



# **INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

---

---

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIA APLICADA Y  
TECNOLOGÍA AVANZADA - UNIDAD QUERETARO**

**POSGRADO EN TECNOLOGÍA AVANZADA**

**DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS  
BIODEGRADABLES DE CELULOSA COMBINADA CON QUITOSANO Y  
ALCOHOL POLIVINÍLICO**

**TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR  
EN TECNOLOGÍA AVANZADA**

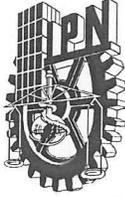
**PRESENTADO POR  
M. PATRICIA CAZÓN DÍAZ**

**Directores:**

**Dr. GONZALO VELAZQUEZ DE LA CRUZ**

**Dr. MANUEL VÁZQUEZ VÁZQUEZ**





# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

SIP-13  
REP 2017

## ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS Y DESIGNACIÓN DE DIRECTOR DE TESIS

Ciudad de México, a 18 de mayo del 2020

El Colegio de Profesores de Posgrado del **CICATA unidad Querétaro** en su Sesión ordinaria No. **200515** celebrada el día **15** del mes de **mayo** de **2020**, conoció la solicitud por la alumna:

Apellido Paterno:	Cazón	Apellido Materno:	Díaz	Nombre (s):	Patricia
-------------------	-------	-------------------	------	-------------	----------

Número de registro: A 1 6 0 9 4 2

del Programa Académico de Posgrado: Doctorado en Tecnología Avanzada

Referente al registro de su tema de tesis; acordando lo siguiente:

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:

**Desarrollo y caracterización de películas biodegradables de celulosa combinada con quitosano y alcohol polivinílico**

Objetivo general del trabajo de tesis:

**Desarrollar y caracterizar películas biodegradables a base de celulosa vegetal y microbiana, con propiedades mejoradas por la combinación con alcohol polivinílico y quitosano**

2.- Se designa como Directores de Tesis a los profesores:

Director: Dr. Gonzalo Velázquez de la Cruz 2° Director: Dr. Manuel Vázquez Vázquez

No aplica:

3.- El Trabajo de investigación base para el desarrollo de la tesis será elaborado por el alumno en:

**CICATA – IPN unidad Querétaro, Universidad de Santiago de Compostela (USC)**

que cuenta con los recursos e infraestructura necesarios.

4.- El interesado deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente, hasta la aprobación de la versión completa de la tesis por parte de la Comisión Revisora correspondiente.

Director de Tesis

Dr. Gonzalo Velázquez de la Cruz

2° Director de Tesis (en su caso)

Dr. Manuel Vázquez Vázquez

Aspirante

Patricia Cazón Díaz

Presidente del Colegio

Dr. Alejandro Alfredo Lozano Guzmán

SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA  
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL  
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN  
CIENCIA APLICADA  
Y TECNOLOGÍA AVANZADA  
UNIDAD QUERÉTARO  
DIRECCIÓN



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

SIP-14  
REP 2017

*ACTA DE REVISIÓN DE TESIS*

En la Ciudad de  siendo las  horas del día  del mes de  del  se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Posgrado de:  para examinar la tesis titulada:

de la alumna:

Apellido Paterno:	Cazón	Apellido Materno:	Díaz	Nombre (s):	Patricia
-------------------	-------	-------------------	------	-------------	----------

Número de registro:

Aspirante del Programa Académico de Posgrado:

Una vez que se realizó un análisis de similitud de texto, utilizando el software antiplagio, se encontró que el trabajo de tesis tiene un **28** % de similitud. **Se adjunta reporte de software utilizado.**

Después que esta Comisión revisó exhaustivamente el contenido, estructura, intención y ubicación de los textos de la tesis identificados como coincidentes con otros documentos, concluyó que en el presente trabajo SI  NO  SE CONSTITUYE UN POSIBLE PLAGIO.

**JUSTIFICACIÓN DE LA CONCLUSIÓN:**

En el análisis de similitud del documento de tesis no se encontraron frases completas idénticas a otras fuentes. Los porcentajes más altos de similitud que se detectaron corresponden a palabras aisladas de uso común en el área de estudio, al formato común que se utiliza para citar las referencias en la sección de bibliografía o a la coincidencia de texto con artículos derivados de este trabajo de tesis.

Es responsabilidad del alumno como autor de la tesis la verificación antiplagio y del Director o Directores de tesis el análisis del % de similitud para establecer el riesgo o la existencia de un posible plagio.

Finalmente y posterior a la lectura, revisión individual, así como el análisis e intercambio de opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR**  **SUSPENDER**  **NO APROBAR**  la tesis por **UNANIMIDAD**  o **MAYORÍA**  en virtud de los motivos siguientes:

El trabajo desarrollado, así como la comprensión y discusión de la información obtenida se considera que se cumple con los requisitos para proceder a sustentar el examen de grado al cual aspira.

**COMISIÓN REVISORA DE TESIS**

\_\_\_\_\_  
Director de Tesis  
Dr. Gonzalo Velázquez de la Cruz

\_\_\_\_\_  
Dra. Ma. Guadalupe del Carmen Méndez Montealvo

\_\_\_\_\_  
Dra. Eva González

\_\_\_\_\_  
Dr. Alejandro Lozano Guzmán

**PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES**

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
UNIDAD QUERÉTARO  
DIRECCIÓN

\_\_\_\_\_  
2º Director de Tesis  
Dr. Manuel Vázquez Vázquez (USC)  
EXTERNO

\_\_\_\_\_  
Dr. José Alberto Ramírez de León (UAT)  
EXTERNO



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

**CARTA CESIÓN DE DERECHOS**

En la Ciudad de **México, D. F.** el día **07** del mes de **mayo** del año **2020**, el que suscribe **Patricia Cazón Díaz** alumna del Programa de **Doctorado en Tecnología Avanzada** con número de registro **A160942**, adscrita al **Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada unidad Querétaro**, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del **Dr. Gonzalo Velazquez de la Cruz** y el **Dr. Manuel Vazquez Vazquez** y cede los derechos del trabajo titulado “**Desarrollo y caracterización de películas biodegradables de celulosa combinada con quitosano y alcohol polivinílico**”, al **Instituto Politécnico Nacional** para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección **gvelazquezd@ipn.mx**, **mvazquez@ucs.es** y **patriciacazondiaz@gmail.com**. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

---

**Patricia Cazón Díaz**

# **Índice de contenido**

1. Revisión de la literatura .....	19
1.1. Introducción. Polímeros biodegradables .....	20
1.2. Películas a base de polisacáridos para el envasado de alimentos.....	22
1.2.1. Celulosa .....	23
1.2.2. Quitosano .....	28
1.3. Polímeros sintéticos biodegradables .....	31
1.3.1. Alcohol polivinílico .....	31
1.4. Propiedades de las películas.....	32
1.4.1. Propiedades mecánicas .....	32
1.4.2. Permeabilidad del vapor de agua .....	37
1.4.3. Propiedades ópticas .....	42
1.4.4. Las isothermas de adsorción de humedad.....	43
1.5. Aplicación.....	44
2. Estructura.....	47
2.1. Justificación .....	48
2.2. Objetivos del proyecto .....	49
2.2.1. Objetivo general.....	49
2.2.2. Objetivos específicos .....	49
2.3. Hipótesis .....	50
3. Materiales y métodos.....	51
3.1. Materiales .....	52
3.2. Elaboración de las películas a base de celulosa regenerada combinadas con alcohol	

polivinílico y quitosano .....	52
3.3. Elaboración de películas a base de celulosa bacteriana combinadas con alcohol polivinílico y quitosano .....	54
3.4. Medición del espesor de la película .....	55
3.5. Contenido de humedad en equilibrio .....	56
3.6. Isotermas de adsorción de humedad.....	57
3.7. Propiedades mecánicas.....	58
3.8. Permeabilidad del vapor de agua a condiciones estándar.....	60
3.9. Capacidad de retención de agua .....	62
3.10. Solubilidad de las películas en el agua (%S) .....	62
3.11. Microscopía electrónica de barrido (SEM) .....	63
3.12. Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) .....	63
3.13. Propiedades ópticas y de barrera a la luz.....	63
3.14. Análisis térmico.....	64
3.15. Diseño y análisis estadístico .....	65
4. Resultados.....	66
4.1. Caracterización de películas compuestas a base de celulosa regenerada combinadas con quitosano y alcohol polivinílico.....	67
4.1.1. Efecto sobre las propiedades mecánicas a condiciones estándar.....	70
4.1.2. Efecto sobre la permeabilidad al vapor de agua (WVP) .....	88
4.1.3. Efecto sobre la retención o adsorción de agua (%W) .....	91
4.1.4. Microestructura de las películas.....	93
4.1.5. Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) .....	96
4.1.6. Propiedades de barrera de luz y transparencia .....	97

4.1.7. Análisis térmico de las películas .....	99
4.2. Caracterización de películas compuestas a base de celulosa bacteriana combinadas con quitosano y alcohol polivinílico .....	101
4.2.1. Microscopía electrónica de barrido (SEM) .....	103
4.2.2. Efecto sobre el espesor de la película .....	107
4.2.3. Efecto sobre el contenido de humedad en el equilibrio.....	109
4.2.4. Efecto sobre las propiedades mecánicas a condiciones estándar.....	111
4.2.5. Efecto sobre la permeabilidad al vapor de agua (WVP) .....	125
4.2.6. Efecto sobre la solubilidad de la película (%S) .....	129
4.2.7. Efecto sobre la propiedad de retención de agua de las películas (%W) .....	127
4.2.8. Propiedades de barrera de luz, transparencia y opacidad.....	130
4.2.9. Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) .....	136
4.2.10. Propiedades térmicas de las películas TGA-DSC.....	137
4.3. Películas de celulosa regenerada con quitosano y alcohol polivinílico: Efecto del contenido de humedad en las propiedades de barrera, mecánicas y ópticas .....	141
4.3.1. Evaluación de las isotermas de absorción de humedad .....	141
4.3.2. Permeabilidad del vapor de agua a diferentes actividades de agua .....	144
4.3.3. Propiedades mecánicas a diferentes actividades de agua .....	145
4.3.4. Propiedades ópticas a diferentes actividades de agua .....	149
4.4. Películas de celulosa bacteriana con quitosano y alcohol polivinílico: Efecto del contenido de humedad sobre las propiedades de barrera, mecánicas y ópticas .	153
4.4.1. Evaluación de las isotermas de adsorción de humedad .....	153
4.4.2. Permeabilidad del vapor de agua (WVP).....	156
4.4.3. Propiedades mecánicas a diferentes actividades de agua .....	158

4.4.4. Propiedades de barrera de luz, transparencia y opacidad.....	163
5. Conclusiones .....	166
Referencias.....	170
ANEXO .....	197
Artículos publicados.....	198
Congresos Internacionales .....	199

## Índice de Figuras

Figura 1. Esquema de la producción extracelular de fibras de celulosa. Fuente (Cacicedo et al., 2016). .....	24
Figura 2. Estructura química de la celulosa. Fuente: (Klemm et al., 2005).....	24
Figura 3. Estructura química del quitosano. Fuente:(Broek Van Den et al., 2015). .....	29
Figura 4. Esquema proceso de obtención de películas a base de celulosa regenerada con quitosano y alcohol polivinílico (PVOH). TA: temperatura ambiente. ...	53
Figura 5. Solución transparente de celulosa microcristalina en NaOH/Urea sobre una placa Petri para obtener películas de celulosa regenerada.....	54
Figura 6. Esquema resumen del proceso de producción de películas de celulosa bacteriana.....	56
Figura 7. Superficie de respuesta del efecto de la concentración de celulosa y quitosano sobre la resistencia de la tensión (TS) de las películas desarrolladas. A) Películas con 0% (p/p) de PVOH; B) Películas con 2% (p/p) de PVOH; C) Películas con 4% (p/p) de PVOH.....	72
Figura 8. Predicción del modelo para el efecto de la celulosa, el quitosano y el alcohol polivinílico (PVOH) sobre la elongación de rotura (%E). A) Películas con un 3% (p/p) de celulosa; B) Películas con un 4% (p/p) de celulosa; C) Películas con un 5% (p/p) de celulosa. ....	75
Figura 9. Predicción del modelo para el efecto de la celulosa, el quitosano y el alcohol polivinílico (PVOH) en el módulo de Young (YM). A) Películas con un 3% (p/p) de celulosa; B) Películas con un 4% (p/p) de celulosa; C) Películas con un 5% (p/p) de celulosa. ....	78

Figura 10. Predicción del modelo para el efecto de la celulosa, el quitosano y el alcohol polivinílico (PVOH) sobre la tenacidad (T). A) Películas con un 3% (p/p) de celulosa, B) Películas con un 4% (p/p) de celulosa, C) Películas con un 5% (p/p) de celulosa. ....	81
Figura 11. Superficie de respuesta de efecto de la concentración de las películas en la resistencia a la punción (BS). A) Películas con un 3% (p/p) de celulosa, B) Películas con un 4% (p/p) de celulosa, C) Películas con un 5% (p/p) de celulosa. ....	85
Figura 12. Predicción del modelo para el efecto de la celulosa, el quitosano y el alcohol polivinílico (PVOH) en la elasticidad de punción (DB) de las películas comestibles. A) Películas con 0% (p/p) de quitosano. B) Películas con 0,5% (p/p) de quitosano. C) Películas con 1% (p/p) de quitosano. ....	87
Figura 13. Predicción del modelo del efecto de la concentración de celulosa, quitosano y alcohol polivinílico (PVOH) sobre la permeabilidad al vapor de agua (WVP). A) Películas con 0% (p/p) de PVOH; B) Películas con 2% (p/p) de PVOH; C) Películas con 4% (p/p) de PVOH. ....	90
Figura 14. Predicción del efecto de las concentraciones de celulosa, quitosano y alcohol polivinílico (PVOH) en la adsorción de agua. A) Películas con un 3% (p/p) de celulosa, B) Películas con un 4% (p/p) de celulosa, C) Películas con un 5% (p/p) de celulosa. ....	92
Figura 15. Imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido (SEM) de la sección transversal de las películas obtenidas a base de celulosa regenerada combinadas con quitosano y alcohol polivinílico (PVOH) a diferentes concentraciones de celulosa y quitosano. ....	93
Figura 16. Imágenes de la superficie superior (Top) e inferior (Bottom) de las películas a base de celulosa regenerada-quitosano-alcohol polivinílico obtenidas con diferentes concentraciones de quitosano (Ch.) y celulosa (C), manteniendo constante la concentración de alcohol polivinílico (PVA). ....	94

Figura 17. Aspecto visual de las películas de celulosa regenerada-quitosano-alcohol polivinílico. ....	95
Figura 18. Perfil FT-IR Spectra de las películas seleccionadas. Composición: Todas las muestras de celulosa (4%), Exp 2 (1% de quitosano, 0% de PVOH), Exp 4 (1% de quitosano, 4% de PVOH), Exp 11 (0% de quitosano, 4% de PVOH), Exp 14 (0% de quitosano, 0% de PVOH). ....	96
Figura 19. Perfil del espectro UV-VIS-NIR de las películas seleccionadas. Transmittance: transmitancia; wavelength: longitud de onda. Composición: Todas las muestras de celulosa (4%), Exp 2 (1% de quitosano, 0% de PVOH), Exp 4 (1% de quitosano, 4% de PVOH), Exp 11 (0% de quitosano, 4% de PVOH), Exp 14 (0% de quitosano, 0% de PVOH). ....	98
Figura 20. Termograma obtenido por calorimetría diferencial de barrido de películas seleccionadas. Composición: Todas las muestras de celulosa (4%), Exp 2 (1% de quitosano, 0% de PVOH), Exp 4 (1% de quitosano, 4% de PVOH), Exp 11 (0% de quitosano, 4% de PVOH), Exp 14 (0% de quitosano, 0% de PVOH). ....	100
Figura 21. Imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido de las películas de los experimentos 1, 3 y 7. A) Muestra de celulosa bacteriana pura. B) Celulosa bacteriana-alcohol polivinílico 4% (p/p). C) Celulosa bacteriana-quitosano 1% (p/p). ....	105
Figura 22. Microscopía electrónica de barrido de la parte superior, inferior y transversal de las muestras 1, 5, 6, 8 y 9 de las películas. A) Celulosa bacteriana pura. B) Celulosa bacteriana, quitosano (0,5% p/p) y alcohol polivinílico (2% p/p). C) Celulosa bacteriana, quitosano (0,5% p/p) y alcohol polivinílico (4% p/p). D) Celulosa bacteriana, quitosano (1% p/p) y alcohol polivinílico (2% p/p). E) Celulosa bacteriana, quitosano (1% p/p) y alcohol polivinílico (4% p/p). ....	106
Figura 23. Modelo predictivo del efecto del alcohol polivinílico (PVOH) y el quitosano en el espesor de las películas a base de celulosa bacteriana. ....	109

Figura 24. Modelo predictivo del efecto sobre el contenido de humedad en equilibrio de las películas a base de celulosa bacteriana combinadas con quitosano y alcohol polivinílico (PVOH).....	111
Figura 25. Modelo predictivo para el efecto del alcohol polivinílico (PVOH) y quitosano en las películas a base de celulosa bacteriana.....	113
Figura 26. Modelo predictivo del efecto del contenido de quitosano y alcohol polivinílico en las propiedades de elasticidad (%E) de las películas a base de celulosa bacteriana.....	116
Figura 27. Modelo predictivo del efecto de la concentración del quitosano y alcohol polivinílico (PVOH) en los valores del módulo de Young para películas a base de celulosa bacteriana.....	117
Figura 28. Modelo predictivo de efecto del quitosano y alcohol polivinílico en la tenacidad de las películas a base de celulosa microbiana. ....	121
Figura 29. Modelo predictivo del efecto del contenido de quitosano y alcohol polivinílico (PVOH) en la resistencia a la punción de las películas a base de celulosa bacteriana.....	123
Figura 30. Modelo predictivo del contenido de quitosano y alcohol polivinílico en la elasticidad de las películas a base de celulosa bacteriana sometidas a una fuerza de punción.....	124
Figura 31. Efecto del contenido de quitosano y alcohol polivinílico (PVOH) en la permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas a base de celulosa bacteriana. ....	126
Figura 32. Modelo predictivo del efecto de la concentración de quitosano y alcohol polivinílico (PVOH) en la capacidad de adsorción de agua en las películas a base de celulosa bacteriana. ....	128

Figura 33. Modelo predictivo del efecto de la concentración de quitosano y alcohol polivinílico (PVOH) en la solubilidad de las películas compuestas a base de celulosa bacteriana..... 130

Figura 34. Perfil de transmitancia en la region UV-VIS de las películas de los experimentos 1, 3 y 7: Exp 1) Muestra de celulosa bacteriana pura; Exp 3) Celulosa bacteriana-alcohol polivinílico 4% (p/p); Exp 7) Celulosa bacteriana-quitosano 1% (p/p). ..... 132

Figura 35. Transmitancia en la región UV-VIS de las muestras de las películas de celulosa bacteriana-quitosano-alcohol polivinílico (PVOH) de los experimentos 1, 5, 6, 8 y 9. Experimento 1) Celulosa bacteriana pura. Experimento 5) Celulosa bacteriana, quitosano (0,5% p/p) y alcohol polivinílico (2% p/p). Experimento 6) Celulosa bacteriana, quitosano (0,5% p/p) y alcohol polivinílico (4% p/p). Experimento 8) Celulosa bacteriana, quitosano (1% p/p) y alcohol polivinílico (2% p/p). Experimento 9) Celulosa bacteriana, quitosano (1% p/p) y alcohol polivinílico (4% p/p). ..... 133

Figura 36. Aspecto visual de la muestra de A) celulosa bacteriana pura, B) celulosa bacteriana-alcohol polivinílico 4% (p/p) y C) celulosa bacteriana-quitosano 1% (p/p)..... 135

Figura 37. Espectro FT-IR de las películas de los experimentos 1, 3 y 7: Exp 1) Muestra de celulosa bacteriana pura; Exp 3) Celulosa bacteriana-alcohol polivinílico 4% (p/p); Exp 7) Celulosa bacteriana-quitosano 1% (p/p)..... 136

Figura 38. Termogravimetría (línea azul) y calorimetría diferencial de barrido (línea naranja) de los experimentos 1, 3 y 7: 1) Muestra de celulosa bacteriana pura; 3) Celulosa bacteriana-alcohol polivinílico 4% (p/p); 7) Celulosa bacteriana-quitosano 1% (p/p). .. 139

Figura 39. Termogravimetría y calorimetría diferencial de barrido de los experimentos 5, 6, 8, y 9. A) Celulosa bacteriana, quitosano (0,5% p/p) y alcohol polivinílico (2% p/p). B) Celulosa bacteriana, quitosano (0,5% p/p) y alcohol polivinílico (4% p/p). C) Celulosa bacteriana, quitosano (1% p/p) y alcohol polivinílico (2% p/p). D)

Celulosa bacteriana, quitosano (1% p/p) y alcohol polivinílico (4% p/p)..... 140

Figura 40. Isotherma de adsorción de agua de películas de celulosa regenerada, quitosano y alcohol polivinílico a 30°C. La línea sólida muestra el ajuste obtenido con el modelo GAB. X es el contenido de humedad de equilibrio de las muestras. .... 142

Figura 41. Permeabilidad al vapor de agua de las películas a base de celulosa regenerada, quitosano y alcohol polivinílico medida a 30°C en función de la  $a_w$ . La línea sólida muestra la isoterma obtenida con el modelo GAB. X es el contenido de humedad de equilibrio de las muestras..... 145

Figura 42. Propiedades mecánicas de las películas de celulosa regenerada, quitosano y alcohol polivinílico a 30 °C en función de la  $a_w$ . A) Efecto de las moléculas de agua sobre la resistencia a la tensión. B) Efecto de las moléculas de agua sobre el porcentaje de elasticidad. C) Efecto de las moléculas de agua en el módulo de Young. .... 148

Figura 43. Propiedades de punción de películas de celulosa regenerada, quitosano y alcohol polivinílico a 30°C en función de la  $a_w$ . A) Efecto de las moléculas de agua sobre la resistencia a la punción. B) Efecto de las moléculas de agua en la elasticidad de punción..... 149

Figura 44. Perfil espectral UV-VIS en función de la  $a_w$  de las películas de celulosa regenerada-quitosano-alcohol polivinilo acondicionadas a 30°C.A) Porcentaje de transmitancia de las muestras en la región UV. B) Porcentaje de transmitancia de las muestras en la región VIS.I ..... 151

Figura 45. Películas de celulosa bacteriana combinadas con quitosano 1% (p/p) y alcohol polivinílico (PVOH) 4% (p/p). .... 153

Figura 46. Isotherma de adsorción de humedad de las películas de celulosa bacteriana, quitosano y alcohol polivinílico a 30°C. La línea sólida muestra el ajuste obtenido con el modelo GAB. X es el contenido de humedad de equilibrio de las muestras. .... 154

Figura 47. Permeabilidad al vapor de agua de las películas de celulosa bacteriana,

quitosano y alcohol polivinílico a 30°C en función de la  $a_w$ . La línea sólida muestra la isoterma obtenida con el modelo GAB. X es el contenido de humedad de equilibrio de las muestras..... 157

Figura 48. Propiedades mecánicas de las películas de celulosa bacteriana, quitosano y alcohol polivinílico a 30°C en función de la  $a_w$ . A) Efecto de las moléculas de agua sobre la resistencia a la tensión. B) Efecto de las moléculas de agua sobre el porcentaje de elongación. C) El efecto de las moléculas de agua en el módulo de Young. .... 161

Figura 49. Propiedades mecánicas de punción de las películas de celulosa bacteriana con quitosano y alcohol polivinílico a 30 °C en función de  $a_w$ . A) Efecto de las moléculas de agua sobre la resistencia a la punción. B) Efecto de las moléculas de agua en la elasticidad de punción. .... 162

Figura 50. Espectros en la región UV de las películas de celulosa bacteriana, quitosano y alcohol polivinílico a 30°C en función de la humedad relativa (RH). ..... 164

## Índice de Tablas

Tabla 1. Propiedades de tensión y elongación hasta la rotura de varias películas de polisacáridos.....	34
Tabla 2. Resistencia a la tensión y alargamiento hasta la rotura de varios polímeros sintéticos.....	35
Tabla 3. La permeabilidad al vapor de agua (WVP) de varias películas de polisacáridos. ....	39
Tabla 4. Permeabilidad al vapor de agua (WVP) de varios polímeros sintéticos. Modificado de Gennadios, Weller, & Gooding (1994).....	40
Tabla 5. Formulación ensayada para el estudio de películas de celulosa reforzadas con quitosano y alcohol polivinílico (PVOH) y resultados experimentales de las propiedades de las películas logradas. TS es la resistencia a la tensión, %E es la elongación hasta la rotura, YM es el módulo de Young y WVP es la permeabilidad al vapor de agua.....	68
Tabla 6. Formulaciones ensayadas para el estudio de películas de celulosa reforzadas con quitosano y alcohol polivinílico (PVOH) y resultados experimentales de las propiedades de las películas.....	69
Tabla 7. Análisis de varianza (ANOVA) para cada una de las variables dependientes del estudio (resistencia a la tensión, elongación hasta la rotura, módulo de Young y permeabilidad al vapor de agua). ....	70
Tabla 8. Análisis de varianza (ANOVA) para cada una de las variables dependientes del estudio, tenacidad, resistencia a la punción, elasticidad de punción y adsorción de agua.....	83
Tabla 9. Diseño de experimentos para el estudio de películas a base de celulosa bacteriana combinadas con quitosano y alcohol polivinílico (PVOH). Resultados experimentales de las propiedades mecánicas y de permeabilidad de las películas desarrolladas. MC es el contenido de humedad en el equilibrio de cada	

muestra después de haber sido almacenada en desecadores con sal saturada de bromuro de sodio durante 5 días, TS es la resistencia a la tensión, %E es el porcentaje de elasticidad hasta la rotura, YM es el módulo de Young y WVP es la permeabilidad al vapor de agua.....	102
Tabla 10. Diseño de experimento para el estudio de películas bacterianas a base de celulosa bacteriana combinadas con quitosano y alcohol polivinílico (PVOH). Resultados experimentales sobre el espesor, tenacidad (T), resistencia a la punción (BS), elasticidad de punción (DB), adsorción o retención de agua (%W) y el porcentaje de solubilidad (%S) de las películas. ....	103
Tabla 11. El análisis de varianza (ANOVA) para cada una de las variables dependientes del estudio A es el contenido de quitosano, B es el contenido de alcohol polivinílico (PVOH), TS es la resistencia a la tensión, %E es el porcentaje de elongación hasta la rotura, YM es el módulo de Young, WVP es la permeabilidad al vapor de agua, MC es el contenido de humedad de equilibrio de cada muestra después de haber sido almacenada en desecadores con sal saturada de bromuro de sodio durante 5 días. ....	107
Tabla 12. Parámetros estadísticos de ajuste del modelo para el contenido de humedad de equilibrio de cada muestra después de haber sido almacenada en desecadores con sal saturada de bromuro de sodio durante 5 días, TS es la resistencia a la tensión, %E es el porcentaje de elongación hasta la rotura, y WVP es la permeabilidad al vapor de agua. ....	108
Tabla 13. Análisis de varianza (ANOVA) para las variables dependientes del estudio de espesor, tenacidad, resistencia a la punción, elasticidad de punción, adsorción o retención de agua y solubilidad de las películas.....	119
Tabla 14. Parámetros estadísticos de ajuste de modelo de las variables de estudio de espesor, tenacidad (T), resistencia a la punción (BS), elasticidad de punción (DB), adsorción o retención de agua (%W) y el porcentaje de solubilidad (%S) de las películas. ....	120

Tabla 15. Parámetros de color, valores de transmitancia porcentual promedio en cada región de radiación de luz ultravioleta UV-A (320-400 nm), UV-B (280-320 nm) y UV-C (190-280 nm) y propiedades ópticas de las muestras preacondicionadas a diferentes humedades relativas y a 30°C. ....	152
Tabla 16. Propiedades ópticas de las muestras preacondicionadas en diferentes condiciones de actividad del agua. Promedio de los valores de transmitancia porcentual en cada región de la radiación de luz ultravioleta UV-A (320-400 nm), UV-B (280-320 nm) y UV-C (190-280 nm). L*, a* y b* son los parámetros de la CIE.....	163

## **Resumen**

La celulosa se considera una alternativa para la creciente demanda del desarrollo de nuevos envases alimentarios ecológicos y biocompatibles. El objetivo de este estudio fue desarrollar películas a base de celulosa, tanto de origen vegetal como bacteriano. Las películas a base de celulosa vegetal se obtuvieron disolviendo celulosa microcristalina mediante el método de disolución de NaOH/urea, seguido de un proceso de coagulación en solución de ácido acético. Las películas a base de celulosa bacteriana se obtuvieron por fermentación de la bacteria acética *Komagataeibacter xylinus* en un medio de cultivo comercial. Las películas a base de celulosa se combinaron con alcohol polivinílico (PVOH) y quitosano con el objetivo de reforzar las propiedades mecánicas y ópticas. Se obtuvieron modelos polinomiales para describir el efecto de la formulación sobre las propiedades mecánicas (resistencia a la rotura, porcentaje de elasticidad, tenacidad, módulo de Young, resistencia a la punción y elongación de punción), permeabilidad al vapor de agua, adsorción de agua, solubilidad y propiedades ópticas. La morfología, las propiedades estructurales y térmicas de las películas se evaluaron mediante microscopía electrónica de barrido, análisis espectral (FT-IR y UV-VIS-NIR) y calorimetría diferencial de barrido. Además, se analizó el efecto del contenido de humedad sobre las propiedades mecánicas, de barrera y ópticas.

