shelf life of beef. Meat Science. 163: 108073.
- Mei, J., Yuan, Y., Wu, Y. y Li, Y. 2013. Characterization of edible starch-chitosan film and its application in the storage of Mongolian cheese. International Journal of Biological Macromolecules. 57: 17-21.
- Mendes, J.F., Paschoalin, R.T., Carmona, V.B., Sena Neto, A.R., Marques, A.C.P., Marconcini, J.M., Mattoso, L.H.C., Medeiros, E.S. y Oliveira, J.E. 2016. Biodegradable polymer blends based on corn starch and thermoplastic chitosan processed by extrusion. Carbohydrate Polymers. 137: 452-458.
- Nourmohammadi, J., Ghaee, A. y Liavali, S.H. 2016. Preparation and characterization of bioactive composite scaffolds from polycaprolactone nanofibers-chitosan-oxidized starch for bone regeneration. Carbohydrate Polymers. 138: 172-179.
- Osundahunsi, O.F., Seidu, K.T. y Mueller, R. 2014. Effect of presence of sulphurdioxide on acetylation and sorption isotherm of acetylated starches from cultivars of cassava. Food Chemistry. 151: 168-174.
- Ozdemir, M. y Floros, J.D. 2008. Optimization of edible whey protein films containing preservatives for mechanical and optical properties. Journal of Food Engineering. 84(1): 116-123.
- Palma-Rodríguez, H.M., Aguirre-Álvarez, G., Chavarría-Hernández, N., Rodríguez-Hernández, A.I., Bello-Pérez, L.A. y Vargas-Torres, A. 2012. Oxidized banana starch-polyvinyl alcohol film: Partial characterization. Starch - Stärke. 64(11): 882-889.
- Pérez-Gallardo, A., Bello-Pérez, L.A., García-Almendárez, B., Montejano-Gaitán, G., Barbosa-Cánovas, G. y Regalado, C. 2012. Effect of structural characteristics of modified waxy corn starches on rheological properties, film-forming solutions, and on water vapor permeability, solubility, and opacity of films. Starch - Stärke. 64(1): 27-36.
- Rojas-Graú, M.A., Avena-Bustillos, R.J., Friedman, M., Henika, P.R., Martín-Belloso, O. y McHugh, T.H. 2006. Mechanical, barrier, and antimicrobial properties of apple puree edible films containing plant essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 54(24): 9262-9267.
- Ruiz-Navajas, Y., Viuda-Martos, M., Sendra, E., Perez-Alvarez, J.A. y Fernández-López, J. 2013. In vitro antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated

- with *Thymus moroderi* or *Thymus piperella* essential oils. *Food Control*. 30(2): 386-392.
- Rutenberg, M.W. y Solarek, D. 1984. Starch derivatives: production and uses. En: *Starch: Chemistry and Technology*. R. L. Whistler, J. N. Bemiller y E. F. Paschall (eds.). 2 ed., pp. 311-388. Academic Press. San Diego, USA.
- Salleh, E., Muhammad, I.I. y Pahlawi, Q.A. 2014. Spectrum Activity and Lauric Acid Release Behaviour of Antimicrobial Starch-based Film. *Procedia Chemistry*. 9: 11-22.
- Sánchez-Rivera, M.M., García-Suárez, F.J.L., Velázquez del Valle, M., Gutierrez-Meraz, F. y Bello-Pérez, L.A. 2005. Partial characterization of banana starches oxidized by different levels of sodium hypochlorite. *Carbohydrate Polymers*. 62(1): 50-56.
- Seib, P.A. y Woo, K. 1999. Food grade starch resistant to α -amylase and method of preparing the same. U. S. patent 5,855,946 A.
- Shapi'i, R.A., Othman, S.H., Nordin, N., Kadir Basha, R. y Nazli Naim, M. 2020. Antimicrobial properties of starch films incorporated with chitosan nanoparticles: In vitro and in vivo evaluation. *Carbohydrate Polymers*. 230: 115602.
- Shariatnia, Z. y Fazli, M. 2015. Mechanical properties and antibacterial activities of novel nanobiocomposite films of chitosan and starch. *Food Hydrocolloids*. 46: 112-124.
- 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.
- Shin, M., Woo, K. y Seib, P.A. 2003. Hot-water solubilities and water sorptions of resistant starches at 25°C. *Cereal Chemistry*. 80(5): 564-566.
- Singh, B. y Sharma, N. 2008. Mechanistic implications of plastic degradation. *Polymer Degradation and Stability*. 93(3): 561-584.
- Smith, R.J. 1967. Production and use of hypochlorite oxidized starches. En: *Starch Chemistry and Technology*. Vol. 2. R. L. Whistler y E. F. Paschall (eds.). pp. 620-625. Academic Press. New York, USA.
- Souza, V.G.L., Fernando, A.L., Pires, J.R.A., Rodrigues, P.F., Lopes, A.A.S. y Fernandes, F.M.B. 2017. Physical properties of chitosan films incorporated with natural antioxidants. *Industrial Crops and Products*. 107: 565-572.
- Steffe, J.F. 1996. *Rheological Methods in Food Process Engineering*. Freeman press. East Lansing. Michigan.