Los resultados mostraron una mejora significativa de las propiedades mecánicas y ópticas mediante la adición de quitosano y alcohol polivinílico. Se observó una disminución en los valores de permeabilidad al vapor de agua de las películas compuestas con respecto a los polímeros puros. La calorimetría diferencial de barrido mostró que las interacciones que tuvieron lugar entre celulosa-quitosano-alcohol polivinílico aumentaron la estabilidad térmica del compuesto polimérico. Debido a la porosidad de las películas de celulosa, el quitosano y el PVOH penetraron en la matriz de celulosa, promoviendo una estructura más compacta, aumentando la resistencia mecánica y mejorando la transparencia y la opacidad de las películas a base de celulosa. Las diferencias en la conformación y organización de las fibras de celulosa a nivel de microestructura entre la celulosa bacteriana y la celulosa regenerada, afectaron a la

interacción y difusión de quitosano y PVOH a través de la matriz de celulosa. La estructura tridimensional de la celulosa bacteriana, con mayor porosidad y superficie de contacto con respecto a la celulosa regenerada, facilitó la difusión del quitosano y el PVOH a través de la estructura, observando un mayor efecto de refuerzo del quitosano y PVOH en la matriz celulósica. Debido a estas diferencias estructurales, se observó un mayor efecto del quitosano y PVOH sobre las propiedades mecánicas y ópticas de las películas a base de celulosa bacteriana que sobre las películas a base de celulosa regenerada. En ambos casos, fue posible desarrollar películas con valores óptimos de transparencia, manteniendo bajos valores de transmitancia en la región de luz ultravioleta, mostrando propiedades extraordinarias de barrera contra la radiación UV.

Debido a la naturaleza hidrofílica de los materiales, se observó una modificación de las propiedades mecánicas, de permeabilidad y ópticas en función del contenido de humedad de las muestras. Los resultados permiten predecir el comportamiento de las películas en función de la humedad relativa del ambiente que rodea a la película.

Los resultados mostraron que es factible obtener películas a base de celulosa con propiedades mecánicas y de barrera adecuadas y excelentes propiedades de protección contra la radiación UV. Estos materiales podrían ser útiles para posibles aplicaciones de envasado en la industria alimentaria o como alternativa parcial a las películas sintéticas.

## **Abstract**

Cellulose is considered an alternative to the growing demand for the development of new biodegradable and biocompatible food packaging. The purpose of this study was to develop cellulose-based films, both of vegetable and bacterial origin. The vegetable cellulose-based films were obtained by dissolving microcrystalline cellulose, using the NaOH/urea dissolution method, followed by a coagulation process in acetic acid solution. Bacterial cellulose-based films were obtained by fermentation of the acetic bacteria *Komagataeibacter xylinus* in a commercial culture media. The cellulose-based films were combined with polyvinyl alcohol (PVOH) and chitosan in order to reinforce the mechanical and optical properties of the composite films. Polynomial models were obtained to describe the effect of the formulation on the mechanical properties (tensile strength, percentage of elongation, toughness, Young's modulus, burst strength and distance to burst), water vapor permeability, water adsorption, solubility and optical properties. The morphology, the structural and thermal properties of the films were evaluated by scanning electron microscopy, spectral analysis (FT-IR and UV-VIS-NIR) and differential scanning calorimetry. In addition, the effect of moisture content on mechanical, barrier and optical properties was analyzed.

The results showed a significant improvement of the mechanical and optical properties by adding chitosan and polyvinyl alcohol. A decrease in the water vapor permeability values of the composite films was observed with respect to the pure polymers. Differential scanning calorimetry showed that the interactions that took place between cellulose-chitosan-polyvinyl alcohol increased the thermal stability of the polymer blend. Due to the porosity of the cellulose films, chitosan and PVOH penetrated the cellulose matrix, promoting a more compact structure, increasing mechanical resistance and improving the transparency and opacity of cellulose-based films. The differences in the conformation and organization of the cellulose fibers at the microstructure level between bacterial cellulose and regenerated cellulose affected the interaction and diffusion of chitosan and PVOH through the cellulose matrix. The three-dimensional structure of bacterial cellulose, with greater porosity and contact surface with respect to

regenerated cellulose, facilitated the diffusion of chitosan and PVOH through the structure, observing a greater reinforcing effect of chitosan and PVOH in the cellulosic matrix. Due to these structural differences, a greater effect of chitosan and PVOH was observed on the mechanical and optical properties of bacterial cellulose based films than on regenerated cellulose-based films. In both cases, it was possible to develop films with optimal transparency values, keeping low transmittance values in the ultraviolet light region, showing extraordinary barrier properties against UV radiation.

Due to the hydrophilic nature of the materials, a modification of the mechanical, permeability and optical properties was observed depending on the moisture content of the samples. The results allow predicting the behavior of the films based on the relative humidity of the environment surrounding the film.

The results showed that it is feasible to obtain cellulose based films with adequate mechanical and barrier properties and excellent protection properties against UV radiation. These materials could be useful for possible packaging applications in the food industry or as a partial alternative to synthetic films.

# **1. Revisión de la literatura**

## **1.1. Introducción. Polímeros biodegradables**

En las últimas décadas, la producción y uso de películas sintéticas para envasado de alimentos ha crecido rápidamente. En 2012, la producción mundial de plástico alcanzó los 288 millones de toneladas, lo que supone un aumento del 620% desde 1975 (Jambeck et al., 2015). El significativo aumento de consumo de envases plásticos en las últimas décadas se debe a las propiedades adecuadas para varias aplicaciones, principalmente, como envase de alimentos. Los plásticos sintéticos son de bajo costo con excelentes propiedades de barrera de oxígeno/vapor de agua, apariencia visual y propiedades mecánicas adecuadas para mantener la integridad del envase durante su vida útil (Cazon et al., 2017; Trinetta, 2016). Sin embargo, la compleja gestión de los desechos de los envases de plástico ha dado lugar a graves problemas medio ambientales, debido a que estos materiales no son biodegradables (Andrady, 2011; Jambeck et al., 2015). Además, los materiales destinados a embalaje en industria alimentaria presentan algunas dificultades que no siempre permiten su reciclaje. Menos del 3% de los 500,000 millones de bolsas de plástico que se distribuyen en el mercado cada año se reciclan (Trinetta, 2016). Por otro lado, hay una creciente preocupación ambiental por los micro plásticos. La degradación de los desechos plásticos no controlados provoca la reducción de su tamaño, convirtiéndolos en pequeños fragmentos de plástico. Los pequeños fragmentos de plástico pueden incorporarse a la cadena alimentaria y suponen un potencial riesgo para la salud de los seres humanos (Andrady, 2011; Cole et al., 2011; Jambeck et al., 2015). La presencia de estos micro plásticos en productos alimenticios se observó recientemente en un trabajo publicado que informaba de la presencia de micro plástico en las sales de mesa comerciales (Iñiguez et al., 2017).

Como resultado de los problemas ambientales derivados del uso incontrolado de plásticos sintéticos no biodegradables, los consumidores demandan el desarrollo de nuevos materiales biodegradables como una alternativa a los plásticos usados en la industria alimentaria. Atendiendo a esta necesidad de la sociedad, en las últimas décadas científicos especializados en ciencia y tecnología de los alimentos han desarrollado nuevos materiales para obtener películas comestibles y biodegradables. Estas películas están

basadas principalmente en materiales de fuentes renovables que abundan en la naturaleza (Persin et al., 2011) o polímeros sintéticos con propiedades biodegradables (Kronenthal, 1975). Los biopolímeros de fuentes renovables deben ser materiales baratos y, por este motivo, está aumentando el interés por utilizar desechos o subproductos de la industria agroalimentaria como materia primas para obtener biopolímeros (Kim, Son, Kim, Weller, & Hanna, 2006). De esta manera, las aplicaciones de películas basadas en polisacáridos en los productos alimenticios podrían ofrecer oportunidades para desarrollar nuevos sistemas de envasado de alimentos más sostenibles con el medio ambiente.

Se ha estudiado la capacidad de formación de película de varios polisacáridos, entre ellos la celulosa, el quitosano, el almidón, la pectina, el alginato, la carragenina, el pululano y el kefirán (Cazon et al., 2017; Elsabee & Abdou, 2013; Espitia, Du, Avena-Bustillos, Soares, & McHugh, 2014; Galus & Kadzińska, 2015; Jiménez, Fabra, Talens, & Chiralt, 2012; Motedayen, Khodaiyan, & Salehi, 2013; Xu, Chen, Rosswurm, Yao, & Janaswamy, 2016; Zolfi, Khodaiyan, Mousavi, & Hashemi, 2014). En la mayoría de los casos, se requiere la adición de plastificantes para obtener películas a base de polisacáridos. Sin la adición de un plastificante, las películas obtenidas de varios polisacáridos son frágiles, debido generalmente a las interacciones entre las cadenas de polímeros (Vieira et al., 2011). El plastificante actúa como lubricante, reduciendo la fricción intermolecular que permite aumentar la deformabilidad de un polímero. El plastificante también puede reducir la cohesión dentro de la red de la película al debilitar las fuerzas intermoleculares entre los polímeros adyacentes (Espitia et al., 2014; Marcos et al., 2010; Shtarkman & Razinskaya, 1983). De esta manera, los plastificantes modifican o mejoran las propiedades mecánicas, reducen la tensión de la deformación, la dureza, la densidad y la viscosidad y aumentan la flexibilidad de la cadena de polímeros, así como la resistencia a la fisura (Vieira et al., 2011). Sin embargo, en los materiales hidrófilos, los plastificantes modifican las propiedades de barrera y suelen aumentar la permeabilidad al vapor de agua. La adición de plastificantes hidrofóbicos podría dar lugar a una disminución de la interacción entre las moléculas de agua y la matriz polimérica (Espitia et al., 2014; Han, 2014; Vieira et al., 2011).

Entre los plastificantes utilizados comúnmente se encuentran los polioles (glicerol, sorbitol y polietilenglicol), los azúcares (glucosa, sacarosa) y los lípidos (monoglicéridos,

fosfolípidos y surfactantes) (Espitia et al., 2014). El uso de plastificantes de origen natural, como los triglicéridos de los aceites vegetales o los ésteres de ácidos grasos, está aumentando debido a su baja toxicidad y baja migración (Vieira et al., 2011).

Por otro lado, existen polímeros sintéticos biodegradables que pueden combinarse con materiales naturales para aumentar las potenciales aplicaciones de las mezclas y manteniendo su biodegradabilidad. Entre estos materiales se encuentran el alcohol polivinílico (PVOH) y las policaprolactonas (Baker et al., 2012; Benedict et al., 1983), siendo el PVOH, el polímero sintético más utilizado para mezclarse con otros materiales de origen natural para obtener compuestos biodegradables con propiedades mejoradas.

## **1.2. Películas a base de polisacáridos para el envasado de alimentos**

Una película biodegradable podría definirse como un embalaje primario elaborado a partir de polímeros biodegradables y aditivos de grado alimentario. Se puede formar una fina capa de material biodegradable en una película y se puede utilizar como empaque de alimentos sin cambiar los ingredientes originales o el método de procesamiento. Se han utilizado diferentes películas biodegradables para la protección de los alimentos y la prolongación de su vida útil (Galus & Kadzińska, 2015; Han, 2014).

Para la elaboración de las películas biodegradables, las materias primas deben ser disueltas o dispersadas usando un solvente como el agua, el alcohol, una mezcla de agua y alcohol o una mezcla de otros solventes. En este proceso se pueden añadir plastificantes, agentes antimicrobianos, colorantes o aromatizantes para reforzar las propiedades de las películas. En ocasiones, puede ser necesario ajustar el pH, calentar las soluciones y/u otros pasos adicionales para facilitar la solubilidad de algunos biopolímeros. A continuación, la solución formadora de película se vierte en un molde y se deja secar a la temperatura y condiciones de humedad específicas o deseadas para obtener las películas. Además de utilizar el polisacárido en forma de película, es posible su aplicación en forma de recubrimiento de los alimentos, por ejemplo, por inmersión del producto en la solución del polímero, o por atomización de la solución formadora de película sobre el producto (Bourtoom, 2008).

Trabajos previos han demostrado la viabilidad de usar polisacáridos como la celulosa y sus derivados, el quitosano, los almidones y las gomas como materias primas para elaborar películas y recubrimientos comestibles que pueden utilizarse como material de envasado para la conservación de alimentos (Aider, 2010; Elsabee & Abdou, 2013; Espitia et al., 2014; Han, 2014; Jiménez et al., 2012; Klemm, Heublein, Fink, & Bohn, 2005; Psomiadou, Arvanitoyannis, & Yamamoto, 1996; Vargas & Gonzalez-Martinez, 2010; Zhang, Liu, & Han, 2008). Los materiales de embalaje a base de polisacáridos deben tener un bajo costo, disponibilidad y algunas propiedades funcionales o específicas que ayuden a la conservación de los alimentos. Los tipos de polisacáridos y la amplia gama de aditivos que podrían incorporarse durante la preparación de películas biodegradables podrían permitir aumentar la vida útil de los alimentos listos para el consumo.

### **1.2.1. Celulosa**

La celulosa constituye el recurso polimérico renovable más abundante de la naturaleza. En la literatura se puede encontrar múltiples trabajos en los que se evalúa la celulosa como materia prima para desarrollar películas biodegradables, principalmente debido a su bajo costo, no toxicidad, biocompatibilidad, biodegradabilidad, estabilidad química y disponibilidad en la naturaleza (Wang et al., 2016). La celulosa puede ser aislada de la madera, el algodón, el cáñamo y otros materiales vegetales (Xu et al., 2016). Además, la celulosa también es producida por tunicados, varias especies de algas y por algunas especies de bacterias como *Acetobacter*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Sarcina*. *Komagataeibacter xylinus*, inicialmente denominada *Acetobacter xylinum*, más difundida como *Gluconoacetobacter xylinus* (Szymańska-Chargot et al., 2017; Yamada et al., 2012).

La celulosa obtenida de fuentes vegetales puede contener restos de otros compuestos naturales, como la lignina y la hemicelulosa. La celulosa sintetizada por microorganismos, denominada celulosa bacteriana, está libre de otros compuestos (Esa et al., 2014; Klemm et al., 2005; Nguyen et al., 2008). La celulosa bacteriana es sintetizada extracelularmente en forma de fibrillas por varias bacterias, utilizando principalmente la glucosa como fuente de carbono, como se muestra en la Figura 1 (Cacicedo et al., 2016).

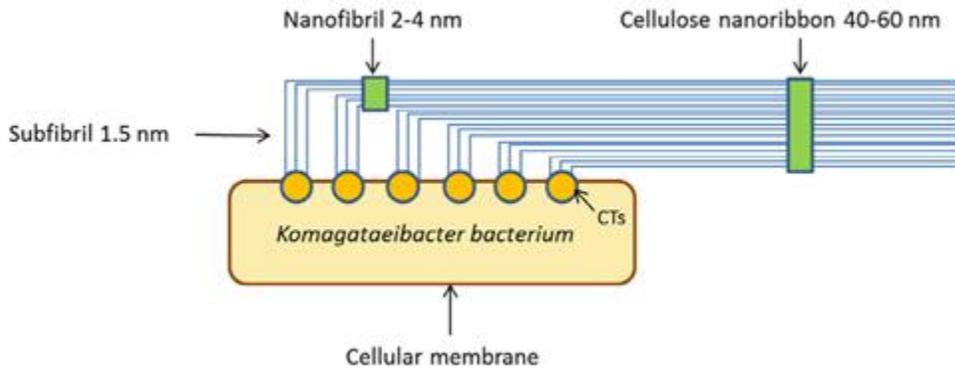


Figura 1. Esquema de la producción extracelular de fibras de celulosa. Fuente (Cacicedo et al., 2016).

La celulosa de origen vegetal y microbiano tienen la misma estructura química que consiste en una cadena lineal con dos anillos de anhidroglucosa ((C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>)<sub>n</sub>), unidos covalentemente a través de un oxígeno en un enlace glucosídico β-1-4, como muestra la Figura 2 (Klemm et al., 2005). El número de unidades repetidas por cadena depende de la fuente (Wang et al., 2016). A pesar de tener estructura química igual, la celulosa bacteriana presenta una estructura tridimensional con mayor superficie de contacto, porosa, con alta cristalinidad y pureza. Por este motivo, la celulosa bacteriana tiene varias ventajas frente a la celulosa vegetal, como mayor resistencia mecánica y afinidad por el agua (Rozenberga et al., 2016).

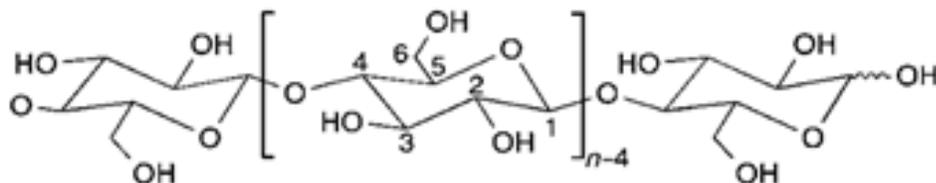


Figura 2. Estructura química de la celulosa. Fuente: (Klemm et al., 2005).

Las moléculas de celulosa se organizan en microfibras, en las que hay extensos enlaces de hidrógeno entre las cadenas de celulosa, produciendo una fuerte estructura cristalina. La celulosa es insoluble en disolventes polares comunes, pero es soluble en algunos disolventes que no tienen propiedades químicas similares entre ellos. La insolubilidad de la celulosa en el agua ha sido el foco principal de varias investigaciones y hasta ahora, hay dos hipótesis principales. Una de las hipótesis afirma que la insolubilidad en agua se debe a la longitud relativamente alta de la cadena molecular de la celulosa y a su estrecho empaquetamiento a través de numerosos puentes de hidrógeno (Wang et al., 2016). Otros autores explican la insolubilidad teniendo en cuenta la cristalinidad de la celulosa (Lindman et al., 2010). Investigaciones previas indicaron que los grupos hidroxilo en C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub> y C<sub>6</sub> contribuyen a la formación de diversos tipos de enlaces de hidrógeno inter e intramoleculares, que tienen una gran influencia sobre las propiedades físicas de la celulosa (solubilidad, reactividad de los grupos hidroxilos, cristalinidad) y sobre las propiedades mecánicas (Fan et al., 2012). El módulo cristalino de la celulosa nativa con y sin los puentes de hidrógeno intramoleculares se calculó, siendo 172.9 GPa y 70.8 GPa, respectivamente (Tashiro & Kobayashi, 1985). Este resultado demostró que los puentes de hidrógeno juegan un papel importante en el mecanismo de deformación de la cadena polimérica.

Dado que la celulosa es una potencial materia prima para desarrollar películas biodegradables y el interés que suscita este material, se han desarrollado varios métodos para disolverla como paso previo al proceso de producción de películas. En algunos de estos métodos se utilizan disolventes como el óxido de N-metilmorfolina, líquidos iónicos, LiCl/N,N-dimetilacetamida, solución acuosa de NaOH, álcali/urea, solución acuosa de NaOH/tiourea, sistema de fluoruro de tetrabutilamonio/dimetil sulfóxido y otras soluciones más complejas, como las soluciones acuosas de metal compuestas de iones de metales de transición y ligandos nitrosos, incluyendo el hidróxido de cupramonio (Cuam: [Cu(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>](OH)<sub>2</sub>) e hidróxido de cuprilendiamina (Cuen: [Cu(H<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>](OH)<sub>2</sub>) (Isik et al., 2014; Lindman et al., 2010; Wang et al., 2016).

Entre los disolventes desarrollados, el sistema de monohidrato de N- metilmorfolina-N-óxido (NMMO) es el más eficaz. Sin embargo, el sistema NMMO/H<sub>2</sub>O tiene varias

desventajas principalmente debido a que requiere altas temperaturas para la disolución de la celulosa, la necesidad de antioxidantes para evitar las reacciones secundarias de los disolventes y evitar la degradación de la celulosa así como los altos costos (Zhang, Li, Yu, & Hsieh, 2010). Por otro lado, el sistema acuoso de NaOH es uno de los solventes de celulosa más baratos. La celulosa puede ser disuelta en una solución acuosa de 7-9% de NaOH a bajas temperaturas (4°C), en la que los puentes intermoleculares de hidrógeno se debilitan. Sin embargo, este método sólo se utiliza para la celulosa de bajo peso molecular, lo que limita el proceso, las aplicaciones y las propiedades mecánicas de los productos obtenidos (Zhou & Zhang, 2000). En sistemas acuosos de NaOH/celulosa, al aumentar la temperatura de la solución, se produce una desestabilización de la solución, convirtiéndose en un gel. Los investigadores demostraron que al añadir urea, el cambio a gel no se produce cuando aumenta la temperatura, lo que mejora la estabilidad de la solución de celulosa y mejora la dispersión de la celulosa (Zhou & Zhang, 2000).

El método de disolución del NaOH/urea se basa en que el NaOH puede penetrar entre los cristales y romper los enlaces de hidrógeno inter e intramoleculares entre las cadenas de celulosa. La urea actúa como donante y receptor de hidrógenos para prevenir la reasociación de las cadenas moleculares de la celulosa y mejorar la estabilidad de la solución (Zhang et al., 2010; Zhou, Zhang, & Cai, 2004). La disolución de la celulosa con el método NaOH/urea requiere temperaturas por debajo de -10°C. El efecto a bajas temperaturas ha sido analizado por la entalpía total de la disolución de la celulosa (Ecuación 1):

$$\Delta H_{\text{Disolución}} = \Delta H_{\text{fusión}} + \Delta H_{\text{transición}} + \Delta H_{\text{interacción}} + \Delta H_{\text{mezcla}} \quad (\text{Ec. 1})$$

La disolución de la celulosa cristalina en dispersión molecular se divide en varias etapas: primero, la transición del polímero sólido a un hipotético estado líquido altamente elástico que corresponde a la desintegración de las regiones cristalinas ( $\Delta H_{\text{fusión}}$ ) y la transición de las regiones amorfas de un estado vítreo a un estado altamente elástico ( $\Delta H_{\text{transición}}$ ); segundo, la disolución de las moléculas del polímero ( $\Delta H_{\text{interacción}}$ ); y tercero, la mezcla de la disolución de las moléculas del polímero para dar una solución infinitamente diluida ( $\Delta H_{\text{mezcla}}$ ). El único término endotérmico de la ecuación es  $\Delta H_{\text{fusión}}$  asociado con la

rotura de los puentes de hidrógeno en las regiones cristalinas. Todos los demás términos están relacionados con las interacciones entre los grupos hidroxilo de la celulosa y el sistema de disolventes, y son exotérmicos. El proceso general de disolución de la celulosa es exotérmico y se ve favorecido por la baja temperatura (Zhang et al., 2010). Durante el tiempo de almacenamiento, la celulosa en solución sufre un ligero proceso de degradación (Zhou & Zhang, 2000).

Las películas de celulosa regenerada pura se obtienen mediante el método de vaciado en placa (casting) seguido de un proceso de regeneración por medio de un baño de ácido, entre otros, ácido acético,  $H_2SO_4$ ,  $H_2SO_4/Na_2SO_4$ ,  $Na_2SO_4$  y  $(NH_4)_2SO_4$  (Zhang, Mao, Zhou, & Cai, 2005). Para ello, se vierte un volumen determinado de celulosa disuelta en NaOH/urea en una placa de Petri, y luego se sumerge en un baño coagulante de una solución ácida. En el baño ácido se produce una película de celulosa regenerada, que necesita lavarse con abundante agua destilada.

Otra alternativa para utilizar la celulosa como materia prima para diferentes aplicaciones o como películas biodegradables, es el uso de derivados de la celulosa solubles en agua. Los tres grupos hidroxilos presentes en la unidad de anhidroglucosa pueden reaccionar parcial o totalmente con diversos reactivos para formar derivados solubles en el agua, como los ésteres de celulosa (acetato de celulosa, triacetato de celulosa y butirato de celulosa) y los éteres de celulosa (metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, etilcelulosa, hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa e hidroxietilcelulosa) (Bourtoom, 2008; Paunonen, 2013). Las películas obtenidas de estos derivados de la celulosa son generalmente transparentes, solubles en agua, inodoras, insípidas, flexibles, con una fuerza moderada y resistencia a los compuestos lipídicos (Dhall, 2013).

La metilcelulosa es el derivado de la celulosa más hidrófilo y soluble en agua. También es más económico y fácil de conseguir (Erdohan & Turhan, 2005). Las películas a base de hidroxipropilcelulosa y metilcelulosa son muy eficientes como barrera al oxígeno, dióxido de carbono y lípidos, pero presentan pobres propiedades de barrera al vapor de agua. Sin embargo, las propiedades de barrera al vapor de agua pueden mejorarse

añadiendo materiales hidrofóbicos, como lípidos, a la solución formadora de película (Villalobos et al., 2005). Por otro lado, la metilcelulosa y la hidroxipropilmetilcelulosa tienen la capacidad de formar un recubrimiento inducido térmicamente que se ha utilizado para cubrir productos fritos (Varela & Fiszman, 2011). La hidroxipropil celulosa presenta propiedades termoplásticas, lo que permite que se pueda extruir para formar películas (Bourtoom, 2008).

Otro derivado de la celulosa, desarrollado a principios del siglo XX, y el más utilizado en los envases de alimentos, es el celofán. Durante el proceso de fabricación del celofán, la celulosa se deriva primero con disulfuro de carbono e hidróxido de sodio a un xantato de celulosa sódica soluble en álcali, que se disuelve posteriormente en hidróxido de sodio diluido. Las pulpas disolventes se utilizan a menudo como materia prima. El líquido viscoso se extrae en un baño de ácido sulfúrico y sulfato de sodio para convertirlo en celulosa sólida. Este proceso tradicional genera subproductos peligrosos ( $CS_2$  y  $H_2S$ ) durante la fabricación. El celofán tiene pobres propiedades de barrera al vapor de agua (alta permeabilidad al vapor de agua) en comparación con los polímeros sintéticos (Bedane, Eic, et al., 2015; Paunonen, 2013).

### **1.2.2. Quitosano**

El quitosano es uno de los polisacáridos más estudiados. Desde 2016 hasta mediados de 2019 se han publicado más de 9000 artículos sobre películas de quitosano (ScienceDirect®). El quitosano es un derivado de la quitina y es el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza después de la celulosa. La quitina se aísla principalmente de los desechos de los crustáceos (camarones y cangrejos). Fuentes alternativas de quitina o quitosano son los hongos y los insectos, aunque su aplicación industrial es limitada. El quitosano se obtiene mediante la desacetilación alcalina parcial de la quitina. Se trata de un polímero natural catiónico de alto peso molecular compuesto de cadenas distribuidas aleatoriamente de  $\beta$ -(1-4) D-glucosamina (unidades desacetiladas) y N-acetil-D-glucosamina (unidad acetilada) (Figura 3). El quitosano no se identifica con una única sustancia, sino que se utiliza para describir una serie de polímeros de quitosano con diferentes pesos moleculares (50-2000 kDa) y grados de desacetilación (40-98%) (Broek

Van Den, Knoop, Kappen, & Boeriu, 2015; Chenite, Buschmann, Wang, Chaput, & Kandani, 2001; Kerch & Korkhov, 2011; Kim et al., 2006; Rinaudo, 2006).

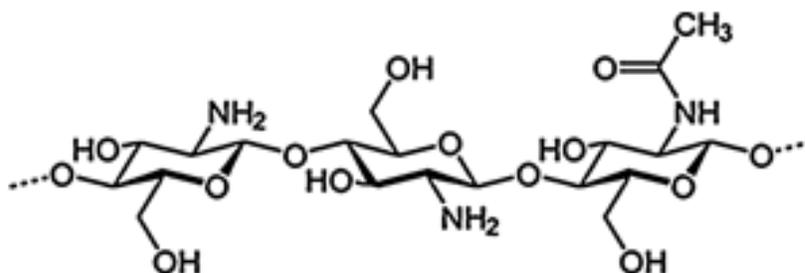


Figura 3. Estructura química del quitosano. Fuente: (Broek Van Den et al., 2015).

El quitosano posee propiedades interesantes ya que es no tóxico, biodegradable, biofuncional y biocompatible (Dutta et al., 2009). Además, el quitosano ha atraído la atención como potencial conservador de alimentos debido a su actividad antimicrobiana contra una amplia gama de hongos, levaduras y bacterias (Aider, 2010; Coma et al., 2002). La hipótesis más aceptada es un cambio en la permeabilidad de las células por apilamiento electrostático de la superficie celular. El quitosano, debido a la carga positiva del grupo amino en C2 por debajo de su  $\text{pK}_a$  (pH 6,3), crea una estructura policatiónica, que interactúa con las membranas celulares microbianas (carga negativa). Esta interacción conduce a la fuga de componentes proteínicos y otros componentes intracelulares. Otra hipótesis propuesta es la capacidad de penetración del quitosano en el núcleo de la célula debido a su bajo peso molecular, bloqueando la transcripción del ADN al ARN debido a la adhesión a las moléculas de ADN. La última hipótesis propuesta se basa en el hecho de que el quitosano puede actuar como agente quelante de nutrientes esenciales, inhibiendo la producción de toxinas y el crecimiento microbiano (Broek Van Den et al., 2015; Helander et al., 2001; No et al., 2007; Vartiainen et al., 2004).

El quitosano es insoluble en agua y en disolventes orgánicos comunes. Sin embargo, la solubilidad depende del grado de N-acetilación (DA) y del peso molecular ( $M_w$ ). El quitosano puede disolverse fácilmente en soluciones ácidas de pH inferior a 6,3, aunque

a concentraciones superiores al 2% (p/p), la solución resultante se vuelve muy viscosa (Broek Van Den et al., 2015; Kaur & Dhillon, 2014; Yeul & Rayalu, 2013).

Se han reportado varios métodos para obtener películas basadas en el quitosano. En el método de “casting”, el quitosano se disuelve en disolventes adecuados o en agua ligeramente acidificada y, si es necesario, se añade un plastificante. La solución se vierte sobre una superficie plana y se deja evaporar a determinadas condiciones de temperatura y humedad (Leceta et al., 2013; Priyadarshi et al., 2018; Suyatma et al., 2005).

Para obtener láminas, la extrusión es la opción más económica (Broek Van Den et al., 2015). En la extrusión, se utilizan uno o dos tornillos giratorios para aumentar progresivamente la presión y mezclar los ingredientes durante la fabricación de las películas. Al final de los tornillos, la mezcla se expande después de pasar por un dado (Espitia et al., 2014). Pero en este caso, el quitosano presenta la desventaja de no ser termoplástico, por lo que, a diferencia de los polímeros termoplásticos convencionales, el quitosano no puede ser extruido o moldeado, y las películas no pueden ser selladas por calor. Este comportamiento limita la producción de películas de quitosano a nivel comercial y reduce las aplicaciones (Pelissari et al., 2011). La mezcla de quitosano con polímeros termoplásticos, como el polisuccinato de butileno, el poliadipato de butilentereftalato, el polisuccinato de butileno adipato, representa una alternativa para mejorar las propiedades térmicas de este material (Broek Van Den et al., 2015).

Las buenas propiedades de formación de películas del quitosano permiten la producción de películas y materiales de recubrimiento con buenas propiedades mecánicas y una permeabilidad selectiva al CO<sub>2</sub> y al O<sub>2</sub>. Sin embargo, las películas de quitosano son muy permeables al vapor de agua, lo que limita su uso en los productos alimenticios porque, por lo general, un control eficaz de la transferencia de humedad es una propiedad importante para la preservación de la calidad de los alimentos, especialmente en entornos de alta humedad relativa (Aider, 2010).

Por esta razón, se han propuesto varias estrategias para mejorar las propiedades funcionales de las películas de quitosano. Por ejemplo, modificaciones del grado de desacetilación, pH, tipo de disolvente o de los plastificantes. La mezcla con otros

componentes (proteínas o polisacáridos) puede mejorar las propiedades funcionales de las películas de quitosano (Elsabee & Abdou, 2013). Sin embargo, la alta sensibilidad del quitosano a la humedad limita la aplicación para el envasado de alimentos, ya que las películas de quitosano pueden seguir siendo sensibles al agua o incluso solubles en ella. Como alternativa, se ha propuesto la reticulación del quitosano con varios reactivos como la genipina, el glutaraldehído o el formaldehído para evitar la disolución y/o la hinchazón de las películas de quitosano en contacto con la humedad (Dutta et al., 2009).

### **1.3. Polímeros sintéticos biodegradables**

Los polímeros sintéticos biodegradables, como el alcohol polivinílico (PVOH), se han desarrollado principalmente para aplicaciones biomédicas como lentes de contacto, páncreas artificial, y hemodiálisis, así como para material de implantes médicos para reemplazar tejidos de cartílago y menisco (Baker et al., 2012). Debido a sus propiedades y a su compatibilidad con los materiales naturales, está creciendo la estrategia de combinar ambos materiales para mejorar las propiedades finales de los compuestos con respecto a los polímeros puros. Además, esta estrategia permite el desarrollo de nuevos materiales activos de envasado con propiedades que mejoran la calidad, la vida útil y la seguridad de los productos alimenticios.

#### **1.3.1. Alcohol polivinílico**

El PVOH es el plástico soluble en agua de mayor importancia comercial en uso. Es un polímero atractivo con muchas propiedades útiles, como baja toxicidad, biocompatibilidad, alta hidrofiliidad, buena estabilidad química y excelentes propiedades de formación de película. En múltiples estudios se ha evaluado el potencial de este material para combinarse con biopolímeros para mejorar principalmente las propiedades elásticas, ópticas y térmicas (Hajji et al., 2016).

El PVOH es un polímero sintético gomoso que se prepara por hidrólisis de acetato de polivinilo en solución alcohólica. El PVOH es soluble en agua, ligeramente soluble en etanol, pero insoluble en otros solventes orgánicos. Es insípido, inodoro, biodegradable y

biocompatible. Su solubilidad en agua facilita la combinación con varios polímeros de origen natural. En la industria alimentaria, el PVOH se utiliza como agente adhesivo y de recubrimiento, por ejemplo, para proteger los componentes activos y otros ingredientes del efecto del O<sub>2</sub> (Goodship & Jacobs, 2008; Tian et al., 2012).

El PVOH tiene estructura cristalina, esto es inusual ya que es un polímero lineal con grupos secundarios de alcohol en posiciones aleatorias. Esto se debe a que los grupos hidroxilo no interrumpen la estructura de la red cristalina, debido a su pequeño tamaño. Sin embargo, la presencia de grupos residuales de acetato disminuye en gran medida la formación de cristales. Por esta razón, las propiedades del PVOH dependen del grado de polimerización e hidrólisis (Goodship & Jacobs, 2008; Tian et al., 2012).

Las películas de PVOH tienen excelentes propiedades de barrera de O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>. Sin embargo, debido a su afinidad por el agua, las películas de PVOH muestran una alta permeabilidad al vapor de agua. Esta propiedad limita los productos alimenticios en los que se pueden aplicar las películas de PVOH (Goodship & Jacobs, 2008).

## **1.4. Propiedades de las películas**

Películas flexibles, transparentes, con estabilidad térmica, resistencia mecánica, biodegradables, con propiedades de barrera a diversos gases y propiedades de barrera a la radiación UV, entre otras, son demandadas para varias aplicaciones más allá del embalaje. Una estrategia viable para mejorar las propiedades de los biopolímeros es la combinación de diferentes polímeros biodegradables o la adición de otros componentes como plastificantes u otros compuestos activos. Entre las propiedades más estudiadas de los nuevos biopolímeros se encuentran las propiedades mecánicas, la permeabilidad al vapor de agua, las propiedades ópticas y las isothermas de adsorción de agua (Bedane, Xiao, et al., 2015).

### **1.4.1. Propiedades mecánicas**

El análisis de las propiedades mecánicas es importante para evaluar y predecir el comportamiento de los polímeros desarrollados cuando se encuentran sometidos a

tensiones externas, o conocer su capacidad para mantener su integridad durante la manipulación, el transporte y el almacenamiento (Hosseini et al., 2013). De esta manera, la medición de las propiedades mecánicas permite predecir cómo se comportará el material bajo diferentes condiciones de procesamiento de alimentos y compararlo con los polímeros comerciales. Entre las principales propiedades mecánicas estudiadas, la resistencia a la tensión (TS) y el porcentaje de elongación (%E) ayuda a predecir el comportamiento y la integridad del material durante su vida útil. Además, aunque no es habitual, también es importante analizar las propiedades mecánicas axiales, como la fuerza de punción (BS) y la deformación de la punción (DB), que permiten predecir la resistencia del material cuando se encuentra bajo presión externa de protuberancias (Campos et al., 2011; Leceta et al., 2013; Vieira et al., 2011).

Los valores de TS de las películas basadas en polisacáridos son similares a los valores de los polímeros sintéticos. Las diferencias más importantes se observan en los valores de %E, como se muestra en la Tabla 1. Los valores presentados en la Tabla 1 son indicativos, porque las propiedades mecánicas de las películas dependen de varias condiciones externas, como las condiciones de almacenamiento y de medición. Para fines comparativos, la Tabla 2 muestra los valores de TS y %E de algunos polímeros sintéticos.

El TS del acetato de celulosa oscila entre 41 y 87 MPa, y el módulo elástico entre 1.9 y 3.8 GPa (Paunonen, 2013). En las películas de metilcelulosa, el aumento de la concentración de metilcelulosa produjo la disminución de los valores de TS y %E, obteniendo valores de  $33 \pm 3$  y  $14 \pm 1\%$  con una concentración de metilcelulosa de 1.5%. Los valores fueron  $8 \pm 1$  y  $6 \pm 2\%$  usando una concentración de 6% de metilcelulosa. La disminución de las propiedades mecánicas al aumentar la concentración de metilcelulosa puede explicarse por su insolubilidad parcial a altas concentraciones. Por otro lado, la adición de un agente plastificante (PEG400) produjo la disminución de los valores de TS y el aumento de los valores de %E (Turhan & Şahbaz, 2004). En las películas de quitosano, las propiedades mecánicas se vieron afectadas por el grado de desacetilación, el disolvente empleado, el pH y el peso molecular del quitosano. Las películas de quitosano con ácido fórmico o láctico mostraron valores de TS menores en comparación con las películas preparadas con ácido acético o propiónico (Kim et al., 2006; Park, Marsh, & Rhim, 2002).

Los valores de TS disminuyeron significativamente cuando el pH aumentó. Las películas de quitosano con elevado grado de desacetilación fueron muy sensibles a los cambios de pH en comparación con las películas de quitosano de bajo grado de desacetilación. Además, el grado de disociación del quitosano disminuyó cuando aumentó el pH (Kim et al., 2006). El aumento del peso molecular del quitosano utilizado para producir películas provocó el aumento de los valores de TS y %E cuando se utilizó el ácido acético como disolvente.

Tabla 1. Propiedades de tensión y elongación hasta la rotura de varias películas de polisacáridos.

Composición	Resistencia a la tensión MPa	Porcentaje de elasticidad (%)	Referencia
Metilcelulosa y etanol con/sin polietilenglicol	25 - 33	29 - 14	(Turhan & Şahbaz, 2004)
Hidroxipropilmetilcelulosa con/sin nanopartículas de plata	51.0 - 28.3	-	(De Moura et al., 2012)
Quitosano	22.2 - 39.6	13 - 73.6	(Abugoch et al., 2011; Shen & Kamdem, 2015)
Quitosano de diferentes pesos moleculares y con diferentes solventes	6.7 - 150.2	4.1 - 117.8	(Park et al., 2002)
Quitosano con diferentes solventes y pH	0.56 - 19.2	22 - 494.8	(Kim et al., 2006)
Quinoa-quitosano	2.3 - 8.3	273 - 117.4	(Abugoch et al., 2011)
Almidón con glicerol and xilitol	5.06 - 44.3	2.4 - 70.7	(Muscat et al., 2012)
Almidón con/sin glicerol	30 - 68	3 - 5	(Sessini et al., 2016)
Goma tara con sorbitol y glicerol con/sin ácido oleico	26.8 - 57.4	8.5 - 2.7	(Ma et al., 2016)
Goma tara con glicerol y con/sin quitosano	58.44 - 22.71	44 - 46	(Antonioni et al., 2015)
Goma brea con glicerol y con/sin cera	1.64 - 7.58	8.22 - 4.85	(Spotti et al., 2016)
Pectina con/sin nanopartículas de quitosano	58.5 - 26.07	2.91 - 0.94	(Lorevice et al., 2016)
Alginato con sorbitol o glicerol	18.4 - 64.7	2.5 - 7.9	(Olivas & Barbosa-Cánovas, 2008)
Alginato de sodio	33.6 - 75.8	3.4 - 14.0	(Rhim, 2004)
Agar con/sin nanopartículas de plata	51.5 - 46.38	33.02 - 33.64	(Rhim, Wang, & Hong, 2013)
Quitosano con alcohol polivinílico	13.40 - 46.88	25.50 - 116	(Hajji et al., 2016)
Alcohol polivinílico	53.58	454	(Hajji et al., 2016)

Sin embargo, se observaron valores menores en las propiedades mecánicas cuando se utilizó ácido cítrico como disolvente (Chen, Zheng, Wang, Lee, & Park, 2002; Zivanovic, Chi, & Draughon, 2005). Los factores de acondicionamiento de las películas como la temperatura y la humedad relativa ejercieron una mayor influencia sobre los parámetros de TS y %E, mientras que el período de almacenamiento mostró una influencia moderada (Kerch & Korkhov, 2011).

*Tabla 2. Resistencia a la tensión y alargamiento hasta la rotura de varios polímeros sintéticos.*

<b>Película</b>	<b>Resistencia a la tensión (MPa)</b>	<b>Porcentaje de elasticidad (%)</b>	<b>Referencia</b>
Polietileno de alta densidad	29.3	859	(Su & Zhang, 2016)
Polipropileno	31 – 38	-	(Pérez-Gago & Rhim, 2013)
Polietileno de baja densidad	20	633	(AlMaadeed et al., 2014; Boldt et al., 2016)
Acetato de celulosa	1.43	-	(Goetz et al., 2016)

Las películas de quitosano tienen valores de %E significativamente más altos en comparación con las películas elaboradas con otros biopolímeros como el gluten de trigo, la proteína de maíz y el aislado de proteína de soja (Cunningham et al., 2000).

La adición de proteína a la matriz de quitosano ha significado una disminución de los valores de TS y un aumento de los valores de %E. Por ejemplo, la adición de proteína de quinoa disminuyó los valores de TS de 22.2 a 2.3 MPa y aumentó el %E de 73.6 a 237%, en comparación con las películas control sin quinoa (Abugoch et al., 2011). En el caso de películas de quitosano con almidón, no se observaron diferencias significativas en las propiedades mecánicas de las películas de quitosano con la adición de almidón, obteniendo valores de TS de 9.27 y 10.61 MPa para el almidón de patata y el de mandioca, respectivamente (Santacruz et al., 2015).

En las películas de hidroxipropilmetilcelulosa con celulosa microcristalina como agente de relleno, el TS de la película de control preparada con una solución de hidroxipropilmetilcelulosa al 3% (p/p) aumentó de  $29.7 \pm 1.6$  a  $70.1 \pm 7.9$  MPa con la adición de partículas de celulosa microcristalina de 500 nm. Mientras que solo se observó un aumento hasta  $37.4 \pm 5.5$  MPa con la adición de partículas de un tamaño de 3  $\mu\text{m}$  (Dogan & McHugh, 2007).

En trabajos anteriores se ha observado que la combinación de quitosano y PVOH puede tener efectos beneficiosos en las propiedades fisicoquímicas de las películas resultantes (Costa-Júnior et al., 2009). Los resultados sugirieron que las interacciones entre el quitosano y PVOH pueden mejorar las propiedades de resistencia mecánica del quitosano puro, alcanzando valores de hasta 46.88 MPa y 116% de elongación en las películas de quitosano con un 70% de PVOH (Hajji et al., 2016).

En cuanto a las películas a base de PVOH, se han desarrollado películas con propiedades de barrera contra la radiación UV y propiedades mecánicas mejoradas añadiendo bio-aceite y glicerol. El máximo valor de %E alcanzado en presencia de bio-aceite y glicerol fue de 470.56%, con un valor de TS de 33.90 MPa (Morales et al., 2019). La adición de nanopartículas de celulosa con un tamaño entre 5.9 y 10.9 nm se utilizó para aumentar el %E de las películas de PVOH, alcanzando valores de hasta el 100% (Ibrahim et al., 2010).

Por otra parte, la prueba de punción determina la resistencia de la película a la penetración de una sonda cilíndrica a velocidad constante (fuerza de punción, N/mm) y la distancia recorrida o elasticidad de punción hasta el punto de rotura (deformación de la punción, mm) (Spotti et al., 2016). En la literatura no se encuentran muchos datos de la prueba de perforaciones de películas a base de hidrocoloides. Sin embargo, es importante conocer estos valores para predecir la resistencia de las películas a las protuberancias de los productos alimenticios o envases. Las películas a base de metilcelulosa con aceite vegetal y glicerol mostraron valores de resistencia a la punción y deformación por punción de 147 N/mm y 3.46 mm, respectivamente. Nanopartículas de celulosa se añadieron para mejorar los valores de resistencia a la punción (Khan et al., 2010). Películas obtenidas a

partir de una mezcla de gelatina y PVOH mostraron valores de fuerzas de punción que oscilaban entre 9.2 y 25.9 N y la deformación por punción osciló entre el 2.2 y el 18.0% (Carvalho et al., 2009). Las películas puras de carboximetilcelulosa y PVOH mostraron valores iniciales de fuerza de punción de 0.9 y 1.5 N, respectivamente. La fuerza de punción de las películas compuestas fue mayor en el rango de 1.1 - 3.9 N, como resultado de las interacciones carboximetilcelulosa-PVOH (Muppalla et al., 2014). Se notificaron valores de fuerza de punción de 520.69 N/mm y deformación por punción de 1.20 mm en películas obtenidas de una solución de quitosano de bajo peso molecular al 1% p/p (~150 kDa) en ácido acético al 1% v/v, previamente acondicionada a 25°C y 20% de humedad relativa (Li, Zivanovic, Davidson, & Kit, 2010). Películas de quitosano puro elaboradas a partir de un quitosano de 2.5% (p/p) disuelto en ácido acético de 1.25% (p/p) mostró valores de fuerza de punción en el rango de 8.87-10.23 N y la deformación osciló entre 1.82 y 3.66 mm (Bof et al., 2015).

#### **1.4.2. Permeabilidad del vapor de agua**

La eficacia de barrera al vapor de agua de las películas es importante para retardar la deshidratación de los productos frescos, o la pérdida de textura crujiente en los productos secos cuando se utiliza el material de envasado para evitar la adsorción de humedad. Se sabe que las películas biodegradables basadas en polisacáridos son una barrera eficaz para la transferencia de gases como el O<sub>2</sub> y el CO<sub>2</sub> (Bertuzzi et al., 2007), aunque estos materiales son generalmente muy hidrófilos, lo que da lugar a pobres propiedades de barrera al vapor de agua. La permeabilidad a otros gases como el O<sub>2</sub> también es importante porque permite controlar la maduración de las frutas o reducir la oxidación de algunos componentes de los alimentos como las grasas poliinsaturadas. Además, las propiedades de barrera a gases de las películas basadas en polisacáridos son importantes para retardar la pérdida de vapores orgánicos, como los compuestos aromáticos, durante el almacenamiento o para evitar la penetración de disolventes en los alimentos, lo que podría dar lugar a toxicidad o pérdida de calidad (Dutta et al., 2009; Vieira et al., 2011).

Aunque algunos polisacáridos tienen escasas propiedades de barrera al vapor de agua, como el alginato y la carragenina, estos materiales pueden aplicarse como películas

relativamente gruesas en la superficie de los alimentos para adsorber agua, proporcionando protección temporal para una mayor pérdida de humedad de los alimentos. De esta manera, el producto no pierde mucha humedad mientras el revestimiento se deshidrata (Bourtoom, 2008; Embuscado & Kerry, 2009).

Los polisacáridos forman una red responsable de las buenas propiedades mecánicas, pero tiene una pobre barrera para la transferencia de vapor de agua. La adición de lípidos permite obtener excelentes propiedades de barrera al vapor de agua, pero las películas obtenidas suelen ser opacas, inestables, quebradizas y tienen un sabor ceroso (Rubilar et al., 2015).

Por lo general, las películas basadas en polisacáridos tienen valores más altos de permeabilidad al vapor de agua (WVP) que los materiales sintéticos comerciales. A efectos comparativos, la Tabla 3 muestra la permeabilidad al vapor de agua de algunas películas a base de polisacáridos. Los datos varían según las condiciones de medición, los métodos de obtención de las películas y demás factores externos. La Tabla 4 muestra los valores de permeabilidad al vapor de agua de varios polímeros sintéticos con fines comparativos (Gennadios et al., 1994).

Las películas biodegradables basadas en derivados de la celulosa son barreras muy eficientes para el oxígeno y los compuestos aromáticos. Entre los derivados de la celulosa, la metilcelulosa es uno de los más estudiados (Turhan & Şahbaz, 2004). Los estudios sobre el efecto de la concentración de metilcelulosa sobre las propiedades de barrera de vapor de agua no informaron de ninguna variación significativa en el WVP, obteniendo valores de  $0.525 \cdot 10^{-10}$  a  $0.598 \cdot 10^{-10}$  (g/s·m·Pa) para concentraciones que oscilan entre el 1.5 y el 6%, y películas con un grosor que variaba entre 0.01 y 0.024 mm. Estos valores podrían explicarse por la característica hidrófila de las películas como resultado de la presencia de grupos hidroxilo en la cadena del polímero. Además, cuando se utilizó el etanol como disolvente, los valores de WVP aumentaron considerablemente al aumentar la concentración de etanol. Se observó el mismo comportamiento con la adición de plastificantes a la matriz del polímero, lo que dio lugar a un aumento de la WVP (Turhan & Şahbaz, 2004).

En las películas a base de quitosano, los valores de WVP se vieron considerablemente afectados por el grado de desacetilación del quitosano, el pH de los disolventes y el tipo de ácido (Kim et al., 2006). En el rango de pH 3 - 4, los valores de WVP aumentaron con el pH.

Tabla 3. La permeabilidad al vapor de agua (WVP) de varias películas de polisacáridos.

Composición de la película	WVP (g/m s Pa)	Referencia
Derivados de celulosa (metilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa) con polietilenglicol y ácido esteárico/palmítico con una capa superficial de cera	$6.61 \cdot 10^{-13}$ - $1.63 \cdot 10^{-11}$	(Kester & Fennema, 1989)
Metilcelulosa con etanol	$0.51 \cdot 10^{-10}$ - $1.08 \cdot 10^{-10}$	(Turhan & Şahbaz, 2004)
Metilcelulosa con/sin nanocelulosa	$5.44 \cdot 10^{-11}$ - $7.29 \cdot 10^{-11}$	(Khan et al., 2010)
Hidroxipropilmetilcelulosa con/sin nanopartículas de plata	$1.54 \cdot 10^{-10}$ - $2.22 \cdot 10^{-10}$	(De Moura et al., 2012)
Agar con/sin nanopartículas de plata	$1.67 \cdot 10^{-9}$ - $1.97 \cdot 10^{-9}$	(Rhim et al., 2013)
Quitosano	$1.05 \cdot 10^{-10}$	(Abugoch et al., 2011)
Mezclas de quitosano y almidón	$1.18 \cdot 10^{-10}$ - $1.55 \cdot 10^{-10}$	(Santacruz et al., 2015)
Quitosano con diferente peso molecular y solventes	$0.32 \cdot 10^{-9}$ - $0.51 \cdot 10^{-9}$	(Park et al., 2002)
Quitosano con diferentes solventes y pH	$1.77 \cdot 10^{-9}$ - $2.26 \cdot 10^{-8}$	(Kim et al., 2006)
Mezcla de quitosano y almidón de tapioca	$2.8 \cdot 10^{-10}$ - $6.7 \cdot 10^{-10}$	(Vásconez et al., 2009)
Almidón de tapioca	$12.1 \cdot 10^{-10}$	(Vásconez et al., 2009)
Almidón de mandioca con glicerol	$1.8 \cdot 10^{-10}$ - $2.8 \cdot 10^{-10}$	(Seligra et al., 2016)
Goma Tara con sorbitol and glicerol	$0.52 \cdot 10^{-10}$ - $0.69 \cdot 10^{-10}$	(Ma et al., 2016)
Goma Tara con glicerol y con/sin quitosano	$9.91 \cdot 10^{-11}$ - $1.28 \cdot 10^{-10}$	(Antonioni et al., 2015)
Goma Brean con glicerol y cera	$2.5 \cdot 10^{-11}$ - $4.75 \cdot 10^{-11}$	(Spotti et al., 2016)
Almidón con glicerol y xilitol	$1.94 \cdot 10^{-11}$ - $1.77 \cdot 10^{-10}$	(Muscat et al., 2012)
Alginato con/sin polietilenglicol	$6.5 \cdot 10^{-10}$ - $0.93 \cdot 10^{-9}$	(Olivas & Barbosa-Cánovas, 2008)
Agar con/sin nanopartículas de plata	$1.67 \cdot 10^{-9}$ - $1.97 \cdot 10^{-9}$	(Rhim et al., 2013)
Mezcla de quinoa y quitosano	$2.61 \cdot 10^{-10}$	(Abugoch et al., 2011)

En cuanto al efecto de los disolventes, los valores de WVP de las películas a base de quitosano obtenidas con ácido fórmico o láctico como disolventes fueron de  $3.04 \cdot 10^{-5}$  o  $2.34 \cdot 10^{-5}$  g/m·h·Pa, respectivamente. Estos valores fueron significativamente más elevados que los obtenidos en películas a base de quitosano que utilizan ácido acético o propiónico como disolventes. La adición de almidón al quitosano produjo una disminución de los valores de WVP (Santacruz et al., 2015). En cuanto al efecto del grado de desacetilación, las películas a base de quitosano de bajo grado de desacetilación mostraron valores de WVP menores en comparación con las películas con base de quitosano de elevado grado de desacetilación (Kim et al., 2006). En cuanto al peso molecular del quitosano, no se observó un efecto significativo en los valores de WVP, pero sí en las propiedades mecánicas (Kerch & Korkhov, 2011; Park et al., 2002).

Tabla 4. Permeabilidad al vapor de agua (WVP) de varios polímeros sintéticos. Modificado de (Gennadios, Weller, & Gooding, 1994).

<b>Película</b>	<b>WVP (g/m·s·Pa)</b>
Cloruro de polivinilideno	$0.7 \cdot 10^{-13}$ - $2.4 \cdot 10^{-13}$
Polietileno de alta densidad	$2.4 \cdot 10^{-13}$
Polipropileno	$4.9 \cdot 10^{-13}$
Polietileno de baja densidad	$7.3 \cdot 10^{-13}$ - $9.7 \cdot 10^{-13}$
Etileno acetato de vinilo	$2.4 \cdot 10^{-12}$ - $4.9 \cdot 10^{-12}$
Poliéster	$1.2 \cdot 10^{-12}$ - $1.5 \cdot 10^{-12}$
Acetato de celulosa	$0.5 \cdot 10^{-11}$ - $1.6 \cdot 10^{-11}$

Por otra parte, se han evaluado los cambios en la estructura y propiedades de la película cuando se añaden otros componentes a la matriz de quitosano. Se ha reportado un aumento de los valores de WVP en las películas de quitosano que contienen proteínas (gelatina de pescado, proteína de quinoa, proteína de suero). Los resultados mostraron que las películas de proteína-quitosano obtenidas eran más hidrofílicas que las películas de quitosano puro (Abugoch et al., 2011; Hosseini et al., 2013).

Se ha evaluado la adición de lípidos para disminuir los valores de WVP (Zivanovic et al., 2005). Al combinar la metilcelulosa y la hidroxipropilmetilcelulosa con ácidos grasos esteárico/palmítico y cera se obtuvieron valores bajos de WVP ( $6.61 \cdot 10^{-13}$  g/s·m·Pa) (Kester & Fennema, 1989), en el mismo orden de magnitud que los valores de permeabilidad de los polímeros sintéticos. Estas películas laminadas con cera mostraron

potenciales aplicaciones sobre productos alimentarios en las que ocurra una migración de humedad no deseable (Kester & Fennema, 1989). Otros ejemplos son la adición de aceite esencial de citronela y de madera de cedro a la matriz de quitosano (Shen & Kamdem, 2015).