- Sun, X., Wang, Z., Kadouh, H. y Zhou, K. 2014. The antimicrobial, mechanical, physical and structural properties of chitosan-gallic acid films. *LWT - Food Science and Technology*. 57(1): 83-89.
- Teodoro, A.P., Mali, S., Romero, N. y de Carvalho, G.M. 2015. Cassava starch films containing acetylated starch nanoparticles as reinforcement: physical and mechanical characterization. *Carbohydrate Polymers*. 126: 9-16.
- Tirado-Gallegos, J.M., Zamudio-Flores, P.B., Ornelas-Paz, J.d.J., Rios-Velasco, C., Olivas Orozco, G.I., Espino-Díaz, M., Baeza-Jiménez, R., Buenrostro-Figueroa, J.J., Aguilar-González, M.A., Lardizábal-Gutiérrez, D., Hernández-González, M., Hernández-Centeno, F. y López-De la Peña, H.Y. 2018. Elaboration and characterization of active apple starch films incorporated with ellagic acid. *Coatings*. 8(11): 384.
- Tripathi, S., Mehrotra, G.K. y Dutta, P.K. 2009. Physicochemical and bioactivity of cross-linked chitosan-PVA film for food packaging applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. 45(4): 372-376.
- Valencia-Sullca, C., Vargas, M., Atarés, L. y Chiralt, A. 2018. Thermoplastic cassava starch-chitosan bilayer films containing essential oils. *Food Hydrocolloids*. 75: 107-115.
- Walpole, E.R., Myers, H.R. y Myers, L.S. 1999. *Probabilidad y estadística para ingenieros*. Prentice-Hall Hispanoamericana, S. A. México.
- Wang, Y.-J. y Wang, L. 2002. Characterization of acetylated waxy maize starches prepared under catalysis by different alkali and alkaline-earth hydroxides. *Starch - Stärke*. 54(1): 25-30.
- Wu, H., Liu, C., Chen, J., Chen, Y., Anderson, D.P. y Chang, P.R. 2010. Oxidized pea starch/chitosan composite films: Structural characterization and properties. *Journal of applied polymer science*. 118(5): 3082-3088.
- Wu, Y., Geng, F., Chang, P.R., Yu, J. y Ma, X. 2009. Effect of agar on the microstructure and performance of potato starch film. *Carbohydrate Polymers*. 76(2): 299-304.
- Wurzburg, O.B. 1986. *Converted starches*. En: *Modified Starches: Properties and Uses*. O. B. Wurzburg (ed.). pp. 17-40. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA.
- Xie, Y., Liu, X. y Chen, Q. 2007. Synthesis and characterization of water-soluble chitosan derivate and its antibacterial activity. *Carbohydrate polymers*, 69(1): 142-147.
- Xiong, Y., Chen, M., Warner, R.D. y Fang, Z. 2020. Incorporating nisin and grape seed extract in chitosan-gelatin edible coating and its effect on cold storage of fresh pork. *Food Control*. 110: 107018.
- Zamudio-Flores, P.B. y Bello-Pérez, L.A. 2013. Elaboración y caracterización de películas de glicoproteínas obtenidas mediante reacción de Maillard utilizando almidón acetilado y aislado proteico de suero lácteo. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 12(3): 401-413.
- Zamudio-Flores, P.B., Ochoa-Reyes, E., Ornelas-Paz, J.d.J., Tirado-Gallegos, J.M., Bello-Pérez, L.A., Rubio-Rios, A. y Cárdenas-Félix, R.G. 2015. Caracterización fisicoquímica, mecánica y estructural de películas de almidones oxidados de avena y plátano adicionadas con betalaínas. *Agrociencia*. 49: 483-498.
- Zamudio-Flores, P.B., Torres, A.V., Salgado-Delgado, R. y Bello-Pérez, L.A. 2010. Influence of the oxidation and acetylation of banana starch on the mechanical and water barrier properties of modified starch and modified starch/chitosan blend films. *Journal of Applied Polymer Science*. 115(2): 991-998.
- Zamudio-Flores, P.B., Vargas-Torres, A., Pérez-González, J., Bosquez-Molina, E. y Bello-Pérez, L.A. 2006. Films prepared with oxidized banana starch: Mechanical and barrier properties. *Starch - Stärke*. 58(6): 274-282.
- Zavareze, E.d.R., Pinto, V.Z., Klein, B., El Halal, S.L.M., Elias, M.C., Prentice-Hernández, C. y Dias, A.R.G. 2012. Development of oxidised and heat-moisture treated potato starch film. *Food Chemistry*. 132(1): 344-350.
- Zheng, K., Xiao, S., Li, W., Wang, W., Chen, H., Yang, F. y Qin, C. 2019. Chitosan-acorn starch-eugenol edible film: Physico-chemical, barrier, antimicrobial, antioxidant and structural properties. *International Journal of Biological Macromolecules*. 135: 344-352.
- Zhong, Y., Song, X. y Li, Y. 2011. Antimicrobial, physical and mechanical properties of kudzu starch-chitosan composite films as a function of acid solvent types. *Carbohydrate Polymers*. 84(1): 335-342.