Recientemente, ha surgido un nuevo enfoque en la aplicación de nanopartículas para mejorar las propiedades de barrera de las películas, como por ejemplo la adición de nanopartículas de arcilla en películas a base de polisacáridos (Chivrac et al., 2009). Por otro lado, los polisacáridos se han utilizado como materia prima para preparar rellenos en forma de nanopartículas. Los polisacáridos más comunes utilizados para la producción de nanopartículas en películas biodegradables son la celulosa, el almidón y el quitosano (Mondal, 2017; Wahyuningsih et al., 2016). Las nanopartículas de quitosano pueden producirse a partir de la gelificación iónica como resultado de la reticulación inter- e intramolecular de los grupos de amino protonados del quitosano por polianiones multivalentes. El tripolifosfato de sodio (TPP) es un polianión muy popular porque no es tóxico y forma geles con propiedades deseables. Las nanopartículas de quitosano se han utilizado con éxito como relleno para mejorar las propiedades mecánicas y de barrera, así como la termoestabilidad de las películas, para disminuir la solubilidad y producir materiales más compactos y densos (Antonίου et al., 2015).

También se ha estudiado el efecto de las nanopartículas de celulosa y sus derivados en matrices poliméricas para modificar las propiedades de barrera, por ejemplo películas de hidroxipropilmetilcelulosa con celulosa microcristalina (Dogan & McHugh, 2007), metilcelulosa con nanocelulosa (Khan et al., 2010), películas de goma tara con nanocristales de celulosa (Ma et al., 2016), películas de nanocompuestos de gelatina que contienen nanocristales de celulosa bacteriana (George & Siddaramaiah, 2012). En estos casos, los resultados mostraron un cambio no significativo en los valores de WVP con la adición de estos rellenos. Otros materiales estudiados son el hidroxipropilmetilcelulosa con nanopartículas de plata (De Moura et al., 2012), quitosano con nanopartículas de plata, quitosano con nanopartículas de óxido de zinc (Youssef et al., 2015) y quitosano con nanocompuesto encapsulado de óxido de plata (Tripathi et al., 2011).

En cuanto al PVOH, se ha evaluado el efecto de relleno de nanocristales de celulosa en la matriz de PVOH, utilizando poli-ácido acrílico como agente reticulante para mejorar las propiedades de barrera al agua del PVOH (Paralihar et al., 2008).

### **1.4.3. Propiedades ópticas**

El desarrollo de películas con buenas propiedades de barrera en el rango de la luz UV (200-280 nm) permite obtener películas que protejan los alimentos de oxidaciones lipídicas, de vitaminas, degradación de proteínas o pérdida de color debido a las reacciones UV, que afectan a las propiedades organolépticas y de calidad de los alimentos, disminuyendo su vida útil (Guo et al., 2014). Además, un parámetro importante de las propiedades ópticas es la transparencia, que tiene un impacto directo sobre la aceptación del producto por parte del consumidor. Los consumidores prefieren envases transparentes que les permitan ver el contenido y observar la calidad del producto (Vilela et al., 2017). Por lo tanto, es importante formular películas que actúen como buenas barreras protectoras contra la radiación UV, manteniendo al mismo tiempo una transparencia adecuada.

Los espectros UV-visibles de las películas de quitosano puro y PVOH muestran una transmitancia del 88-93% en el rango visible (400-700 nm), siendo películas con propiedades de transparencia óptimas (Hajji et al., 2016; Vilela et al., 2017). Además, las películas a base de quitosano exhiben valores de transmitancia bajos en la región UV, debido a una notable absorción de este tipo de radiación por parte de las cadenas de quitosano. La capacidad de absorción de la radiación observada en la banda comprendida entre 270 - 280 nm se debe a los enlaces C – O presentes en estos materiales (Hajji et al., 2016; Vilela et al., 2017). Las propiedades de barrera a la radiación UV de las películas a base de PVOH se mejoraron mediante la adición de bio-aceite en la matriz de PVOH (Morales et al., 2019). Es necesario tener en cuenta estas propiedades en las posibles combinaciones que se realicen con quitosano y otros polímeros u componentes para desarrollar nuevos polímeros con propiedades ópticas adecuadas.

#### **1.4.4. Las isotermas de adsorción de humedad**

El agua es un componente importante de casi todos los materiales alimentarios, desempeñando un papel decisivo en las propiedades físicas, de calidad, degradación microbiana, química y bioquímica de materiales alimentarios (Figura & Teixeira, 2007). En el caso de las películas comestibles biodegradables, el agua es un importante plastificante que tiene la capacidad de aumentar el volumen libre y la flexibilidad de la matriz polimérica. El agua como plastificante, además de tener efectos sobre las propiedades mecánicas, puede modificar otras propiedades como la permeabilidad al vapor de agua y las propiedades ópticas (Sothornvit & Krochta, 2005). Por lo tanto, es importante evaluar la interacción y la afinidad de los materiales con el agua. La forma en que las moléculas de agua interactúan con la estructura interna de los alimentos o películas a partir de hidrocoloides, el grado de disponibilidad para actuar como disolvente, evaporar o congelar, o el grado en que está químicamente ligada e indisponible puede reflejarse en la actividad del agua ( $a_w$ ) del material alimentario. Es posible correlacionar la  $a_w$  de un material hidrofílico con la humedad relativa de equilibrio ( $RH_{eq}$ ) del ambiente en el que se encuentra almacenado el material. Cuando la muestra de material alcanza el equilibrio con la atmósfera que la rodea, la  $a_w$  de la muestra de material se equilibra con la  $RH_{eq}$  de la atmósfera que la rodea (Figura & Teixeira, 2007). A través de las isotermas de adsorción de agua es posible conocer la relación entre el contenido de agua y la  $a_w$  analizada a temperatura constante (Lewicki, 1997).

El modelo de adsorción multicapa desarrollado por Brunauer, Emmett y Teller (modelo BET) ha tenido gran aplicación para describir la adsorción de agua por los alimentos y los productos alimenticios, a pesar de las limitaciones que presenta el modelo, con  $a_w$  hasta 0,4. El modelo BET tiene dos constantes, el contenido de humedad en la monocapa ( $X_m$ ) y la constante de energía ( $C$ ) (Lewicki, 1997; Timmermann et al., 2001). El modelo BET es una herramienta muy útil para estimar el contenido de humedad en la monocapa, en el límite de la superficie de los materiales (Figura & Teixeira, 2007). Posteriormente, se desarrolló la ecuación de Guggenheim, Anderson y de Boer (modelo GAB), que ha sido ampliamente utilizada para describir el comportamiento de adsorción o desorción de vapor de agua en los alimentos. La ecuación de GAB permite representar

adecuadamente los datos experimentales en un amplio rango de  $a_w$ , hasta valores de 0.9 (Lewicki, 1997; Timmermann et al., 2001). El modelo matemático de GAB ha sido recomendado por el Grupo del Proyecto Europeo COST 90 sobre Propiedades Físicas de los Alimentos como la ecuación fundamental para la caracterización de la adsorción de agua de los alimentos (Wolf et al., 1985). En el modelo GAB, además del contenido de humedad en la monocapa, hay dos parámetros más. El parámetro “C” es una constante que se relaciona con la fuerza de los enlaces de agua en los sitios de adsorción primarios, y “K” se relaciona con el calor de adsorción en la multicapa (Bedane et al., 2015). Por lo tanto, el modelo GAB introduce una segunda etapa de adsorción para las moléculas de agua. Esta suposición introduce un grado de libertad adicional (una constante adicional, “K”) por la cual el modelo GAB tiene mayor versatilidad (Timmermann et al., 2001). La mayoría de las isotermas de adsorción de agua de alimentos tienen una forma sigmoideal, con tres regiones diferenciadas. A bajas actividades de agua, se produce una adsorción física localizada, a la que sigue una adsorción multicapa al ir aumentando el valor actividad de agua. A mayores actividades de agua, la pendiente de la isoterma experimenta un drástico aumento debido a la condensación capilar de las moléculas de agua (Lewicki, 1997).

Debido al efecto del contenido de humedad sobre las propiedades de los materiales hidrófilos, los trabajos de investigación previos han estudiado la relación entre el contenido de humedad del material y la  $a_w$ . El comportamiento de la absorción de agua se ha analizado para diferentes películas a base de celulosa microfibrilada (Meriçer et al., 2017), diferentes gomas y maltodextrina (Pérez-Alonso et al., 2006), quitosano carboximetílico de diferentes fuentes de quitosano (Tantala et al., 2019), celulosa microcristalina (Zografí et al., 1984), mezclas de quitosano con hidroxipropilcelulosa, óxido de polietileno, PVOH y almidón (Ludwiczak & Mucha, 2010), entre otros.

## **1.5. Aplicación**

Se han aplicado películas comestibles de polisacáridos o mezcla de polisacáridos con varios compuestos, incluidos otros polisacáridos, proteínas, lípidos y aditivos, para prolongar la vida útil y preservar la calidad de los alimentos. Las películas y los

recubrimientos pueden obtenerse a partir de la misma formulación, la principal diferencia radica en que los recubrimientos se obtienen aplicando en forma líquida la disolución polimérica sobre el alimento. En caso de las películas, primero se obtiene la lámina a partir de la disolución polimérica y luego se aplica sobre el alimento (Galus & Kadzińska, 2015). El desarrollo de las películas de polisacáridos conllevó al aumento del número de aplicaciones para este tipo de componentes y del número de productos que pueden tratarse para prolongar su vida útil. Las películas de polisacáridos tienen en general buenas propiedades de barrera a gases y también tienen buena adherencia sobre las superficies cortadas de frutas o verduras. Sin embargo, su naturaleza hidrófila hacen que tengan pobres propiedades de barrera al vapor de agua (Baldwin et al., 1995; Falguera et al., 2011). Las propiedades de permeabilidad a los gases podrían dar lugar a condiciones atmosféricas modificadas deseables que aumenten la vida útil del producto sin crear condiciones anaeróbicas, a diferencia de las películas a base de lípidos, que podrían promover las condiciones anaeróbicas (Cutter, 2006). Por ejemplo, películas a base de celulosa se han utilizado como portadora de antioxidantes, acidulantes y conservantes para prolongar la vida de almacenamiento de la manzana y patatas cortadas durante una semana a 4°C (Baldwin et al., 1995).

Películas a base de quitosano se han estudiado para proteger melocotones de la podredumbre parda al disminuir la incidencia, prolongar el período de incubación y reducir el área de la podredumbre durante la postcosecha (Li & Yu, 2001). También se han utilizado recubrimientos de quitosano para aumentar el tiempo de conservación del fruto del litchi pelado, que tiene una vida útil corta. Los resultados demostraron que la aplicación de recubrimientos de quitosano mantenía eficazmente los atributos de calidad y prolongaba la vida útil de la fruta pelada. Los recubrimientos de quitosano retrasaron la pérdida de peso y la disminución de la calidad sensorial, manteniendo un mayor contenido de sólidos solubles totales, ácido titulable y ácido ascórbico; así mismo, suprimieron la actividad de la polifenol oxidasa y la peroxidasa (Dong et al., 2004).

También se utilizaron recubrimientos comestibles de quitosano para tratar la pulpa de mango, que tiene una vida útil corta. El mango cortado se trató con diferentes concentraciones de soluciones acuosas de quitosano (0, 0.5, 1 o 2 % de quitosano), se

colocó en bandejas de plástico y se envolvió con una película sintética comercial y se almacenó a 6°C. Los resultados mostraron que el quitosano retrasaba la pérdida de agua y la disminución de la calidad sensorial, aumentando el contenido de sólidos solubles, la acidez valorable y el contenido de ácido ascórbico. Además, se observó una inhibición del crecimiento de microorganismos, por lo que se concluyó que la aplicación de una capa de quitosano prolonga efectivamente los atributos de calidad y prolonga la vida útil de los frutos de mango cortados en rodajas (Chien et al., 2007). También se evaluó la conservación de mangos usando películas de quitosano, los frutos se guardaban en una caja cubierta con una película de quitosano y utilizando película de polietileno de baja densidad como control positivo. Se estudiaron varios parámetros de calidad, como el color, la clorofila, la acidez, la vitamina C, el contenido de carotenoides y el contenido de azúcar, durante el almacenamiento de 9 días. Los resultados mostraron la viabilidad de utilizar películas de quitosano para mejorar la calidad del almacenamiento y prolongar la vida útil de frutas como el mango (Srinivasa, Baskaran, Ramesh, Harish Prashanth, & Tharanathan, 2002).

También se estudió el efecto del quitosano como recubrimiento antimicrobiano en el brócoli refrigerado. Se evaluó el efecto antimicrobiano del quitosano en la microflora nativa y en *Escherichia coli* O157:H7 inoculada en el brócoli. Los tratamientos con quitosano dieron lugar a una reducción significativa de los recuentos totales de bacterias mesófilas y psicotróficas con respecto a las muestras de control durante todo el período de almacenamiento. Hubo una actividad de descontaminación inmediata del quitosano. Este trabajo demostró que el uso de la capa de quitosano es una alternativa viable para controlar la microbiota presente en productos alimenticios mínimamente procesados como el brócoli (Moreira et al., 2011).

## **2. Estructura**

## **2.1. Justificación**

La celulosa constituye el recurso polimérico renovable más abundante de la naturaleza. Las propiedades de la celulosa, entre ellas su bajo costo, no toxicidad, biocompatibilidad, estabilidad química y ser una materia prima biodegradable proveniente de fuentes renovables, convierten a la celulosa en un potencial material para el desarrollo de nuevos biopolímeros funcionales con posibles aplicaciones en la industria alimentaria y una alternativa parcial a los polímeros sintéticos. Sin embargo, la celulosa presenta algunos inconvenientes como poca elasticidad o suficiente resistencia que limitan sus aplicaciones. Una estrategia viable para mejorar las propiedades de los biopolímeros es la combinación de diferentes polímeros biodegradables o la adición de otros componentes como plastificantes o compuestos activos que permitan obtener materiales compuestos con propiedades mejoradas con respecto a los materiales de origen. Debido a las diferencias a nivel estructural de la celulosa regenerada de origen vegetal y la celulosa bacteriana, con respecto a la conformación de las cadenas de celulosa para formar la matriz, hacen que ambos materiales, a pesar de tener la misma estructura química, tengan propiedades diferentes como porosidad, superficie de contacto o resistencia mecánica. La conformación de las cadenas de celulosa y su interacción con los agentes de refuerzo o plastificantes tendrá un efecto diferente en función del origen de la celulosa, siendo necesario la evaluación de ambos tipos de celulosa. Por otro lado, las propiedades de barrera a la radiación ultravioleta que presenta la celulosa y la presencia de quitosano, que posee propiedades antimicrobianas ampliamente estudiadas, permitirán el desarrollo de películas con posibles aplicaciones como envase activo biodegradable. El alcohol polivinílico mejorará el aspecto visual de las películas gracias a sus propiedades ópticas.

## **2.2. Objetivos del proyecto**

### **2.2.1. Objetivo general**

Desarrollar y caracterizar películas biodegradables a base de celulosa vegetal y microbiana, con propiedades mejoradas por la combinación con alcohol polivinílico y quitosano.

### **2.2.2. Objetivos específicos**

- Evaluar el efecto del alcohol polivinílico y el quitosano sobre las propiedades funcionales y la estructura de las películas a base de celulosa regenerada de origen vegetal.
- Analizar el efecto del contenido de humedad sobre las propiedades mecánicas, de permeabilidad y ópticas de las películas desarrolladas a base de celulosa regenerada - alcohol polivinílico - quitosano.
- Evaluar el efecto del alcohol polivinílico y el quitosano sobre las propiedades funcionales y la estructura de las películas a base de celulosa bacteriana.
- Analizar el efecto del contenido de humedad sobre las propiedades mecánicas, de permeabilidad y ópticas de las películas desarrolladas a base de celulosa bacteriana - alcohol polivinílico - quitosano.

### **2.3. Hipótesis**

Es posible desarrollar nuevas películas biodegradables basadas en celulosa vegetal y microbiana con aplicaciones potenciales en la industria alimentaria. La mezcla de quitosano y alcohol polivinílico como agente de refuerzo de las películas de celulosa mejorará las propiedades de las películas compuestas.

### **3. Materiales y métodos**

### **3.1. Materiales**

La celulosa microcristalina extra pura, con tamaño medio de partículas de 90  $\mu\text{m}$ , urea (99,5%), hidróxido sódico (98%), bromuro de sodio anhídrido extra puro (99%), ácido acético (99,5%) y monohidrato de D(+)-glucosa (99% extra puro) se adquirieron de “Acros Organics” (Geel, Bélgica). El alcohol polivinílico con grado de hidrólisis  $\geq 98$  y peso molecular ( $M_w$ ) aprox. 30000 se obtuvo de “Merck KGaA” (Darmstadt, Alemania). El quitosano ( $M_w$  100000-300000) se obtuvo de “Acros Organics” (Geel, Bélgica). La sílica gel de 2.5-6 mm, carbonato de potasio extra puro, cloruro de litio extra puro, cloruro de bario dihidratado extra puro, sulfato de potasio extra puro, acetato de potasio, cloruro de sodio con grado de reactivo y el extracto de levadura fueron suministrados por “Scharlau Microbiology” (Barcelona, España). *Komagateibacter xylinus* fue facilitado por la "Colección Española de Cultivos Tipo" (CECT, Valencia, España).

### **3.2. Elaboración de las películas a base de celulosa regenerada combinadas con alcohol polivinílico y quitosano**

El método de disolución NaOH/urea se usó para disolver la celulosa microcristalina y las películas de celulosa pura se elaboraron siguiendo el método previamente publicado (Zhang et al., 2005) con algunas modificaciones. La Figura 4 muestra el diagrama de flujo del proceso. Se utilizó como disolvente la solución acuosa NaOH/urea/ $\text{H}_2\text{O}$  en una proporción de 7:14:79 (p/p). La cantidad de celulosa determinada en función de la concentración final deseada se dispersó en la mezcla NaOH/urea a temperatura ambiente. La suspensión se mantuvo en agitación vigorosa durante 1 h para hidratar la celulosa microcristalina. A continuación, la suspensión de celulosa se congeló a  $-20^\circ\text{C}$  durante 24 h. Transcurrido este tiempo, la mezcla se descongeló a temperatura ambiente manteniendo agitación vigorosa durante 1 h, obteniendo una solución transparente de celulosa (Figura 5).

Una vez obtenida la solución transparente, se vertió sobre una placa Petri hasta alcanzar una capa de 0.5 mm de espesor. La placa Petri con la solución de celulosa se

sumergió en un baño coagulante con ácido acético al 4% (v/v) para regenerarse por precipitación de la celulosa. Las películas de celulosa regenerada se lavaron con agua destilada hasta que el agua de lavado tuviese pH 7.

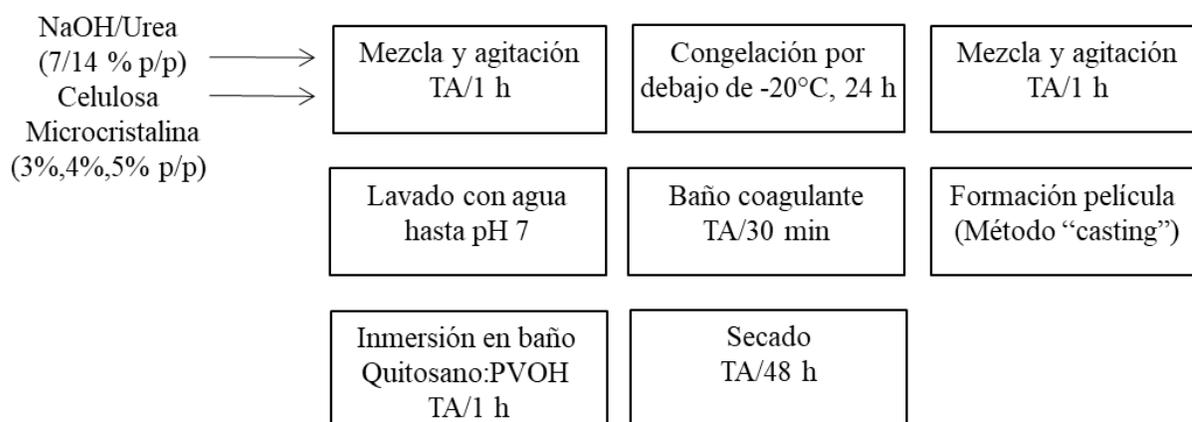
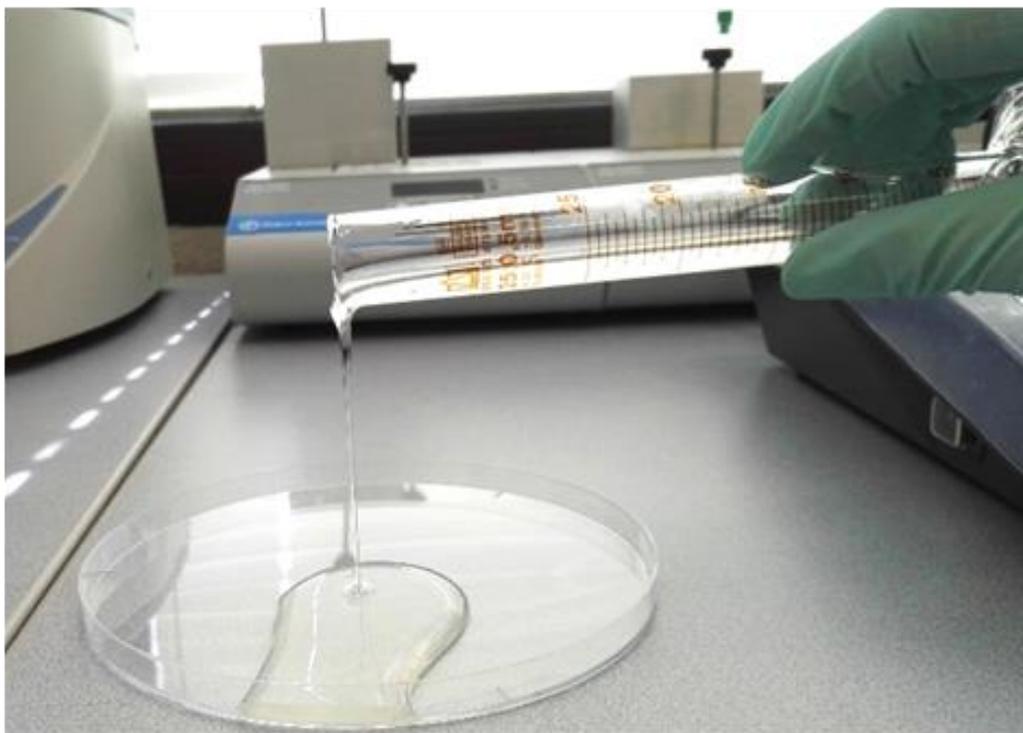


Figura 4. Esquema proceso de obtención de películas a base de celulosa regenerada con quitosano y alcohol polivinílico (PVOH). TA: temperatura ambiente.

Las películas de celulosa regenerada (CR) se sumergieron en un baño con concentraciones definidas de quitosano y PVOH durante 1 h. La solución de quitosano se preparó a partir de una solución acuosa de ácido acético al 1% (v/v) a temperatura ambiente con una agitación vigorosa. La solución de PVOH se preparó a partir de una solución acuosa calentada a 90°C con una agitación vigorosa durante 2 h. Finalmente, las películas de celulosa regenerada con quitosano y PVOH se secaron a temperatura ambiente durante 2 días. Las películas secas se despegaron de la placa Petri y se cortaron con un tamaño específico en función de cada prueba. Las muestras se almacenaron en desecadores durante 5 días al 57% o 0% HR según el requerimiento de las pruebas a realizarles.



*Figura 5. Solución transparente de celulosa microcristalina en NaOH/Urea sobre una placa Petri para obtener películas de celulosa regenerada.*

### **3.3. Elaboración de películas a base de celulosa bacteriana combinadas con alcohol polivinílico y quitosano**

Las películas a base de celulosa bacteriana (CB) se obtuvieron por fermentación de la bacteria *K. xylinus* en un medio rico en glucosa. El medio de cultivo inicial se preparó a partir de un 10% (p/p) de glucosa y un 1% (p/p) de extracto de levadura y se esterilizó a 121°C durante 15 min. Se preparó un precultivo transfiriendo 5 mL de un cultivo de cepa a 300 mL de medio en una placa Petri y se incubó estáticamente a 30°C durante 48 horas. Luego, se prepararon placas Petri con 75 ml de medio de cultivo y se inocularon 5 mL del precultivo previamente inoculado. Las placas Petri fueron almacenadas a 30°C durante 8 días. Transcurrido este tiempo, se formó una película homogénea de celulosa suspendida entre la interfaz aire-líquido. Se retiraron las películas de celulosa pura y se trataron con

1% (p/v) de NaOH a 90°C durante 1 h para eliminar las células bacterianas. A continuación, se lavaron con agua destilada hasta alcanzar pH 7. Finalmente, las películas de CB se secaron a temperatura ambiente durante 48 h. El proceso de preparación se muestra en la Figura 6. Las películas bacterianas resultantes se colocaron entre dos hojas de papel de filtro para eliminar el exceso de agua. Luego, se sumergieron en un baño de la mezcla quitosano-PVOH.

Finalmente, las películas de CB-PVOH-quitosano se secaron en una placa de Petri a temperatura ambiente durante 2 días. Las películas secas fueron cortadas a tamaños específicos para cada prueba. Las muestras se almacenaron en desecadores con sal saturada de bromuro de sodio o sílice gel durante 5 días, según se requiriera para cada prueba a realizarle.

### **3.4. Medición del espesor de la película**

El espesor (mm) fue medido en 5 puntos de cada película usando un medidor de espesor ET115S (Etari GmbH, Stuttgart, Alemania). Se realizaron mediciones antes de las pruebas de caracterización y se calcularon los valores medios para cada muestra.

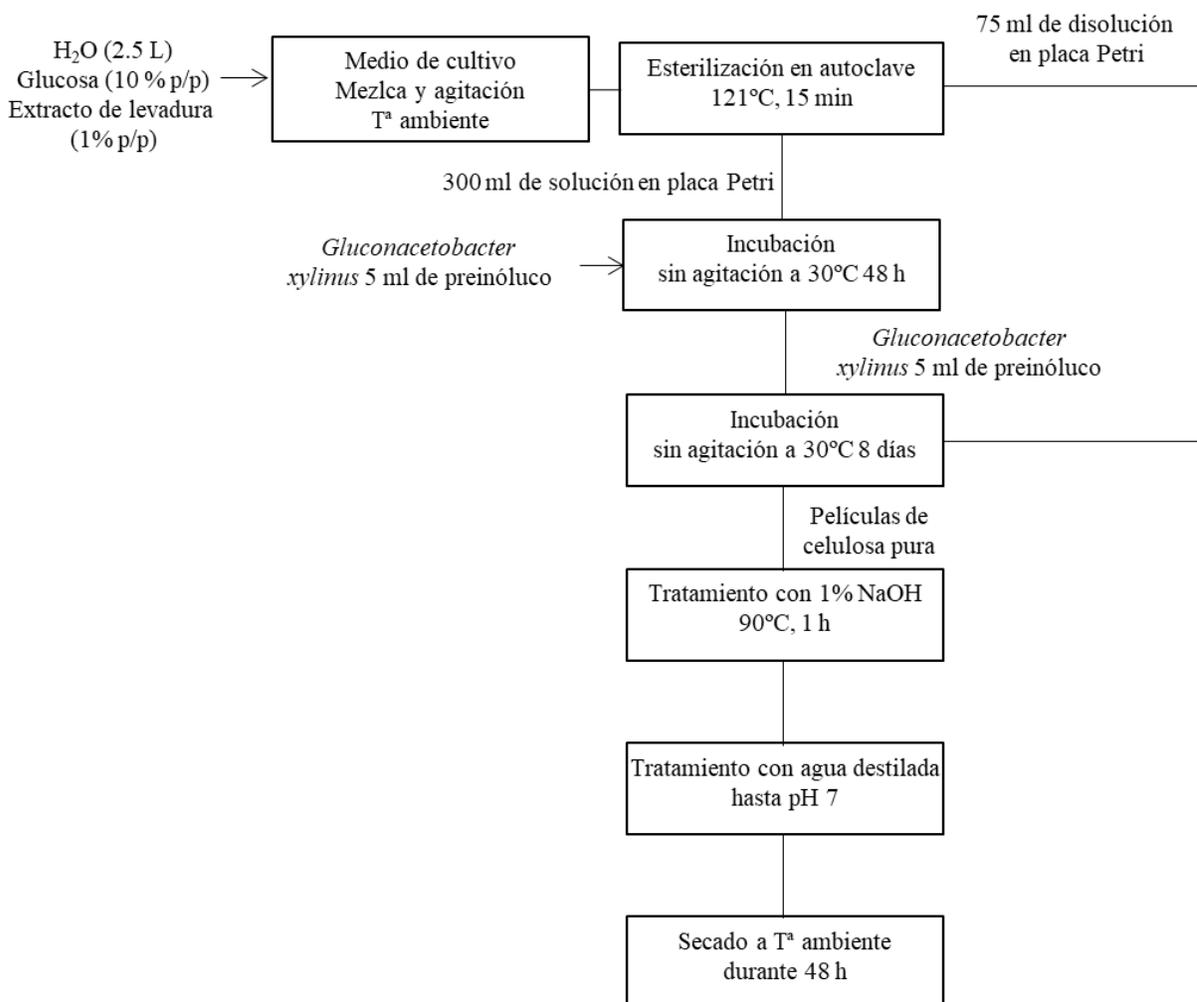


Figura 6. Esquema resumen del proceso de producción de películas de celulosa bacteriana.

### 3.5. Contenido de humedad en equilibrio

El contenido de humedad de las muestras en condiciones estándar de análisis de las propiedades mecánicas se calculó siguiendo un método gravimétrico. Muestras con una dimensión de 3×3 cm<sup>2</sup> se almacenaron en desecadores con una disolución saturada de bromuro de sodio durante 5 días. Transcurrido este tiempo, inmediatamente las muestras se pesaron con ayuda de una balanza de precisión de 0.0001 g, siendo este el peso inicial de las muestras. A continuación, las muestras se secaron en 105 °C en una estufa durante 24 h hasta peso constante, obteniendo así el peso de la muestra seca. Las muestras fueron analizadas por triplicado para cada formulación.

El contenido de humedad de equilibrio (%) se calculó usando la Ecuación 2.

$$\text{Contenido de humedad en equilibrio (\%)} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso seco}}{\text{Peso inicial}} \times 100 \quad (\text{Ec. 2})$$

### **3.6. Isotermas de adsorción de humedad**

Las isotermas de adsorción de humedad de las películas a base de celulosa con quitosano y PVOH se determinaron siguiendo el método gravimétrico estándar desarrollado por el Proyecto de Cooperación Europea COST 90 (Wolf et al., 1985) con algunas modificaciones. Muestras de película de 3×3 cm<sup>2</sup> fueron almacenadas en recipientes herméticos previamente acondicionados a determinada HR. Cada uno de los recipientes contenía una solución salina saturada específica para obtener una determinada HR de equilibrio (HR<sub>eq</sub>). Las HR<sub>eq</sub> evaluadas fueron 11.5, 32.7, 43.8, 57.7, 75.4 y 90.6%, utilizando soluciones salinas supersaturadas de LiCl, MgCl<sub>2</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaBr, NaCl y BaCl<sub>2</sub>, respectivamente. Los recipientes herméticos con las muestras se almacenaron dentro de una estufa a 30°C durante 10 días para garantizar que las muestras alcanzaran el equilibrio de contenido de humedad. Es importante colocar las muestras sin que se toquen unas con otras y permitir que las muestras estén en contacto con las moléculas de vapor de agua por ambos lados de la muestra (Aguirre-Loredo et al., 2016).

Alcanzado el equilibrio de humedad, el contenido de agua de las muestras se determinó gravimétricamente. Las muestras se pesaron en una balanza de presión con una precisión de 0.0001 g, obteniendo así el peso inicial de la muestra. A continuación, las muestras se secaron a 105 °C en un horno de vacío durante 24 h hasta alcanzar peso constante, siendo este el peso seco. La prueba se realizó por triplicado para cada condición de HR. El contenido de humedad en equilibrio (X) se calculó utilizando la Ecuación 3.

$$\text{Contenido de humedad en equilibrio (X)} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso seco}}{\text{Peso inicial}} \times 100 \quad (\text{Ec. 3})$$

El modelo GAB (Guggenheim-Anderson-De Boer) (Ecuación 4) se utilizó para interpolar y graficar los datos de las isotermas de adsorción (Wolf et al., 1985).

$$X = \frac{X_m \cdot C \cdot K \cdot a_w}{(1 - K \cdot a_w) \cdot (1 - K \cdot a_w + C \cdot K \cdot a_w)} \quad (\text{Ec. 4})$$

Donde  $X_m$  es el contenido de humedad en la monocapa,  $C$  es una constante relacionada con la fuerza de los enlaces de agua a los sitios de adsorción primarios y  $K$  está relacionada con el calor de la adsorción multicapa (Bedane, Eić, et al., 2015). Los constantes del modelo de GAB ( $X_m$ ,  $C$  y  $K$ ) fueron calculados utilizando el método de regresión no lineal.

### 3.7. Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas de las películas se midieron a través de pruebas de tensión y pruebas de punción. Las pruebas de tensión de las películas de celulosa se realizaron a temperatura ambiente utilizando un texturómetro con una celda de carga de 30 kg y el software Exponent versión 6.1.12.0 (TA-XTplus, Stable Micro System, UK), siguiendo el método estandarizado ASTM D882 (“ASTM D882 Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, ASTM International,” 2018), con algunas modificaciones. Se midió la resistencia a la tensión (TS), el porcentaje de elongación en el punto de rotura (%E), el módulo de Young (YM) y la tenacidad (T).

Para llevar a cabo la prueba, se estableció una separación inicial de 40 mm entre las pinzas y una velocidad constante de separación del brazo móvil de 4 mm/s. Previamente, de las películas de cada formulación se cortaron diez muestras con una dimensión de 15x100 mm y se almacenaron en desecadores al 57% de HR durante 5 días. Las películas se fijaron a ambos extremos de las pinzas mecánicas y las curvas de

fuerza (MPa) en función de la deformación (%) fueron registradas automáticamente por el software del texturómetro. Los valores de TS, %E, YM y T se calcularon a partir de las curvas tensión-deformación según el método ASTM D882. TS y %E se calcularon utilizando las Ecuaciones 5 y 6, respectivamente (Antoniou et al., 2015).

$$TS (MPa) = \frac{F}{L \cdot x} \quad (\text{Ec. 5})$$

$$\%E (\%) = \frac{l-l_1}{l_1} \times 100 \quad (\text{Ec. 6})$$

En la Ecuación 5,  $F$  es la fuerza máxima antes de la rotura (N),  $L$  es el ancho de la película (mm) y  $x$  es el espesor (mm). En la Ecuación 6,  $l_1$  es la longitud inicial (mm) y  $l$  es la longitud de la película (mm) en el punto de rotura. El módulo de Young se calculó a partir de la pendiente de la curva de tensión-deformación en la región viscoelástica. El parámetro T mide la capacidad del material de absorber energía durante la deformación hasta la fractura (Zhang & Zhang, 2012). Según esta definición, la dureza abarca la energía necesaria tanto para crear la grieta como para permitir que ésta se propague hasta la fractura (Zhang & Zhang, 2012). T se calculó a partir del diagrama de tensión-deformación, como el área bajo la curva por volumen de muestra, siguiendo la Ecuación 7.

$$T = \frac{\text{Energía}}{\text{Volumen}} = \int_0^{\epsilon f} \sigma d\epsilon \quad (\text{Ec. 7})$$

Donde  $\epsilon f$  es la máxima deformación,  $\sigma$  es la tensión máxima antes de la rotura y  $d\epsilon$  es el derivado en función de la tensión.

Por otro lado, se calculó la fuerza de punción de las películas que es un parámetro útil para evaluar la fuerza mecánica de la película sometida a diferentes fuerzas a la vez. Las películas deben tener buenas propiedades mecánicas uniaxiales para mantener la

integridad de la película durante el transporte, la manipulación y el almacenamiento del producto empaquetado con protuberancias. Se espera que las películas con mayor resistencia tengan mejores propiedades mecánicas (Campos et al., 2011; Leceta et al., 2013). A través de las pruebas de punción, se calculó la resistencia a la rotura por punción (BS) y la distancia a la rotura por punción (DB), también denominadas fuerza de punción y deformación de la punción, respectivamente. Cuatro muestras cuadradas de cada película (30 mm de lado) fueron almacenadas en desecadores al 57% HR durante 5 días. Las muestras se fijaron en una plataforma de soporte de película (HDP/FSR) y se sometieron a la perforación de una sonda cilíndrica ( $d = 3$  mm), a una velocidad constante de 60 mm/min hasta la rotura. Se registraron las curvas de fuerza (g) en función de la deformación (mm). La fuerza máxima del pico se registró como BS y la distancia al pico se registró como BD.

La evaluación del efecto de la actividad de agua de las películas sobre las propiedades mecánicas se llevó a cabo acondicionando las películas antes de cada prueba en recipientes herméticos con diferentes soluciones salinas saturadas para obtener microclimas entre 0 y 90% HR<sub>eq</sub>. Los recipientes con las muestras se equilibraron en una estufa a 30°C durante 10 días. A continuación, cada prueba mecánica se llevó a cabo como se ha descrito previamente.

### **3.8. Permeabilidad del vapor de agua a condiciones estándar**

Los valores de permeabilidad del vapor de agua se midieron gravimétricamente siguiendo el método estandarizado ASTM E96 (*Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials*, n.d.). Para la prueba de permeabilidad al vapor de agua se requirió de una celda de permeabilidad especialmente diseñada con una boca ancha de  $5 \cdot 10^{-3}$  m<sup>2</sup>. La celda se llenó con 100 mL de agua destilada y se selló con la película. La prueba se llevó a cabo a 20°C dentro de un desecador con sílice o a 30°C dentro de una cámara de doble fondo con sílice, especialmente diseñada para adaptarse sobre una balanza de precisión y dejar el plato de la balanza libre para colocar la celda de permeabilidad. El gradiente de presión parcial entre ambos lados de la película produjo

una fuerza motriz para el flujo de vapor de agua a través de la película. El flujo de agua resultó en una disminución del peso de la celda con la película. En caso de utilizar celdas dentro de desecadores, se tomó el peso de cada celda cada 24 h durante 5 días. Utilizando el diseño de cámara adaptada a una balanza de precisión, los datos se tomaron en forma automática durante 8 horas, tiempo suficiente para alcanzar el equilibrio.

A partir de los datos de variación de peso de la celda con el tiempo se calculó la pendiente de la gráfica del peso vs. el tiempo mediante una regresión lineal ( $r^2 > 0,99$ ). La velocidad de transmisión de vapor de agua (WVTR) se calculó como la relación entre la pendiente (g/s) y el área de la boca de la célula sellada con la película ( $m^2$ ).

La permeabilidad al vapor de agua (WVP) se calculó según las leyes combinadas de Fick y Henry para la difusión de gases a través de las películas, utilizando la Ecuación 8.

$$WVP = WVTR \cdot \frac{x}{\Delta P} \quad (\text{Ec. 8})$$

Donde  $x$  (m) es el espesor de la película y  $\Delta P$  (Pa) es el diferencial de la presión del vapor de agua a través de la película (Bedane, Eic, et al., 2015). Se utilizó una fuerza motriz de 2339 Pa como presión diferencial de vapor de agua a 20°C o de 4245 Pa a 30°C (Wexler, 1976). Cada prueba se realizó por triplicado.

Para evaluar la permeabilidad de las películas en un amplio rango de  $a_w$ , se siguió el método establecido por Aguirre-Loredo et al., (2016). En este caso, la celda de permeabilidad contenía 100 mL de solución salina saturada específica para obtener una cierta  $HR_{eq}$  (11.5 - 100%). La HR recreada en el interior de la celda de permeabilidad se denominó humedad relativa interna ( $HR_{int}$ ). El segundo ambiente se obtuvo con una doble cámara diseñada para contener sílice (cámara seca) o una solución salina saturada (cámara húmeda). La humedad recreada en esta cámara se denominó humedad externa ( $HR_{ext}$ ). La cámara seca o húmeda se colocó sobre una balanza de precisión, dejando libre el plato de la balanza en el centro de la cámara. La cámara permaneció cerrada y a

temperatura constante de 30°C durante la prueba. La diferencia entre  $HR_{int}$  y  $HR_{ext}$  produjo una fuerza motriz para el flujo de vapor de agua a través de la película, que dio lugar a un aumento o disminución del peso de la celda de permeabilidad. Los datos de variación de peso se trataron como se indicaron anteriormente para calcular los valores de WVP de las películas a diferentes  $a_w$ .

### **3.9. Capacidad de retención de agua**

La adsorción de agua se determinó siguiendo un método gravimétrico. Tres muestras de cada película fueron cortadas en cuadrados de 3×3 cm y almacenadas en desecadores con sílice durante 5 días. Se pesaron las muestras secas ( $W_{seco}$ ) con ayuda de una balanza de precisión. A continuación, cada muestra se sumergió en un recipiente cerrado con 100 mL de agua destilada y se almacenó a 20°C durante 24 h, tiempo suficiente para que las muestras alcanzaran el equilibrio. Transcurrido este tiempo, se extrajeron las muestras con ayuda de una pinza y se eliminó el exceso de agua de la superficie con ayuda de papel de filtro. Las muestras de películas húmedas se pesaron en la balanza de precisión ( $W_{húmedo}$ ) y se calculó el contenido de humedad (%W) de las películas mediante la Ecuación 9. Cada prueba se realizó por triplicado (Takara et al., 2015).

$$\%W = \frac{W_{húmedo} - W_{seco}}{W_{seco}} \times 100 \quad (\text{Ec. 9})$$

### **3.10. Solubilidad de las películas en el agua (%S)**

La solubilidad en agua de los componentes fue determinada siguiendo un método gravimétrico. Muestras de cada formulación con una dimensión de 3×3 cm<sup>2</sup> se cortaron y secaron a 105°C durante 24 h. Se tomaron los pesos de las muestras secas ( $W_0$ ) con ayuda de una balanza de precisión de 0.0001 g. Las muestras secas se introdujeron en recipientes con 100 mL de agua destilada y se agitaron suavemente a 25°C durante 24 h. A continuación, las muestras no disueltas se secaron a 105°C durante 24 h hasta peso

constante para determinar el peso seco final ( $W_f$ ) (Gómez-Estaca, López de Lacey, López-Caballero, Gómez-Guillén, & Montero, 2010; Rhim, 2004). Las pruebas para cada tipo de película se realizaron por triplicado. La solubilidad en el agua (%) se calculó usando la Ecuación 10.

$$\%S(\%) = \frac{w_0 - W_f}{w_0} \times 100 \quad (\text{Ec. 10})$$

### **3.11. Microscopía electrónica de barrido (SEM)**

Las películas fueron recubiertas con oro en portaobjetos con cinta adhesiva de carbono y observadas con un microscopio de alto vacío (JEOL JSM-6360LV, Jeol Ltd, Tokio, Japón) a un voltaje de aceleración de 20kV.

### **3.12. Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)**

Los espectros FT-IR de las películas se obtuvieron con ayuda de un equipo FT-IR ABB Bomen 102 (ABB Ltd, Zurich Suiza) equipado con un accesorio de reflectancia total atenuada universal (UATR) SPECAC Golden Gate con cristal de diamante que se utilizó para recoger los espectros FTIR de las películas. Las muestras se acondicionaron a una humedad relativa del  $65 \pm 2\%$  y  $21 \pm 1^\circ\text{C}$  durante al menos 48 h antes de la prueba. Los espectros FTIR se recogieron con una resolución espectral de  $4 \text{ cm}^{-1}$  en el rango de 400 a  $4000 \text{ cm}^{-1}$ .

### **3.13. Propiedades ópticas y de barrera a la luz**

Se utilizó un espectrofotómetro V-670 (Jasco Inc., Japón) para analizar las propiedades de barrera a la radiación ultravioleta y a la luz visible de la película, utilizando el modo de transmitancia a intervalos de 2 nm en las regiones UV-VIS-NIR (190 - 2500 nm). La transparencia de las películas se calculó a partir del porcentaje de transmisión de luz a 600 nm, siguiendo la Ecuación 11 (Han & Floros, 1997).

$$Transparencia = \frac{\text{Log } \%T_{600}}{x} \quad (\text{Ec. 11})$$

Donde  $\%T_{600}$  es el porcentaje de transmisión a 600 nm y  $x$  es el espesor de la película (mm). La prueba se realizó por duplicado para cada muestra. La opacidad de las películas se calculó a partir de la absorción de la luz a 500 nm, siguiendo la Ecuación 12 (Kanatt et al., 2012).

$$Opacidad = \frac{Abs_{500}}{x} \quad (\text{Ec. 12})$$

Donde  $Abs_{500}$  es la absorbancia de las muestras a 500 nm de longitud de onda y  $x$  es el espesor de la película (mm).

Se evaluó el efecto de la actividad de agua sobre las propiedades ópticas de las películas desarrolladas. Para ello, las muestras se acondicionaron antes de la prueba en recipientes herméticos con diferentes soluciones salinas saturadas para obtener microclimas de entre 0 y 90% HR<sub>eq</sub>. Los recipientes con las muestras se equilibraron en una estufa a 30°C durante 10 días. A continuación, cada prueba mecánica se llevó a cabo como se ha descrito previamente.

### **3.14. Análisis térmico**

Se analizaron las propiedades térmicas de las películas de celulosa con quitosano y PVOH a través de la calorimetría diferencial de barrido, utilizando un equipo Q1000 (TA instruments, New Castle, DE, USA). Las muestras se acondicionaron en charolas herméticas de aluminio, con un peso de muestra de unos 2-4 mg. La prueba se llevó a cabo estableciendo una tasa de calentamiento de 10°C/min de 50 a 400°C, en una atmósfera de N<sub>2</sub> (50 mL/min).

### **3.15. Diseño y análisis estadístico**

El conjunto de experimentos siguió un diseño factorial de segundo orden, incompleto. En el caso de películas a base de celulosa regenerada, las concentraciones de celulosa, quitosano y PVOH se consideraron variables operativas (denominadas A, B y C, respectivamente). Para películas a base de celulosa bacteriana, la concentración de PVOH y de quitosano se consideraron variables independientes (denominadas A' y B', respectivamente). Se calculó y evaluó el efecto de las variables independientes sobre la variable dependiente seleccionadas para cada estudio (TS, %E, YM, T, BS, DB, WVP y %W). El conjunto de experimentos siguió el diseño de Box-Behnken (Box & Behnken, 1960). Este diseño se formó combinando diseños factoriales de dos niveles con diseños de bloques incompletos. La Tabla 5 muestra el diseño del experimento. La distancia de Cook se utilizó para detectar los valores atípicos (Cook, 1977) y la transformación de datos de Box-Cox se utilizó para reducir las anomalías (Sakia, 1992). Se utilizó el análisis multifactorial de varianza (ANOVA). El análisis estadístico se realizó con el software Design Expert® 10.0.6 (Stat-Ease, Inc., Minneapolis, MN, USA).

En la evaluación de las isothermas de adsorción, la ecuación de GAB y los parámetros de GAB se calcularon mediante regresión no lineal usando el módulo de Solver en Microsoft Excel® 2010. El análisis de varianza (ANOVA) se utilizó para evaluar el efecto de la condición de humedad relativa sobre las propiedades de las películas. La comparación de medias fue realizada por la prueba de Tukey en  $p < 0,05$ . En este caso, los análisis se realizaron con el programa Statistica 7.0 (StatSoft Inc.).

## **4. Resultados**

#### **4.1. Caracterización de películas compuestas a base de celulosa regenerada combinadas con quitosano y alcohol polivinílico**

Se prepararon películas biodegradables utilizando celulosa regenerada, quitosano y PVOH con diferentes concentraciones siguiendo el diseño experimental mostrado en la Tabla 5.

La concentración de celulosa osciló entre el 3 y el 5% (p/p), para conseguir una disolución completa de la celulosa utilizando el método NaOH/urea. Los baños de quitosano-PVOH se prepararon a partir de disoluciones de quitosano con concentraciones entre 0-1% (p/p) y disoluciones de PVOH con concentraciones entre 0-4% (p/p). A concentraciones mayores de quitosano y PVOH, el baño obtenido era muy viscoso, lo que dificultaba su manejo y producía películas demasiado gruesas.

Los resultados de las variables dependientes TS, %E, YM y T, calculadas a partir de las pruebas de tensión se muestran en la Tabla 5. La Tabla 6 muestra los resultados obtenidos de las variables dependientes obtenidas a partir de las pruebas de punción (BS y DB), estudio de la permeabilidad al vapor de agua (WVP) y la capacidad de retención de agua (%W). La relación entre las variables independientes (concentración de celulosa, quitosano y PVOH) y las variables dependientes de las películas se modeló utilizando una ecuación polinómica de segundo orden o ecuaciones polinómicas parciales.

Resultados. Caracterización de películas compuestas a base de celulosa regenerada combinadas con quitosano y alcohol polivinílico

*Tabla 5. Formulación ensayada para el estudio de películas de celulosa reforzadas con quitosano y alcohol polivinílico (PVOH) y resultados experimentales de las propiedades mecánicas obtenidas a partir de las pruebas de tensión de las películas logradas. TS es la resistencia a la tensión, %E es la elongación hasta la rotura, YM es el módulo de Young y T es tenacidad.*

<b>Exp.</b>	<b>Celulosa</b>	<b>Quitosano</b>	<b>PVOH</b>	<b>TS</b>	<b>%E</b>	<b>YM</b>	<b>T</b>
	% (p/p)	% (p/p)	% (p/p)	MPa	%	MPa	MJ/m <sup>3</sup>
1	5.00	0.00	2.00	47.16	2.23	4217.25	1.29
2	4.00	1.00	0.00	44.63	2.08	3262.49	0.61
3	5.00	0.50	4.00	78.48	3.61	3752.91	1.74
4	4.00	1.00	4.00	67.16	12.82	2727.04	8.01
5	5.00	1.00	2.00	66.53	6.09	3150.48	7.63
6	3.00	0.00	2.00	27.75	1.57	3681.91	0.52
7	3.00	0.50	0.00	44.45	1.90	3599.97	0.47
8	4.00	0.50	2.00	57.27	3.48	3718.31	1.67
9	5.00	0.50	0.00	55.44	2.59	3750	1.52
10	3.00	1.00	2.00	48.66	3.04	3230.38	1.73
11	4.00	0.00	4.00	33.10	2.94	2833.9	1.78
12	4.00	0.50	2.00	29.76	0.98	3531.45	1.67
13	3.00	0.50	4.00	45.58	2.82	3318.12	1.45
14	4.00	0.00	0.00	38.30	1.55	3153.93	2.91
15	4.00	0.50	2.00	43.99	1.64	3554.6	2.82

Resultados. Caracterización de películas compuestas a base de celulosa regenerada combinadas con quitosano y alcohol polivinílico

*Tabla 6. Formulaciones ensayadas para el estudio de películas de celulosa reforzadas con quitosano y alcohol polivinílico (PVOH) y resultados experimentales de las propiedades de punción y de interacción con el agua de las películas logradas. BS es la resistencia a la rotura por punción, DB es la distancia a la rotura por punción, WVP es permeabilidad al vapor de agua y %W es capacidad de retención de agua.*

<b>Exp.</b>	<b>Celulosa</b>	<b>Quitosano</b>	<b>PVOH</b>	<b>BS</b>	<b>DB</b>	<b>WVP</b>	<b>%W</b>
	% (p/p)	% (p/p)	% (p/p)	g	mm	g/s m Pa	% (p/p)
1	5.00	0.00	2.00	2137.63	1.42	4.00·10 <sup>-11</sup>	84.60
2	4.00	1.00	0.00	1611.18	1.25	2.57·10 <sup>-11</sup>	84.71
3	5.00	0.50	4.00	2444.47	1.40	2.76·10 <sup>-11</sup>	126.35
4	4.00	1.00	4.00	6290.70	2.52	3.84·10 <sup>-11</sup>	139.78
5	5.00	1.00	2.00	5049.09	2.16	2.98·10 <sup>-11</sup>	143.56
6	3.00	0.00	2.00	1750.02	1.48	1.78·10 <sup>-11</sup>	85.20
7	3.00	0.50	0.00	929.55	2.38	1.86·10 <sup>-11</sup>	65.76
8	4.00	0.50	2.00	2448.91	1.70	2.89·10 <sup>-11</sup>	54.87
9	5.00	0.50	0.00	2018.82	1.42	3.95·10 <sup>-11</sup>	52.30
10	3.00	1.00	2.00	2295.26	1.66	4.24·10 <sup>-11</sup>	109.09
11	4.00	0.00	4.00	1824.09	1.55	2.82·10 <sup>-11</sup>	122.39
12	4.00	0.50	2.00	3250.23	1.72	2.59·10 <sup>-11</sup>	84.80
13	3.00	0.50	4.00	2703.32	1.46	3.60·10 <sup>-11</sup>	134.08
14	4.00	0.00	0.00	1608.03	1.58	2.85·10 <sup>-11</sup>	55.45
15	4.00	0.50	2.00	3230.46	1.83	2.63·10 <sup>-11</sup>	87.96

#### 4.1.1. Efecto sobre las propiedades mecánicas a condiciones estándar

Las películas obtenidas mostraron valores de TS en el rango de 27.75 a 78.48 MPa. Los datos experimentales se ajustaron bien a un modelo lineal. El experimento 12 fue ignorado porque se detectó como un valor atípico. El análisis multifactorial de varianza (ANOVA) se muestra en la Tabla 7.

*Tabla 7. Análisis de varianza (ANOVA) para cada una de las variables dependientes del estudio de las propiedades mecánicas obtenidas a partir de las pruebas de tensión. TS es la resistencia a la tensión, %E es la elongación hasta la rotura, YM es el módulo de Young y T es tenacidad.*

Fuente	TS		%E		YM		T	
	F valor	p-valor	F valor	p-valor	F valor	p-valor	F valor	p-valor
<i>Modelo</i>	9.48	0.0029	4.41	0.037	6.271	0.0146	4.04	0.0366
<i>A-Celulosa</i>	12.64	0.0052	0.95	0.3610	3.49	0.1039	3.45	0.1003
<i>B-Quitosano</i>	12.48	0.0054	11.89	0.0107	24.55	0.0016	7.08	0.0288
<i>C-PVOH</i>	3.31	0.0991	2.23	0.1794	0.58	0.4717	3.00	0.1213
<i>AB</i>			0.40	0.5451	2.44	0.1621	2.84	0.1307
<i>AC</i>			8.35·10 <sup>-4</sup>	0.9778	0.52	0.4930	0.06	0.8101
<i>BC</i>			9.33	0.0185	13.71	0.0076	7.81	0.0234
<i>Falta de Ajuste</i>	0.71	0.7341	2.55	0.3050	4.83	0.1804	6.66	0.1363

El valor F fue de 9.48 ( $p = 0.0029$ ), lo que implica que el modelo fue significativo con un valor de  $r^2$  de 0.74. La precisión adecuada es una relación señal/ruido y es un parámetro estadístico utilizado para evaluar la importancia de un modelo. Compara el rango de los valores predichos en los puntos de diseño con el error de predicción

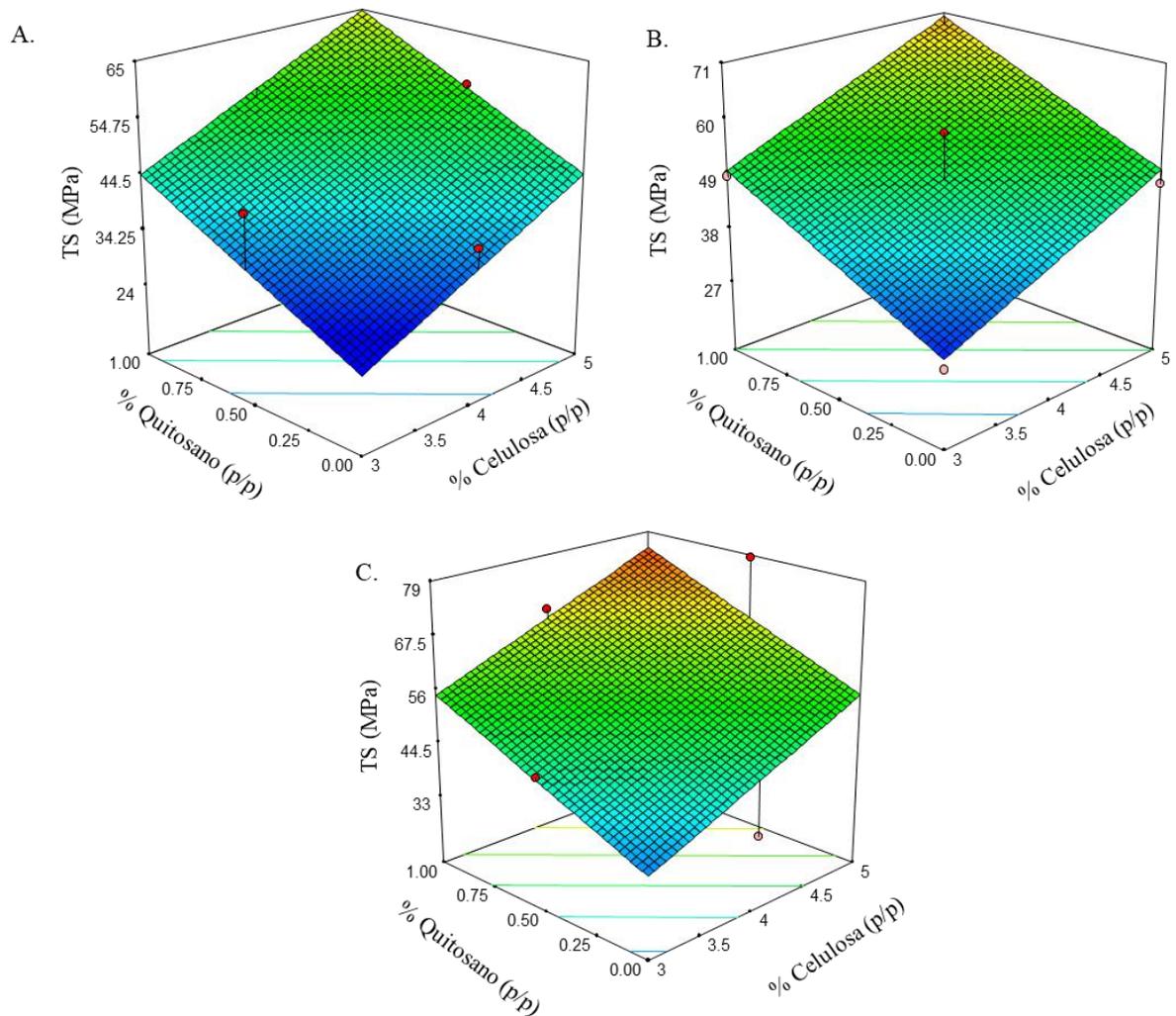
promedio. Las proporciones superiores a 4 indican una discriminación adecuada del modelo (Rouhi et al., 2017). En este caso, la precisión adecuada obtenida fue de 9.38, lo que indica una señal adecuada.

La evaluación de los valores F de las tres variables confirmó que el TS se vio afectado por el efecto lineal de la concentración de celulosa y quitosano. La concentración de PVOH afectó ligeramente a las propiedades del TS.

La Ecuación 13 predice la respuesta de TS.

$$TS \text{ (MPa)} = -5.97 + 10.15 \cdot \text{Celulosa}(\%) + 20.17 \cdot \text{Quitosano}(\%) + 2.59 \cdot \text{PVOH}(\%) \quad (\text{Ec. 13})$$

La superficie de respuesta que describe el efecto de la concentración de celulosa, quitosano y PVOH sobre TS se muestra en la Figura 7. En general, los valores de TS aumentan al aumentar la concentración de celulosa y quitosano. La concentración de PVOH también afectó a este valor, aunque en menor grado, alcanzando valores de TS más altos a una mayor concentración de celulosa, quitosano y PVOH. Manteniendo constante la concentración de quitosano y PVOH, al aumentar la concentración de celulosa, el valor de TS aumentó de 45.58 a 78.48 MPa. Por otro lado, manteniendo constante la concentración de celulosa y quitosano, los valores de TS aumentaron de 55.44 a 78.48 MPa al aumentar la concentración de PVOH. Se observó un efecto similar al mantener constante la concentración de celulosa y de PVOH a medida que los valores de TS de la concentración de quitosano cambiaban de 47.16 a 66.53 MPa.



*Figura 7. Superficie de respuesta del efecto de la concentración de celulosa y quitosano sobre la resistencia de la tensión (TS) de las películas desarrolladas. A) Películas con 0% (p/p) de PVOH; B) Películas con 2% (p/p) de PVOH; C) Películas con 4% (p/p) de PVOH.*

En comparación con los datos publicados, se observaron valores de TS de 25.64 MPa para las películas de PVOH preparadas a partir de una disolución del 2.3% (p/v) (P. C. Srinivasa et al., 2003). Las películas con PVOH al 5% (p/p) mostraron un TS que oscilaba entre 40 y 50 MPa (Paralikar et al., 2008). Las películas de quitosano preparadas con 1-2% (p/v) mostraron valores de TS que oscilaban entre 22.2 y 79 MPa (Abugoch et al., 2011; Fernandes et al., 2010; Khan et al., 2012; Srinivasa et al., 2003; Thakhiew, Devahastin, & Soponronnarit, 2010). Las variaciones de los valores de TS en las películas

de quitosano podrían deberse a varios factores, entre ellos la composición del quitosano, la fuente de quitosano, la preparación y el almacenamiento de las películas (Thakhiew et al., 2010). Las películas a base de celulosa regenerada a partir de una concentración de 4% (p/p) utilizando NaOH/tiourea como disolvente y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> como baño coagulante, mostraron valores de TS de 68.10 MPa (Xiao et al., 2003). Las películas de celulosa de una solución al 5% (p/p), utilizando NaOH/urea como disolvente y ácido acético como baño de coagulación, mostraron valores de TS de 60 a 90 MPa en función del peso molecular ( $2.2 \cdot 10^4$  -  $8.2 \cdot 10^4$  g/mol) (Zhang, Ruan, & Zhou, 2001).

Los valores de TS obtenidos en este trabajo se encuentran en el mismo rango de aquellos reportados en la literatura. El modelo polinomial obtenido sugiere que la resistencia a la tensión de las películas de mezcla estaba dominada por la celulosa. Las interacciones entre la celulosa y el quitosano en concentraciones más altas dieron como resultado valores de TS más altos. Este comportamiento puede explicarse por la formación de enlaces de hidrógeno entre ambas cadenas poliméricas. Las películas de mezcla de celulosa y quitosano, preparadas con óxido de N-metil morfolina como disolvente, también mostraron un aumento de los valores de TS al aumentar la concentración de quitosano (Shih et al., 2009). Los mismos autores informaron de valores de TS más bajos para las películas de celulosa que utilizan óxido de N-metil morfolina como disolvente de celulosa en comparación con los valores obtenidos en este estudio. Las propiedades mecánicas dependen del disolvente empleado y del peso molecular de la celulosa utilizada como materia prima (Chen, Chen, You, Wang, & Xu, 2015).

Las películas mostraron valores de %E en el rango de 0.98% a 12.82%. Los datos experimentales se ajustaron bien a una ecuación de interacción de dos factores. El experimento 11 fue ignorado porque fue detectado como valor atípico. El análisis ANOVA se muestra en la Tabla 7. El valor F de la ecuación cuadrática fue 4.41 (valor  $p = 0.0365$ ), lo que implica que el modelo fue significativo. El valor de  $r^2$  fue de 0.79. La relación de precisión adecuada obtenida (7.51) fue superior a 4, lo que indica una señal adecuada.

Los valores F de las tres variables confirmaron que el %E estaba muy afectado por el efecto lineal de la concentración de quitosano, y el efecto de la interacción

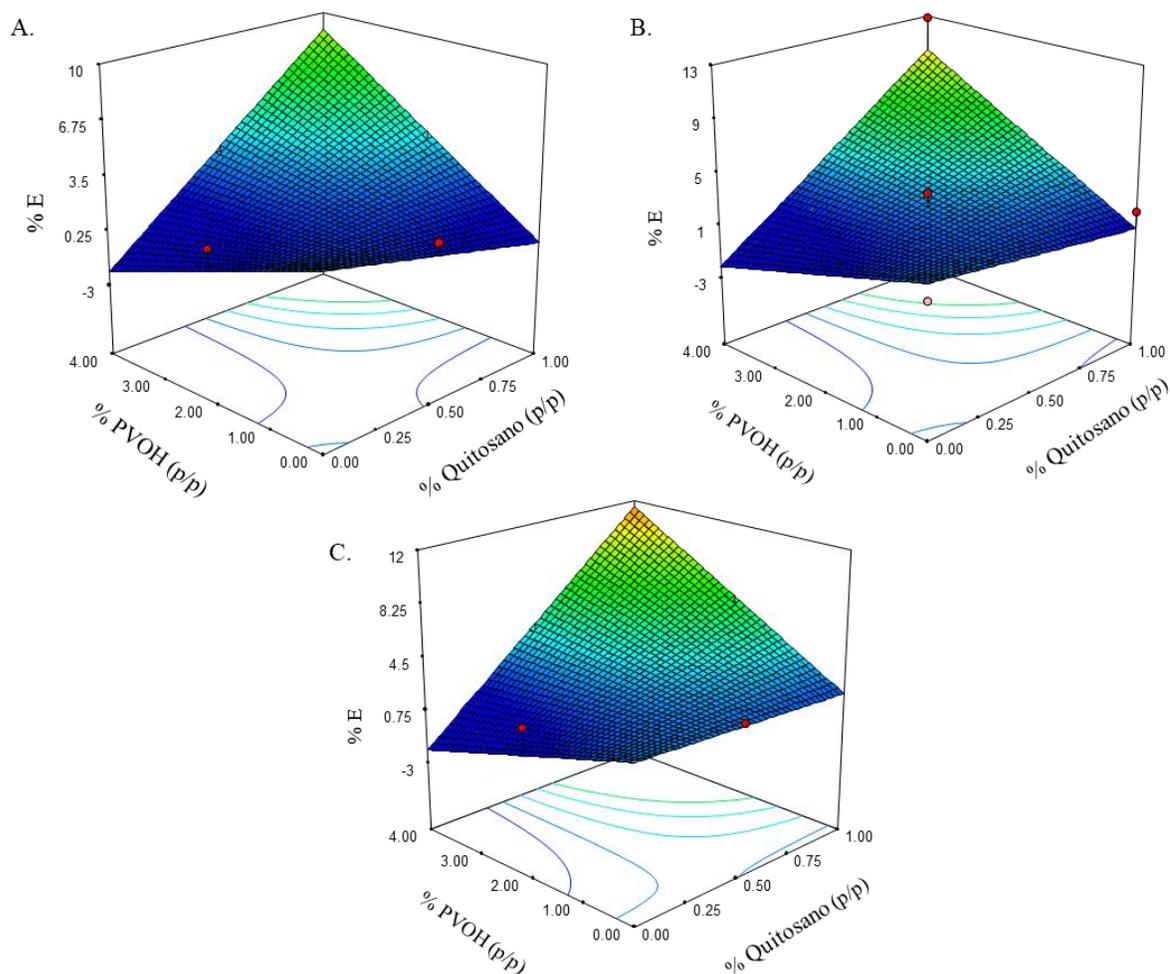
quitosano-PVOH, seguido por el efecto lineal de la concentración de PVOH. Se observó un pequeño efecto de la concentración de celulosa. La interacción celulosa-PVOH fue insignificante. La Ecuación 14 predice la respuesta en %E.

$$\begin{aligned} \%E (\%) = & 2.73 - 0.025 \cdot \text{Celulosa}(\%) - 6.79 \cdot \text{Quitosano}(\%) - 1.29 \cdot \text{PVOH}(\%) + \\ & 1.19 \cdot \text{Celulosa}(\%) \cdot \text{Quitosano}(\%) + 0.014 \cdot \text{Celulosa}(\%) \cdot \text{PVOH}(\%) + 3.60 \cdot \\ & \text{Quitosano}(\%) \cdot \text{PVOH}(\%) \end{aligned} \quad (\text{Ec. 14})$$

La superficie de respuesta del modelo se muestra en la Figura 8. El aumento general de la concentración de PVOH y quitosano produjo un aumento de los valores de %E. El valor máximo de %E (12.82%) se alcanzó con la concentración más alta de quitosano y PVOH, lo que refleja el efecto de la interacción entre estos dos polímeros. Aumentando la concentración de celulosa a una menor concentración de quitosano y PVOH, el valor de %E aumentó ligeramente de 3.04 a 6.09 %.

En investigaciones anteriores, las películas a base de celulosa en una solución al 5% (p/p), utilizando NaOH/urea como disolvente y ácido acético como baño de coagulación, mostraron valores de %E del 2 al 5%, en función del peso molecular ( $2.2 \cdot 10^4$  -  $8.2 \cdot 10^4$  g/mol) (Zhang et al., 2001). Las películas a base de celulosa de una solución al 4% (p/p) utilizando NaOH/tiourea como disolvente y  $\text{H}_2\text{SO}_4$  como baño coagulante, mostraron un valor %E de 6.98% (Xiao et al., 2003). Las películas de celulosa en una solución al 4% (p/p) mostraron valores que oscilaban entre el 1.9 y el 2.9% en función del peso molecular utilizando NaOH/urea, el sistema LiCl/DMAc y NMMO y líquidos iónicos como disolvente (Chen et al., 2015). En el caso de otros polímeros biodegradables, se publicaron valores de %E de 105.47% para películas preparadas a partir de una solución de 2.3% (p/v) de PVOH, similar a los valores entre 100 y 115% han sido reportado para las películas de PVOH al 5% (p/p) (Paralikar et al., 2008; Srinivasa et al., 2003). Al comparar el %E de las películas de quitosano en la literatura, varios estudios reportaron valores de %E para las películas de quitosano puro en el rango de 13 a 53.85%, la

mayoría de ellos en los valores más bajos (Fernandes et al., 2010; Martins, Cerqueira, & Vicente, 2012; Ojagh, Rezaei, Razavi, & Hosseini, 2010; Thakhiew et al., 2010). La variabilidad de los valores puede deberse a la composición del quitosano, la fuente de quitosano, el método de elaboración de la película y las condiciones de almacenamiento.



*Figura 8. Predicción del modelo para el efecto de la celulosa, el quitosano y el alcohol polivinílico (PVOH) sobre la elongación de rotura (%E). A) Películas con un 3% (p/p) de celulosa; B) Películas con un 4% (p/p) de celulosa; C) Películas con un 5% (p/p) de celulosa.*

El PVOH mostró un efecto plastificante, dando lugar a la formación de puentes de hidrógeno intermoleculares entre el PVOH y las moléculas de celulosa, debilitando los

puentes de hidrógeno entre las cadenas de celulosa. La interacción con el PVOH facilitó la movilidad de las cadenas de celulosa. Este efecto plastificante se observó también en películas de celulosa regenerada bañadas con glicerol (Xiao et al., 2003; Zhang, Ruan, & Gao, 2002).

El PVOH y el quitosano mejoraron las propiedades elásticas de las películas de celulosa alcanzando valores de %E superiores a los del celofán, un derivado comercial de la celulosa. Sin embargo, los valores de %E están lejos de los de los polímeros sintéticos (633-859%) (Cazon et al., 2017).

Las películas mostraron valores de YM entre 2727.04 y 4217.25 MPa. El experimento 11 se detectó como valor atípico por lo que fue ignorado. Los datos experimentales se ajustaron con un modelo cuadrático. El análisis ANOVA se muestra en la Tabla 7. El valor F obtenido fue de 6.27 con valor  $p = 0.0146$ , lo que implica que el modelo es significativo. El valor de  $r^2$  calculado fue de 0.84. La relación de precisión adecuada obtenida (10.52) fue superior a 4, lo que indica una adecuada señal.

Los valores F de las tres variables mostraron que YM fue afectado por el efecto lineal de la concentración de quitosano, seguido de la interacción quitosano-PVOH. La concentración de celulosa y la interacción celulosa-quitosano también mostraron un efecto importante sobre los valores del módulo de Young, pero el efecto fue menor que el observado por la concentración de quitosano y la interacción quitosano-PVOH. Por último, el efecto de la concentración de PVOH y de la interacción celulosa-PVOH no fue significativo. La Ecuación 15 predice la respuesta de YM en función de la concentración de la celulosa, quitosano y PVOH.

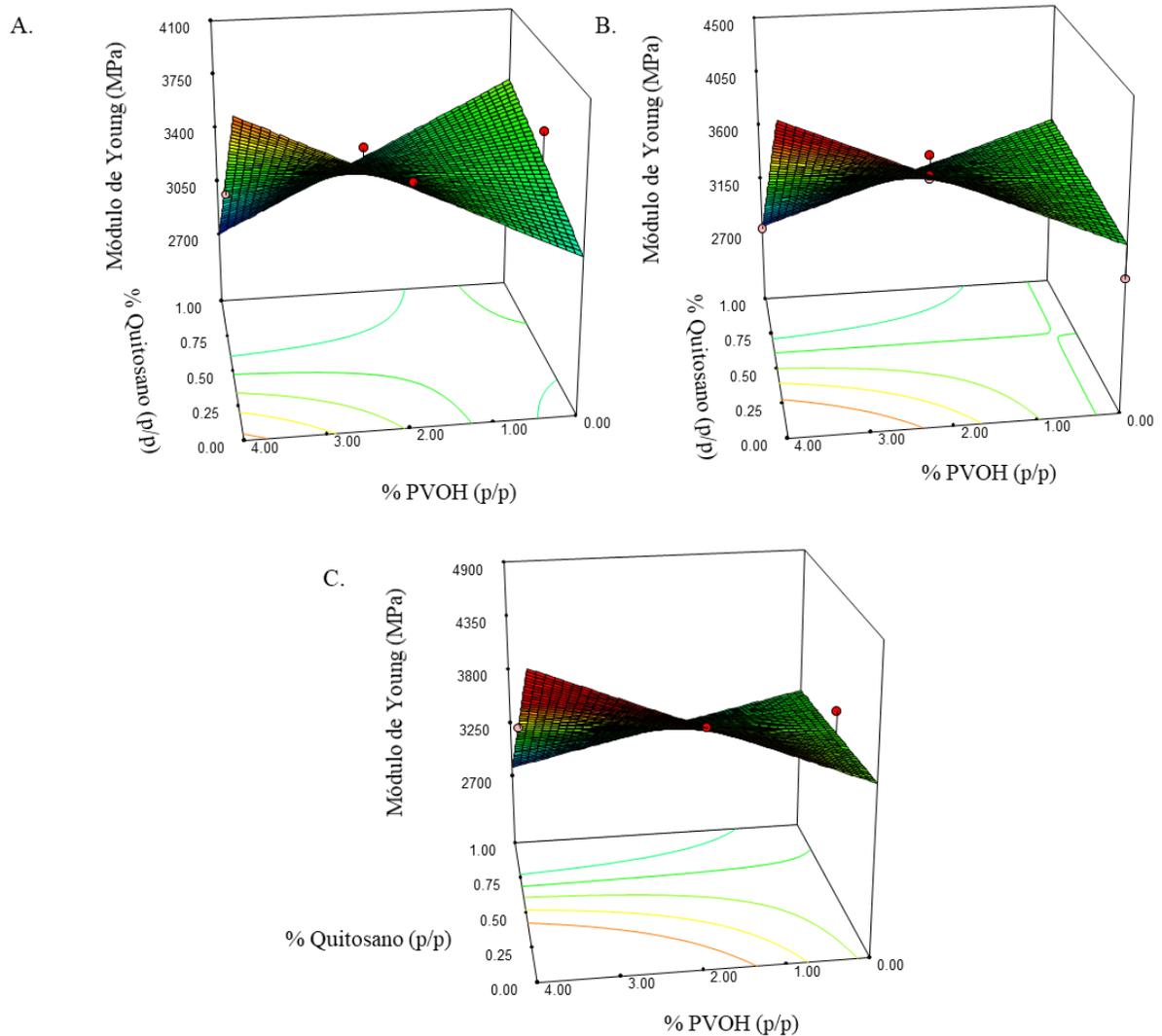
$$MY (MPa) = 2562.98 + 212.65 \cdot Celulosa(\%) + 1362.86 \cdot Quitosano(\%) + 116.49 \cdot PVOH(\%) - 307.62 \cdot Celulosa(\%) \cdot Quitosano(\%) + 35.60 \cdot Celulosa(\%) \cdot PVOH(\%) - 457.65 \cdot Quitosano(\%) \cdot PVOH(\%) \quad (\text{Ec. 15})$$

La superficie de respuesta del modelo se muestra en la Figura 9. Los valores del módulo de Young de las películas desarrolladas dependen principalmente de la interacción entre el quitosano y el PVOH. Los valores máximos se obtuvieron cuando se utilizó PVOH o quitosano en la formulación del baño.

Se observó una interacción negativa entre el quitosano y el PVOH que disminuyó los valores del módulo de Young. Por consiguiente, al aumentar la concentración de quitosano y de PVOH, los valores del módulo de Young disminuyeron de 4217.25 MPa (sin quitosano) y 3750 MPa (sin PVOH) a 3150.48 MPa cuando se añadieron ambos polímeros a la formulación. Las formulaciones con PVOH mostraron valores de módulo de Young más altos que las formulaciones con quitosano. Además, en las formulaciones que contienen PVOH, al aumentar la concentración de celulosa se incrementaron los valores del módulo de Young.

Se observó el efecto contrario combinando el quitosano con la celulosa, lo que dio lugar a una disminución de los valores del módulo de Young. Los valores máximos del módulo de Young se observaron en películas de formulación que contenían una concentración máxima de PVOH y celulosa.

En la literatura, los valores del módulo de Young de las películas de quitosano de 1-2 % (p/p) de las soluciones oscilan entre 1874 y 3000 MPa (Fernandes et al., 2010). Las variaciones en los valores del módulo de Young de las películas de quitosano dependen de la concentración, el peso molecular, el grado de polimerización, las condiciones de almacenamiento y el método de preparación. Además, la disminución del grado de polimerización afectó negativamente al módulo de Young de las películas de quitosano (Fernandes et al., 2010).



*Figura 9. Predicción del modelo para el efecto de la celulosa, el quitosano y el alcohol polivinílico (PVOH) en el módulo de Young (YM). A) Películas con un 3% (p/p) de celulosa; B) Películas con un 4% (p/p) de celulosa; C) Películas con un 5% (p/p) de celulosa.*

Las películas de PVOH al 5% (p/p) mostraron los valores del módulo de Young en el rango de 1000-1500 MPa (Paralikar et al., 2008; Roohani et al., 2008). La celulosa regenerada, utilizando como disolvente el cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio líquido iónico, mostró un valor de módulo de Young de 1800 MPa (Mahmoudian et al., 2012). Las películas de celulosa regenerada de una solución de celulosa al 6% (p/p) mezclada con NaOH, urea, ZnO y agua destilada, mostraron un valor de módulo de Young de 6100

MPa y 3700 MPa para las películas de celulosa de una solución de celulosa al 7% (p/p) con NaOH y urea (Yang et al., 2011), lo que indica que los valores de módulo de Young de las películas de celulosa regenerada dependen de la concentración de celulosa, el método de disolvente y las condiciones de preparación. Las películas de celulosa regenerada mostraron valores de módulo de Young más altos que los de las películas de quitosano y PVOH, lo que sugiere que las propiedades mecánicas de las películas obtenidas son mejoradas por el contenido de celulosa. El aumento de la concentración de PVOH o quitosano permitió obtener valores más altos del módulo de Young. Este comportamiento podría explicarse por los puentes de hidrógeno intermoleculares formados entre la PVOH y la celulosa, o el quitosano y la celulosa. Se obtuvieron valores de módulo de Young más altos mezclando la celulosa-PVOH que la celulosa-quitosano. Sin embargo, el uso de PVOH y quitosano en la formulación dio lugar a valores más bajos del módulo de Young. Probablemente, la interacción entre la PVOH y el quitosano no era tan fuerte como la interacción de cada polímero por sí solo con la celulosa.

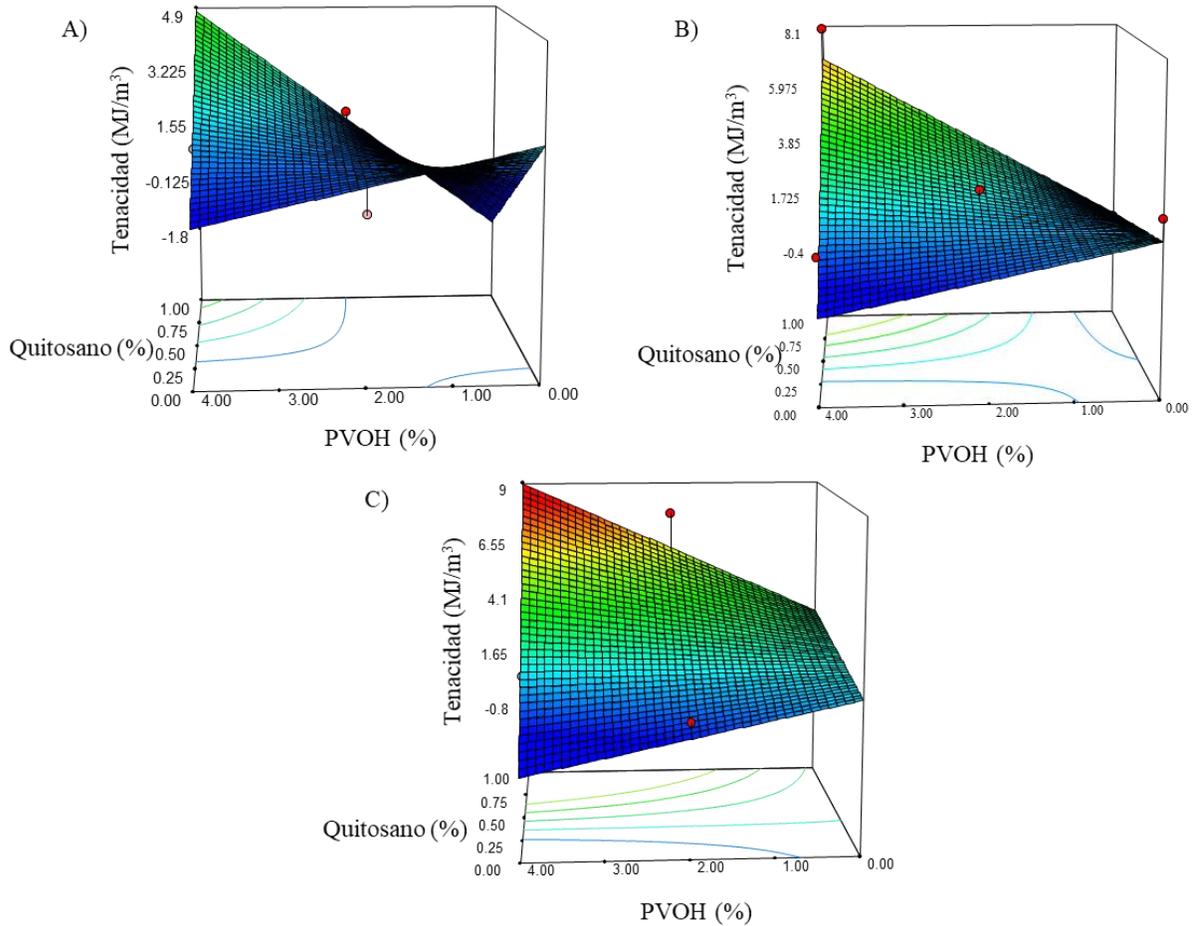
Las películas obtenidas mostraron valores de tenacidad en el rango de 0.47 a 8.01 MJ/m<sup>3</sup>. Los datos experimentales se ajustaron a un modelo matemático de interacción de dos factores. El análisis ANOVA se muestra en la Tabla 7. El valor F del modelo fue de 4.04 (valor  $p < 0.0366$ ), obteniendo un modelo significativo. El valor de  $r^2$  calculado fue 0.75. La precisión adecuada obtenida fue de 6.85, lo que indica una señal adecuada.

De acuerdo con los valores F de cada variable, es posible analizar el efecto del parámetro en las variables dependientes. Por consiguiente, los valores F de las tres variables confirmaron que la tenacidad fue afectada principalmente por la interacción quitosano-PVOH y el efecto lineal de la concentración del quitosano, seguido por el efecto lineal de las concentraciones de celulosa y PVOH y la interacción celulosa-quitosano. Finalmente, la interacción entre la celulosa y el PVOH, produjo un efecto insignificante según el valor F. La Ecuación 16 predice la respuesta de tenacidad considerando el rango de concentraciones establecido para las variables.

$$T\left(\frac{\text{MJ}}{\text{m}^3}\right) = 2.52 - 0.09 \cdot \text{Celulosa}(\%) - 11.7 \cdot \text{Quitosano}(\%) - 0.22 \cdot \text{PVOH}(\%) + 2.57 \cdot \text{Celulosa}(\%) \cdot \text{Quitosano}(\%) - 0.09 \cdot \text{Celulosa}(\%) \cdot \text{PVOH}(\%) - 2.13 \cdot \text{Quitosano}(\%) \cdot \text{PVOH}(\%) \quad (\text{Ec. 16})$$

La superficie de respuesta que describe el efecto de la concentración de celulosa, quitosano y PVOH sobre la T se muestra en la Figura 10. Se observó un importante efecto de la PVOH sobre la T. En las películas de celulosa regenerada sin quitosano y PVOH, la variación de la T en función de la concentración de celulosa fue mínima. Este comportamiento indica que el aumento de la concentración de celulosa del 3 al 5% no fue suficiente para modificar la estructura de las películas de celulosa pura para mejorar la capacidad de absorción de energía sin ocasionar fracturas. La variación de los valores de T dependió de las concentraciones de quitosano y de PVOH. El aumento de la concentración de uno de los dos polímeros (quitosano o PVOH), dio lugar a una disminución de los valores de T. Este efecto fue más notorio a baja concentración de celulosa. Probablemente, a concentraciones de celulosa más bajas, las interacciones entre la celulosa quitosano o la celulosa PVOH redujeron la flexibilidad, mientras que, a concentraciones de celulosa más altas, la interacción entre las cadenas de celulosa dio lugar a valores de T más bajos.

Por otro lado, las películas de celulosa combinadas con ambos polímeros (quitosano y PVOH) manifestaron un comportamiento diferente. Los valores de T aumentaron a medida que las concentraciones de quitosano y PVOH aumentaron especialmente a concentraciones más altas de PVOH. Estos resultados muestran el importante efecto de la PVOH sobre los valores de T en presencia de quitosano (de 0.61 MJ/m<sup>3</sup> a 8.01 MJ/m<sup>3</sup> a una concentración constante de celulosa y quitosano). Además, al aumentar la concentración de celulosa, en presencia de quitosano y PVOH, aumentaron los valores de T. El PVOH y el quitosano mejoraron la flexibilidad y ductilidad de las películas de celulosa, probablemente debido a la reticulación entre el quitosano-PVOH que reduce la fragilidad de las películas.



*Figura 10. Predicción del modelo para el efecto de la celulosa, el quitosano y el alcohol polivinílico (PVOH) sobre la tenacidad (T). A) Películas con un 3% (p/p) de celulosa, B) Películas con un 4% (p/p) de celulosa, C) Películas con un 5% (p/p) de celulosa.*

Estudios previos han reportado valores de T que oscilan entre 3.0 y 15.1 MJ/m<sup>3</sup> en función del grado de polimerización de la celulosa microfibrilada (Henriksson et al., 2008). Las películas compuestas de celulosa nanofibrilada, hidroxietilcelulosa catiónica y glicerol mostraron valores T de 4.9 MJ/m<sup>3</sup> y 16.9 MJ/m<sup>3</sup> en función de la formulación (Spoljaric et al., 2015). Los valores de T reportados para las películas de PVOH y quitosano fueron de 34.2 MJ/m<sup>3</sup> y 16.8 MJ/m<sup>3</sup>, respectivamente. En este caso, las películas de mezcla de quitosano y PVOH mostraron una reducción de los valores de T cuando el contenido de quitosano aumentó. Los autores explicaron este comportamiento mediante la formación

de enlaces covalentes que resultan en una película más rígida y quebradiza (Costa-Júnior et al., 2009).

Los valores obtenidos en el presente estudio fueron coherentes con los valores T de diferentes polímeros que figuran en la literatura. Además, los valores obtenidos estuvieron dominados por la presencia de celulosa y mejorados por la interacción quitosano-PVOH.

Las películas mostraron valores de BS (resistencia a la punción) en el rango de 929 a 6291 g. Los datos experimentales se ajustaron a un modelo de interacción de dos factores. El análisis de ANOVA se muestra en la Tabla 8. El valor F del modelo obtenido fue 7.21 (valor  $p < 0.007$ ), lo que implica que el modelo fue significativo. El valor de  $r^2$  fue 0.84 y el valor de precisión adecuada fue 9.48, lo que indica una señal adecuada. Los valores F indican que el efecto lineal de las concentraciones de quitosano y PVOH fueron los principales términos significativos, seguidos de la interacción quitosano-PVOH. Las interacciones celulosa-quitosano y celulosa-PVOH, y el efecto lineal de las concentraciones de celulosa tuvieron un menor impacto sobre los valores de BS.

La Ecuación 17 predice la respuesta de la resistencia de punción en función de los valores reales de concentración de los componentes.

$$\begin{aligned} BS \text{ (g)} = & 910 + 242 \cdot \text{Celulosa}(\%) - 4982 \cdot \text{Quitosano}(\%) + 560 \cdot \text{PVOH}(\%) + \\ & 1183 \cdot \text{Celulosa}(\%) \cdot \text{Quitosano}(\%) - 168 \cdot \text{Celulosa}(\%) \cdot \text{PVOH}(\%) + 1116 \cdot \\ & \text{Quitosano}(\%) \cdot \text{PVOH}(\%) \end{aligned} \quad (\text{Ec. 17})$$

*Tabla 8. Análisis de varianza (ANOVA) para cada una de las variables dependientes de estudio de las propiedades de función, permeabilidad y retención de agua. BS es la resistencia a la rotura por punción, DB es la distancia a la rotura por punción, WVP es permeabilidad al vapor de agua y %W es capacidad de retención de agua.*

Fuente	BS		DB		WVP		%W	
	F valor	p-valor						
<i>Modelo</i>	7.21	0.0068	15.62	0.0089	13.75	0.0008	12.13	0.0008
<i>A-Celulosa</i>	3.72	0.0899	9.92	0.0346	6.97	0.0297	0.07	0.8001
<i>B-Quitosano</i>	14.81	0.0049	23.61	0.0083	6.73	0.0319	7.03	0.0226
<i>C-PVOH</i>	11.87	0.0088	28.85	0.0058	4.64	0.0634	29.28	0.0002
<i>AB</i>	2.64	0.1429	6.27	0.0665	34.67	0.0004		
<i>AC</i>	0.86	0.3817	71.93	0.0011	24.69	0.0011		
<i>BC</i>	9.39	0.0155	32.89	0.0046	4.83	0.0593		
<i>A<sup>2</sup></i>			6.10	0.0690				
<i>B<sup>2</sup></i>			12.42	0.0244				
<i>C<sup>2</sup></i>			10.15	0.0333				
<i>Falta de Ajuste</i>	3.05	0.2673	4.63	0.1777	4.19	0.2055	0.87	0.6400

La Figura 11 muestra la respuesta de superficie obtenida del efecto de la concentración de celulosa, quitosano y PVOH sobre la resistencia de punción de las películas. Las películas de celulosa regenerada pura mostraron valores de BS con ligeras variaciones en función de la concentración de celulosa. Sin embargo, la celulosa mostró un importante efecto sobre la BS en presencia de quitosano o PVOH. Por lo tanto, el comportamiento de las películas dependió principalmente de la combinación celulosa-quitosano, celulosa-PVOH y la combinación de celulosa con ambos polímeros. Mezclando celulosa con quitosano, a una menor concentración de celulosa, los valores

de BS disminuyeron ligeramente cuando la concentración de quitosano aumentó. Este comportamiento cambió a mayores concentraciones de celulosa, aumentando ligeramente los valores de BS al aumentar la concentración de quitosano. Se observa un efecto similar al mezclar celulosa con PVOH. Los resultados indican que la interacción entre el quitosano-celulosa o la celulosa-PVOH en alta concentración de celulosa, mejoró la resistencia a la perforación de las películas aumentando de 1608 a 2138 g. Los valores fueron acordes con los previamente publicados para las películas de quitosano puro, siendo de 1234 y 1981 g para películas de quitosano de bajo y alto peso molecular, respectivamente (Leceta et al., 2013). La mezcla de películas de celulosa con quitosano y PVOH aumentó significativamente los valores de BS. Este efecto fue más notable a una alta concentración de celulosa, ya que las películas alcanzaron valores de 6291 g, casi seis veces más altos que el valor mínimo obtenido. El efecto del quitosano y el PVOH fue más significativo cuando se utilizaron ambos polímeros, probablemente debido a que la interacción quitosano-PVOH generó nuevos enlaces que aumentaron la resistencia a la perforación. Otros autores han observado también efectos similares para las películas a base de PVOH y quitosano. La mejora de la resistencia a la perforación por punción ha sido reportada previamente en películas a base de carboximetilcelulosa y en películas a base de gelatina con PVOH (Carvalho et al., 2009; Muppalla et al., 2014).

Además, el quitosano desempeñó un papel de refuerzo en las películas de kefirán, mejorando las propiedades mecánicas cuando la concentración de quitosano aumentaba. Los autores explicaron este comportamiento debido a la capacidad del quitosano para promover los puentes de hidrógeno en la matriz de la película (Sabaghi et al., 2015).

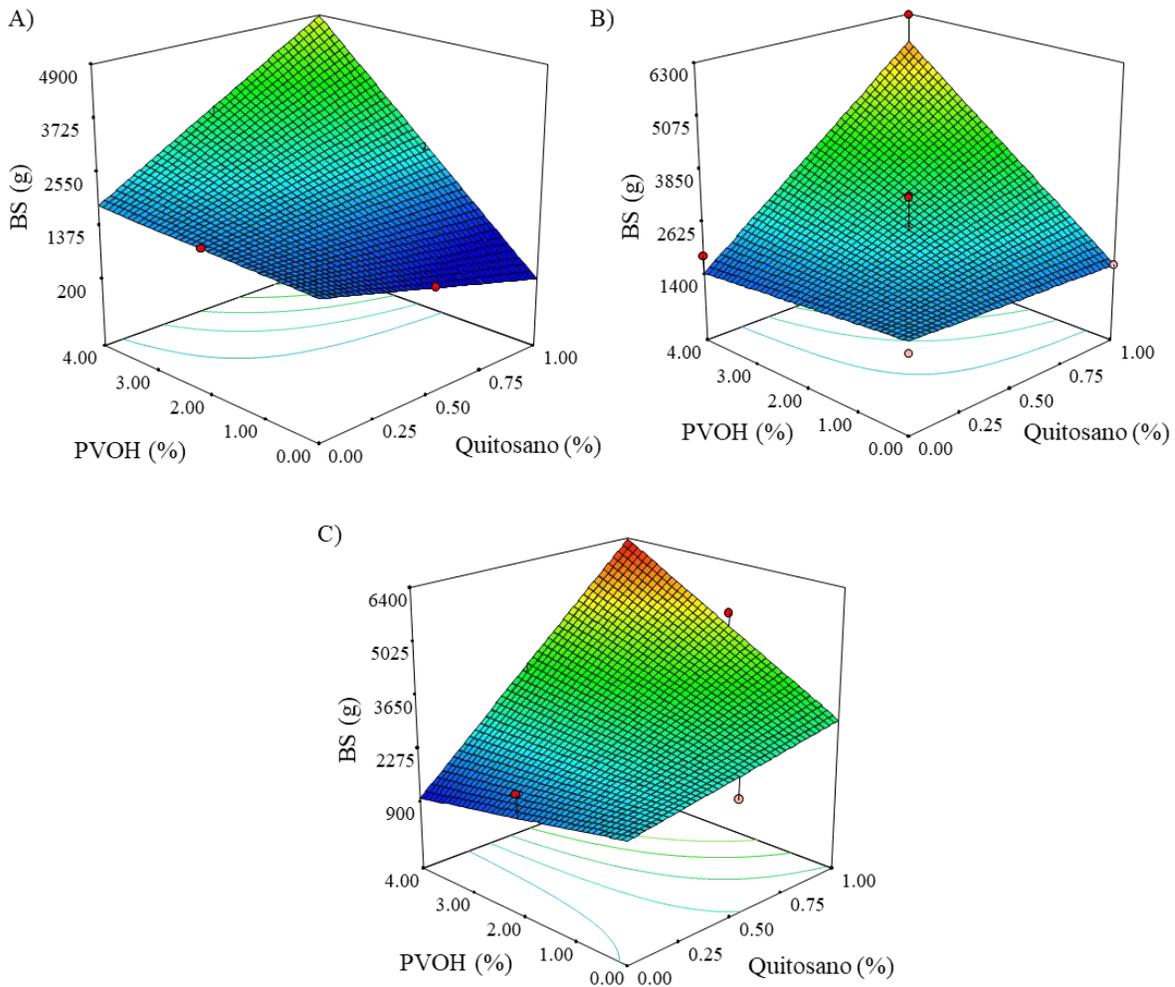


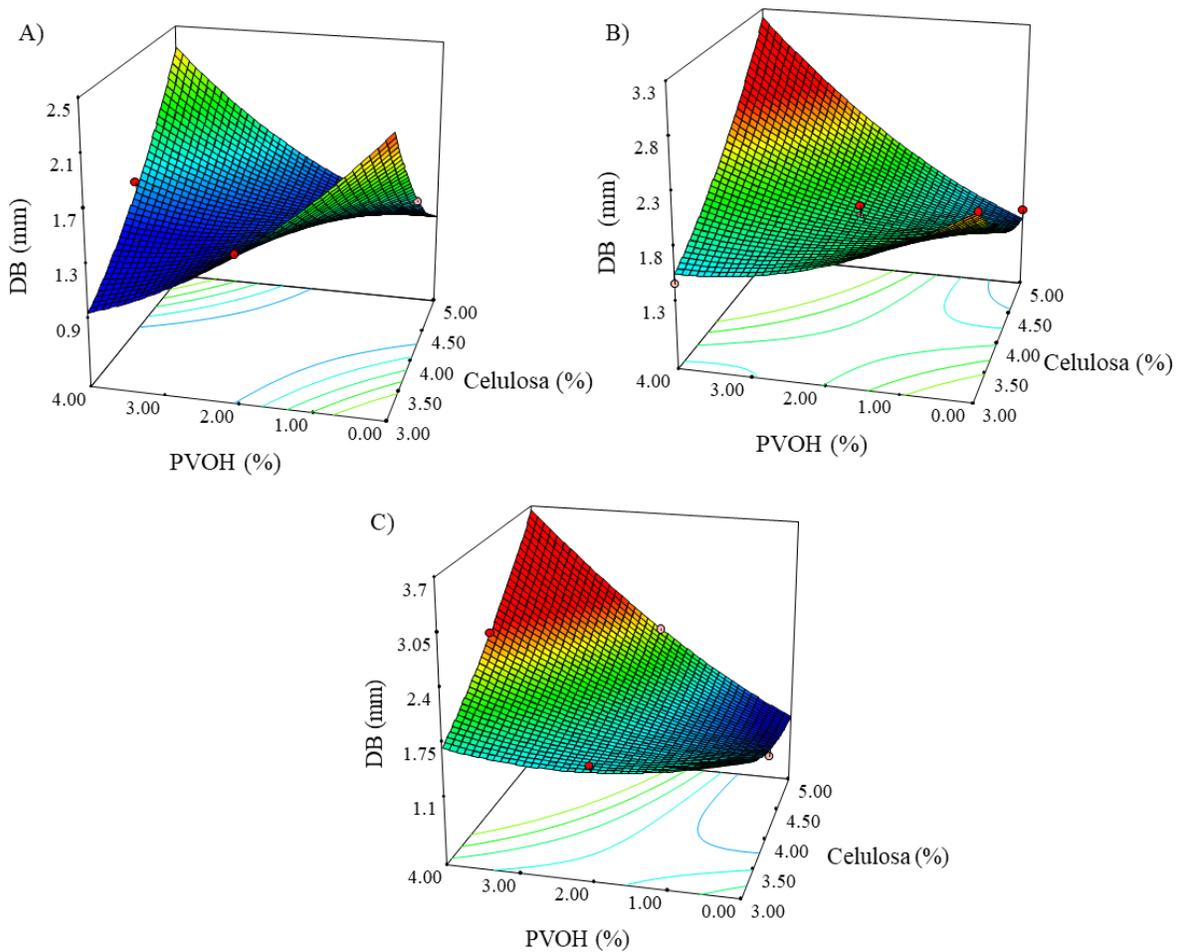
Figura 11. Superficie de respuesta de efecto de la concentración de las películas en la resistencia a la punción (BS). A) Películas con un 3% (p/p) de celulosa, B) Películas con un 4% (p/p) de celulosa, C) Películas con un 5% (p/p) de celulosa.

Las películas mostraron valores de DB (elasticidad de punción) de 1.25 a 2.52 mm. Los datos experimentales se ajustaron siguiendo un modelo cuadrático. El experimento 3 se descartó al detectarse como un valor atípico. El análisis ANOVA se muestra en la Tabla 8. El valor F fue de 15.6 y  $p < 0.009$ , lo que implica que el modelo es significativo. El valor de  $r^2$  calculado fue 0.97 y el valor de precisión adecuada fue 12.3, indicando una señal adecuada. Los valores F indican que la interacción celulosa-PVOH tuvo mayor efecto, seguido de la interacción quitosano-PVOH y el efecto lineal de la concentración de quitosano y PVOH. El efecto cuadrático de la concentración de quitosano y PVOH,

junto con el efecto lineal de la concentración de celulosa tuvo un menor efecto sobre la DB. Por último, la interacción celulosa-quitosano y el efecto cuadrático de la concentración de celulosa tuvo un efecto no significativo sobre los valores DB. La Ecuación 18 predice la respuesta en DB usando valores reales de concentración para los componentes de la película.

$$DB \text{ (mm)} = 6.85 - 1.96 \cdot \text{Celulosa}(\%) - 0.47 \cdot \text{Quitosano}(\%) - 1.60 \cdot \text{PVOH}(\%) + 0.28 \cdot \text{Celulosa}(\%) \cdot \text{Quitosano}(\%) + 0.34 \cdot \text{Celulosa}(\%) \cdot \text{PVOH}(\%) + 0.32 \cdot \text{Quitosano}(\%) \cdot \text{PVOH}(\%) + 0.16 \cdot \text{Celulosa}^2(\%) - 0.92 \cdot \text{Quitosano}^2(\%) + 0.05 \cdot \text{PVOH}^2(\%) \quad (\text{Ec. 18})$$

La respuesta de la superficie al efecto de la concentración de celulosa, quitosano y PVOH sobre la elasticidad de punción de las películas se muestra en la Figura 12. Las concentraciones de PVOH y de celulosa mostraron el mayor efecto sobre la propiedad de la DB. En las películas que no contenían quitosano o PVOH, el aumento de la celulosa dio lugar a una disminución de los valores de DB, lo que sugiere que el alto contenido de celulosa disminuyó la movilidad de las cadenas, lo que dio lugar a una mayor resistencia a la deformación por punción. La mezcla de celulosa con quitosano y PVOH cambió el comportamiento de las películas sometidas a una deformación por punción. La respuesta fue diferente cuando se combinaron los polímeros, es decir, celulosa-quitosano, celulosa-PVOH o la mezcla de celulosa con ambos polímeros. En las películas formuladas con celulosa y quitosano, los valores de DB dependieron del contenido de celulosa. En las películas de celulosa, el aumento de la concentración de quitosano disminuyó los valores de DB. Este efecto fue más notable a una menor concentración de celulosa. Los valores de DB publicados para película de quitosano puro fueron de 2 mm (García, Pinotti, Martino, & Zaritzky, 2004), de acuerdo con los valores de resistencia a la deformación por punción obtenidos en el presente trabajo. Según los datos obtenidos, se promovieron nuevas interacciones entre quitosano y celulosa a un mayor contenido de celulosa. En películas a base de kefirán, se observó una mejora de la deformación por punción con la presencia de PVOH (Sabaghi et al., 2015).



*Figura 12. Predicción del modelo para el efecto de la celulosa, el quitosano y el alcohol polivinílico (PVOH) en la elasticidad de punción (DB) de las películas comestibles. A) Películas con 0% (p/p) de quitosano. B) Películas con 0,5% (p/p) de quitosano. C) Películas con 1% (p/p) de quitosano.*

Las películas de kefirán-PVOH mostraron valores de DB similares a los observados en las películas de celulosa y quitosano del presente estudio. En las películas de celulosa-PVOH, la concentración de celulosa modificó la resistencia a la perforación de las películas. A bajas concentraciones de celulosa, los valores de DB disminuyeron cuando el contenido de PVOH aumentó. A mayores concentraciones de celulosa, los valores de la DB aumentaron cuando aumentó el PVOH. Por lo tanto, debido a la buena extensibilidad de las películas puras de PVOH, se observó un efecto plastificante del

PVOH en la película de celulosa, aumentando los valores de deformación (Silva et al., 2008). La deformación por punción en películas a base de gelatina mejoró al añadir PVOH (Alves et al., 2011; Carvalho et al., 2009). El efecto plastificante del PVOH en la película de celulosa se mejoró cuando se añadió también quitosano.

#### **4.1.2. Efecto sobre la permeabilidad al vapor de agua.**

Las películas obtenidas mostraron valores de WVP en el rango de  $1.78 \cdot 10^{-11}$  a  $4.24 \cdot 10^{-11}$  g/m·s·Pa. Los datos experimentales se ajustaron bien usando una ecuación cuadrática. El análisis ANOVA se muestra en la Tabla 8. El valor F del modelo matemático obtenido fue 13.75 y el valor  $p = 0.0008$ , siendo un modelo significativo. El valor de  $r^2$  fue de 0.91. La relación de precisión adecuada obtenida (11.35) fue superior a 4, lo que indicó una señal adecuada. Los valores F de las tres variables mostraron que la permeabilidad al vapor de agua se vio principalmente afectada por las interacciones entre la celulosa y el quitosano y la celulosa y el PVOH. El efecto lineal de la concentración de celulosa, quitosano, PVOH y la interacción quitosano-PVOH mostraron un efecto menor sobre la permeabilidad del vapor de agua. La Ecuación 19 predice la respuesta a la permeabilidad del vapor de agua dependiendo de la concentración de los componentes de la película.

$$\begin{aligned} WVP (g/m \cdot s \cdot Pa) = & -4.66 \cdot 10^{-11} + 1.88 \cdot 10^{-11} \cdot Celulosa(\%) + 6.85 \cdot 10^{-11} \cdot \\ & Quitosano(\%) + 1.42 \cdot 10^{-11} \cdot PVOH(\%) - 1.74 \cdot 10^{-11} \cdot Celulosa(\%) \cdot \\ & Quitosano(\%) - 3.67 \cdot 10^{-11} \cdot Celulosa(\%) \cdot PVOH(\%) + 3.24 \cdot 10^{-12} \cdot Quitosano(\%) \cdot \\ & PVOH(\%) \end{aligned} \quad (\text{Ec. 19})$$

El modelo de la superficie de respuesta se muestra en la Figura 13. La permeabilidad al vapor de agua de las películas dependió principalmente de la interacción celulosa-quitosano y celulosa-PVOH. Las películas obtenidas de una combinación de celulosa con quitosano o PVOH, a bajas concentraciones de quitosano o PVOH, el aumento de la concentración de celulosa dio lugar a valores más altos de WVP (de

$1.86 \cdot 10^{-11}$  a  $3.95 \cdot 10^{-11}$  g/m·s·Pa). Por el contrario, a altas concentraciones de quitosano y PVOH, el aumento de la concentración de celulosa provocó una disminución de los valores de WVP. Manteniendo constante la concentración de celulosa, el aumento del quitosano y de la PVOH dio lugar a ligeros incrementos de los valores de WVP. Este aumento fue menos significativo que el efecto debido al aumento de la concentración de celulosa. El efecto de la celulosa sobre la WVP fue menor cuando se añadió quitosano o PVOH a la formulación de la película. Al añadir tanto el quitosano como el PVOH en la formulación, los valores de WVP aumentaron especialmente a una menor concentración de celulosa.

Los resultados obtenidos concuerdan con los valores que figuran en la literatura. Las películas de la solución de quitosano al 1% (p/v), mostraron valores de WVP en el rango de  $1.5 \cdot 10^{-10}$ - $6.9 \cdot 10^{-10}$  g/m·s·Pa, dependiendo del peso molecular y el disolvente utilizado (Bonilla, Fortunati, Atarés, Chiralt, & Kenny, 2014; Park et al., 2002; Srinivasa, Ramesh, & Tharanathan, 2007). Las películas de PVOH mostraron valores de WVP entre  $1.2 \cdot 10^{-11}$  y  $1.7 \cdot 10^{-11}$  g/m·s·Pa (Bonilla et al., 2014; Jipa et al., 2012). Las películas de gelatina de pescado también mostraron valores de WVP similares ( $3.8 \cdot 10^{-11}$  g/m·s·Pa) (Da Silva E Silva et al., 2018).

La WVP de las películas biodegradables depende de varios factores, entre ellos la estructura, la proporción entre zonas cristalinas y amorfas, las propiedades hidrofílicas e hidrófobas, la interacción entre las principales cadenas poliméricas y la presencia de plastificantes u otros aditivos (Elsabee & Abdou, 2013). Los valores de WVP observados en las películas compuestas desarrolladas estuvieron determinados por las propiedades de permeabilidad de la celulosa.

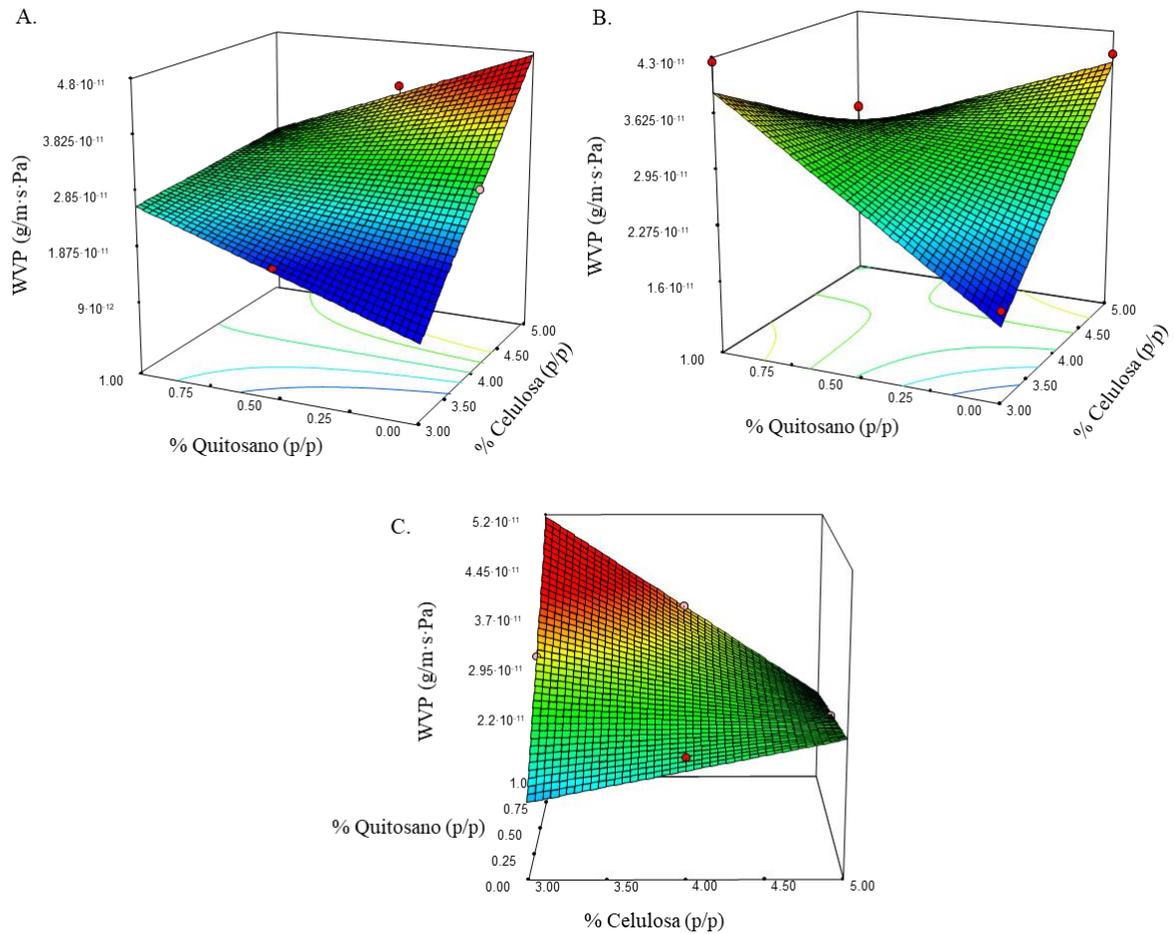


Figura 13. Predicción del modelo del efecto de la concentración de celulosa, quitosano y alcohol polivinílico (PVOH) sobre la permeabilidad al vapor de agua (WVP). A) Películas con 0% (p/p) de PVOH; B) Películas con 2% (p/p) de PVOH; C) Películas con 4% (p/p) de PVOH.

Los valores de WVP aumentaron cuando la concentración de quitosano y de PVOH se incrementó debido a la alta permeabilidad de estos componentes hidrófilos con respecto a la celulosa. La permeabilidad de la celulosa depende de su cristalinidad, ya que las regiones de alta cristalinidad son inaccesibles para las moléculas de agua. La celulosa también contiene un componente paracristalino (área amorfa) que es accesible para las moléculas de agua, impartiendo propiedades hidrófilas a este material (Bedane, Eic, et al., 2015). Las moléculas de agua se difunden preferentemente a través de las áreas amorfas de la matriz polimérica, por lo que el grado de cristalinidad también es importante en el comportamiento de permeabilidad de las películas (Khan et al., 2012).

El aumento de la concentración de celulosa dio lugar a valores más altos de WVP, probablemente debido al aumento de las áreas amorfas que promueven la difusión de las moléculas de agua.

Se han reportado valores de WVP en el rango de  $(1.0 - 1.5)10^{-13}$  y de  $3 \cdot 10^{-14}$  a  $4 \cdot 10^{-14}$  g/m·s·Pa para las películas de polietileno de baja densidad (LDPE) y de polietileno de alta densidad (HDPE), respectivamente, a 90% HR y 38°C. Los valores de permeabilidad al vapor de agua de las películas de celulosa obtenidos fueron de hasta 2 órdenes de magnitud superiores a los de las películas de polietileno (Bedane et al., 2015). Por otro lado, los valores de WVP de las películas obtenidas en este trabajo se encuentran en el mismo rango que los del celofán ( $8.4 \cdot 10^{-11}$  g/m·s·Pa), debido a la similar estructura química de ambos polímeros (García, Pinotti, Martino, & Zaritzky, 2009).

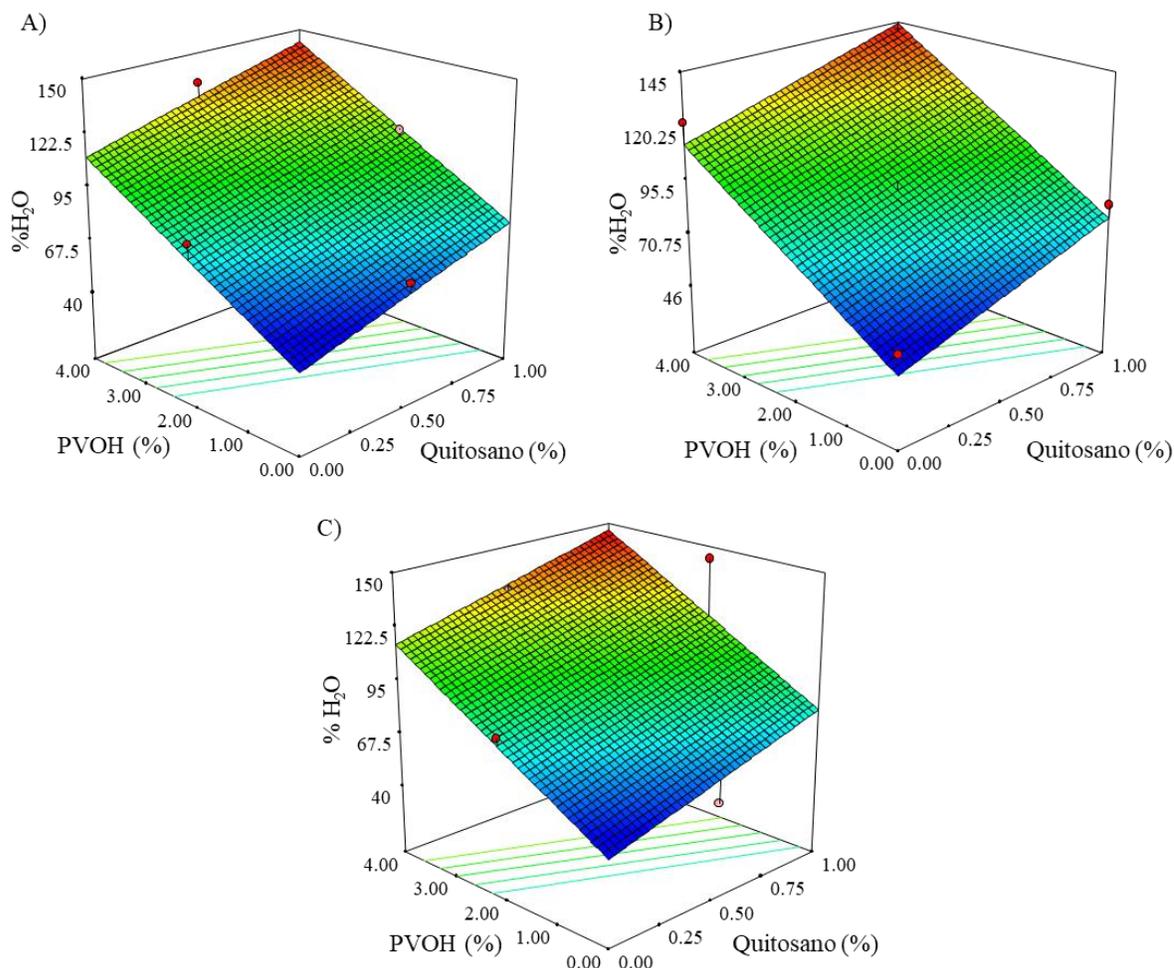
#### **4.1.3. Efecto sobre la retención o adsorción de agua (%W)**

Los valores de %W de las películas desarrolladas oscilaron entre 52.30 y 143.56%. Los datos experimentales se ajustaron bien en un modelo lineal. El análisis ANOVA se muestra en la Tabla 8. El valor F del modelo fue 12.1 y el valor  $p < 0.0008$ , lo que implicó que el modelo sea significativo. El valor de  $r^2$  fue de 0.77 y la precisión adecuada fue de 11, lo que indica una señal adecuada.

La concentración de PVOH fue el principal término que afectó al valor %W. La concentración de quitosano tuvo un efecto lineal menor en %W y el efecto lineal de la concentración de celulosa tuvo un efecto no significativo de acuerdo con los valores de F para cada componente. La Ecuación 20 predice la respuesta de %W.

$$\%W = 39.8 + 1.58 \cdot \text{Celulosa}(\%) + 32.4 \cdot \text{Quitosano}(\%) + 16.5 \cdot \text{PVOH}(\%) \quad (\text{Ec. 20})$$

De acuerdo con la superficie de respuesta (Figura 14), la presencia de PVOH y quitosano aumentaron la capacidad de adsorción de agua, probablemente debido a la naturaleza hidrófila de estos polímeros (Bonilla et al., 2014; Zhuang et al., 2012).



*Figura 14. Predicción del efecto de las concentraciones de celulosa, quitosano y alcohol polivinílico (PVOH) en la adsorción de agua. A) Películas con un 3% (p/p) de celulosa, B) Películas con un 4% (p/p) de celulosa, C) Películas con un 5% (p/p) de celulosa.*

El contenido de PVOH afectó significativamente a las propiedades de %W, aumentando los valores desde 55.45 hasta 122.39 % cuando se añadió el PVOH al 4%. Observando valores previamente publicados para películas biodegradables, se ha reportado un valor de 260% de adsorción de agua de películas a base de gelatina-PVOH (Pal et al., 2007) y de 110% para las películas de almidón-PVOH (Tang et al., 2008).

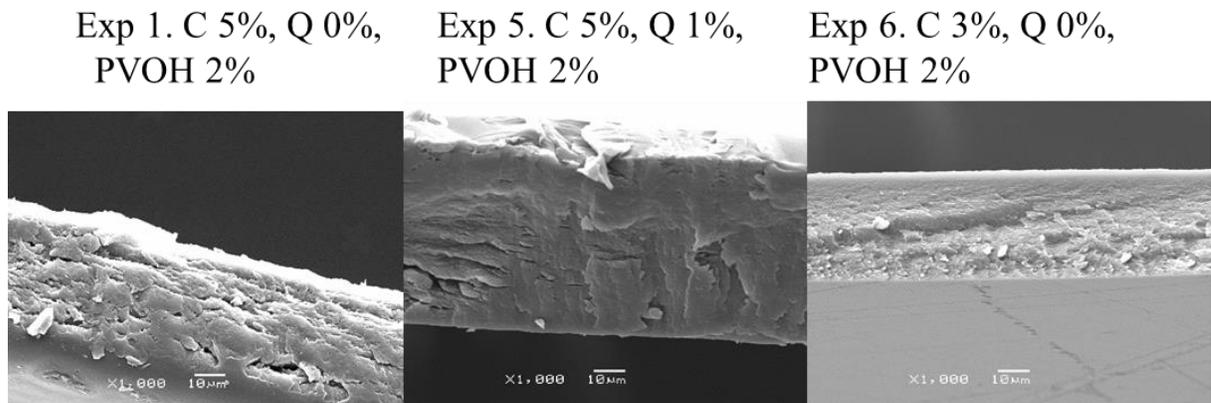
En ausencia de PVOH, el quitosano aumentó ligeramente la adsorción de agua desde 55.45 hasta 84.71%. El efecto del quitosano y el PVOH sobre la adsorción de agua fue mayor en presencia de ambos polímeros, alcanzando el valor máximo de 143.56%.

Se ha reportado un valor de adsorción de agua del 195% para las películas de quitosano puro (Khan et al., 2012), lo que demuestra el alto carácter hidrófilo de este polisacárido.

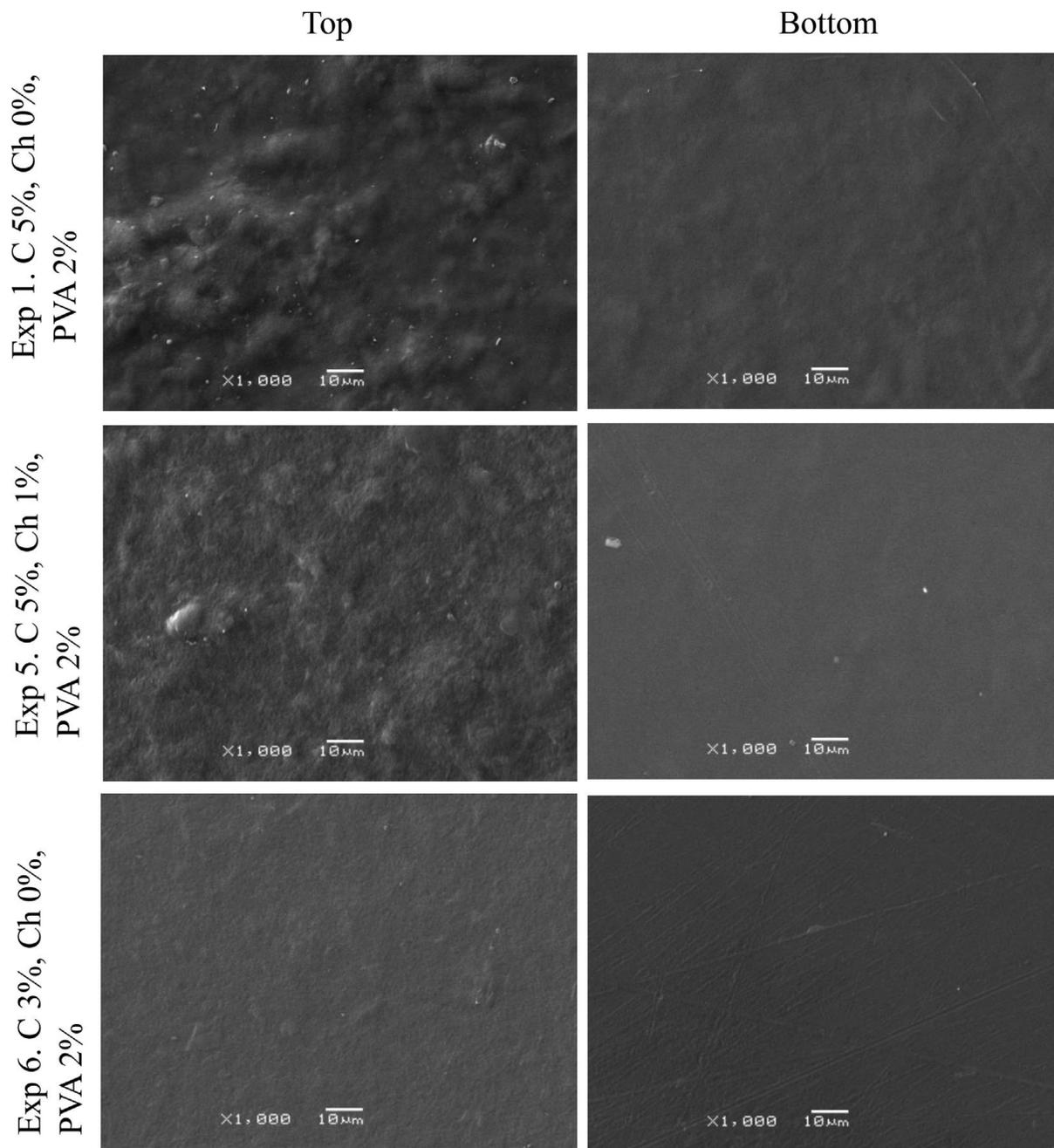
Los valores de adsorción de agua obtenidos en el presente estudio fueron inferiores a los de las películas de quitosano debido principalmente a que los polímeros de celulosa tienen una estructura altamente cristalina, inaccesible a las moléculas de agua, lo que reduce el carácter hidrófilo de las películas desarrolladas. Por otro lado, para las películas de celulosa pura, el valor de %W mostró un ligero aumento en función de la concentración de celulosa, probablemente debido a que la celulosa también tiene una región paracristalina o amorfa sensible a las moléculas de agua. Es posible que la región amorfa haya aumentado al aumentar el contenido de celulosa (Bedane, Eic, et al., 2015).

#### **4.1.4. Microestructura de las películas**

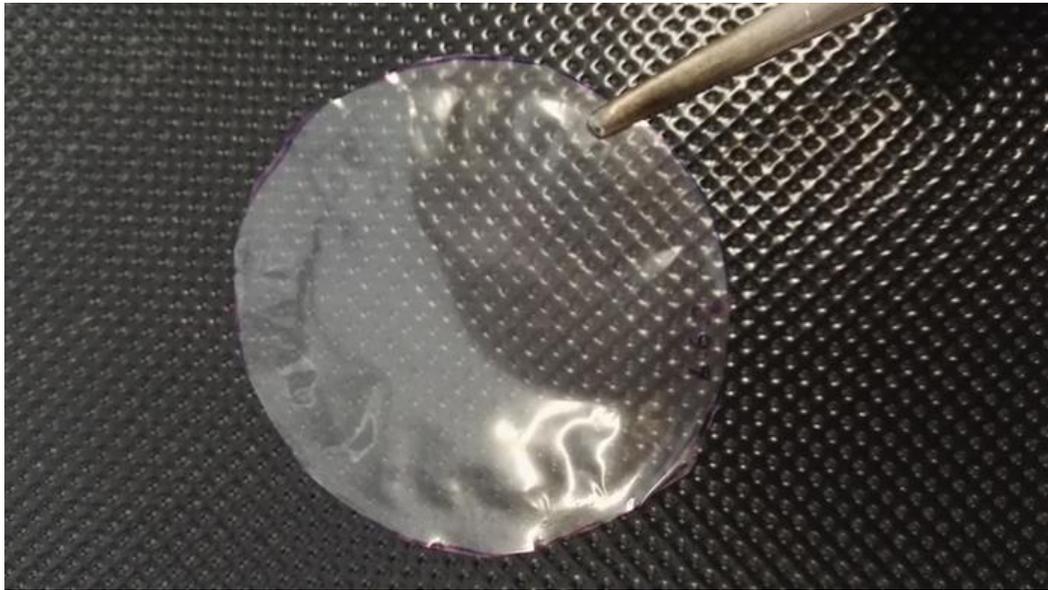
La microestructura de las películas fue analizada a través de las imágenes SEM de la superficie y de la sección transversal. La Figura 15 y Figura 16 muestran las imágenes SEM de las películas obtenidas en los experimentos 1, 5 y 6 y la Figura 17 muestra la transparencia de las películas obtenidas.



*Figura 15. Imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido (SEM) de la sección transversal de las películas obtenidas a base de celulosa regenerada combinadas con quitosano y alcohol polivinílico (PVOH) a diferentes concentraciones de celulosa y quitosano.*



*Figura 16. Imágenes de la superficie superior (Top) e inferior (Bottom) de las películas a base de celulosa regenerada-quitosano-alcohol polivinílico obtenidas con diferentes concentraciones de quitosano (Ch.) y celulosa (C), manteniendo constante la concentración de alcohol polivinílico (PVA).*



*Figura 17. Aspecto visual de las películas de celulosa regenerada-quitosano-alcohol polivinílico.*

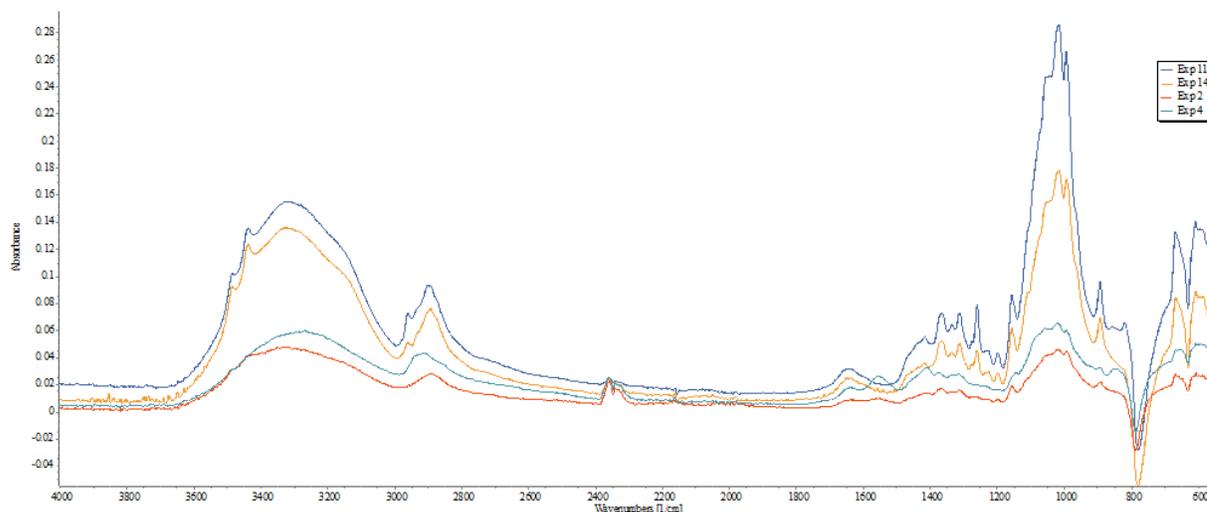
Los experimentos seleccionados permitieron analizar el efecto de la celulosa (3% o 5%) y el quitosano (0% o 1%) en la superficie e interior a una concentración constante de PVOH (2%). La parte superficial inferior mostró una superficie más suavizada y continua. Puede ser debido a que este es el lado en contacto con la placa de Petri cuando se formaron las películas. Las películas mostraron una matriz continua y no se detectaron poros o grietas, lo que indica una estructura densa. La superficie de las películas con menor concentración de celulosa parecía más homogénea que las películas con mayor contenido de celulosa que tienen una superficie más rugosa. La superficie rugosa de las películas compuestas con mayor contenido de celulosa se redujo al añadir quitosano.

Estudios anteriores en los que se utilizaron diferentes medios y condiciones de coagulación mostraron también una disminución de la presencia de poros y grietas al aumentar la concentración de PVOH y quitosano (Zhang et al., 2005). En cuanto a las imágenes de la sección transversal, se observó que el grosor de las películas aumentó con el incremento de la concentración de quitosano y celulosa. La sección transversal de las películas mostró una estructura densa y compacta. Se observó como a una menor concentración de celulosa, se facilitó la organización de las fibras de celulosa, dejando

menos huecos. Las películas de celulosa pura tenían un color ahumado, pero en las formulaciones con PVOH las películas tenían un aspecto translúcido y brillante.

#### **4.1.5. Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)**

Las interacciones entre la celulosa, el quitosano y el PVOH se analizaron mediante mediciones FT-IR. Los espectros FT-IR de las películas desarrolladas del experimento 2, 4, 11 y 14 se muestran en la Figura 18. Los experimentos seleccionados permitieron analizar el efecto del quitosano (1%) (Exp. 2), el PVOH (4%) (Exp. 11), y la interacción quitosano (1%)-PVOH (4%) (Exp. 4) en películas de celulosa regenerada (4%) (Exp. 14).



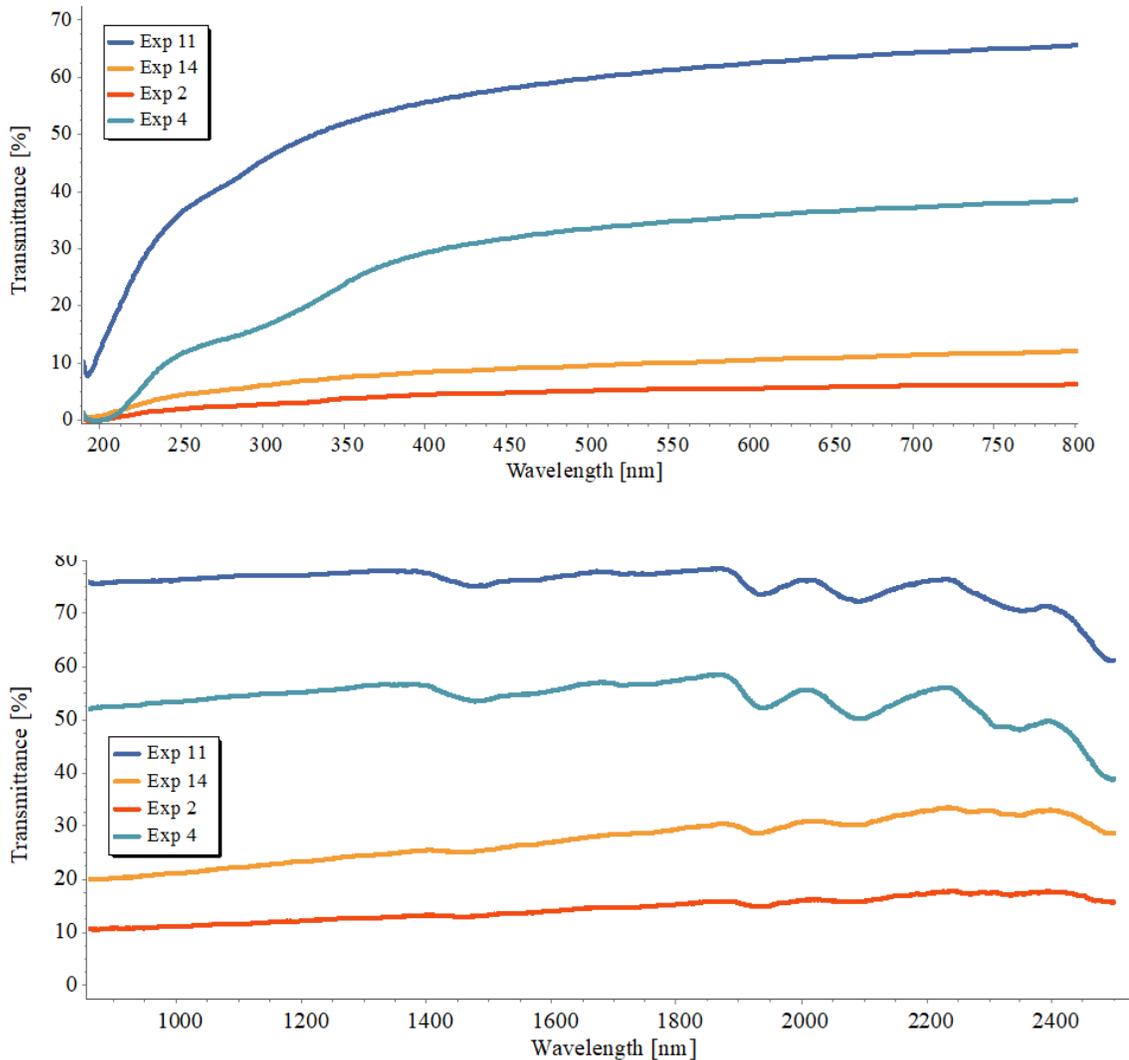
*Figura 18. Perfil FT-IR Spectra de las películas seleccionadas. Composición: Todas las muestras de celulosa (4%), Exp 2 (1% de quitosano, 0% de PVOH), Exp 4 (1% de quitosano, 4% de PVOH), Exp 11 (0% de quitosano, 4% de PVOH), Exp 14 (0% de quitosano, 0% de PVOH).*

Las muestras seleccionadas permitieron observar la interacción entre los componentes de la película a nivel estructural. Los espectros FT-IR mostraron similitudes entre ellos. El pico observado a  $3458\text{ cm}^{-1}$  se atribuye a las regiones de vibración de estiramiento del grupo -OH. Este pico se agudizó y se desplazó a un mayor número de onda con la adición de PVOH a las películas de celulosa pura, debido al aumento de los grupos -OH y su tendencia a formar puentes de hidrógeno, produciendo el desplazaron

el número de onda. Sin embargo, en la región entre 3600-3000  $\text{cm}^{-1}$ , las películas con quitosano mostraron un pico más bajo y se desplazaron a un número de onda más alto. Los picos de -NH también aparecieron en el mismo rango indicando una combinación con el grupo -OH (UI-Islam et al., 2011). Las bandas de vibración alrededor de 2900  $\text{cm}^{-1}$  se atribuyen al grupo alifático C-H que se extiende desde los grupos alquílicos. Las bandas para el experimento 14 a 2900  $\text{cm}^{-1}$  se desplazaron a números de onda más altos que para los experimentos 4 y 11 como resultado de la interacción entre el PVOH con el -CH<sub>2</sub> de la celulosa (Xiao et al., 2003). Los espectros FT-IR de los experimentos 2 y 4 mostraron un pico característico a 1555  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponde a la vibración de deformación del NH<sub>2</sub>, indicando la presencia de quitosano (UI-Islam et al., 2011; Zhuang et al., 2012). Se observó el pico característico de la celulosa a 1055  $\text{cm}^{-1}$ , debido al anillo de piranosa C-O-C produciendo las vibraciones de los alcoholes alifáticos primarios y secundarios de la celulosa (Rouhi et al., 2017).

#### **4.1.6. Propiedades de barrera de luz y transparencia**

Las películas biodegradables con buenas barreras a la luz UV y una adecuada transparencia son idóneas para aplicaciones en alimentos. El bajo nivel de transmitancia en el rango de la región UV puede hacer de estas películas una excelente barrera, ayudando a prevenir la oxidación de lípidos por acción de la luz UV. La oxidación de los lípidos produce sabores indeseables que disminuyen la vida útil de los productos. Por lo tanto, los materiales de empaque contra la luz UV han recibido una gran atención. Además, los polímeros preferidos por los consumidores son aquellos que poseen una mayor transparencia que permita ver los alimentos (Garavand et al., 2017; Guo et al., 2014). Los espectros de transmitancia en el rango de UV, luz visible e infrarrojo cercano de 190 nm a 2300 nm de muestras seleccionadas se muestran en la Figura 19. Las muestras seleccionadas permitieron observar el efecto del quitosano y el PVOH sobre las propiedades ópticas. El rango de transmisión de la luz ultravioleta está entre 100 y 400 nm. En el rango de 180 a 400 nm, las películas de celulosa pura regenerada mostraron valores de transmitancia muy bajos por debajo del 8.5%.



*Figura 19. Perfil del espectro UV-VIS-NIR de las películas seleccionadas. Transmittance: transmitancia; wavelength: longitud de onda. Composición: Todas las muestras de celulosa (4%), Exp 2 (1% de quitosano, 0% de PVOH), Exp 4 (1% de quitosano, 4% de PVOH), Exp 11 (0% de quitosano, 4% de PVOH), Exp 14 (0% de quitosano, 0% de PVOH).*

La presencia de quitosano disminuyó la transmisión de la luz ultravioleta por debajo del 4.9%. Sin embargo, el PVOH aumentó la transmisión de luz UV de las películas hasta el 55%. Una vez más, la adicción de quitosano facilitó la disminución de los valores de transmitancia en películas con PVOH, hasta valores medios de 29%. Por

otro lado, los valores de transparencia obtenidos para el experimento 2, 4, 11 y 14 fueron 11.91, 14.68, 24.50 y 13.94, respectivamente. El PVOH aumenta la transparencia de las películas y, por el contrario, el quitosano aumenta la opacidad de las películas. Las películas desarrolladas mostraron valores óptimos de transparencia, similares a los valores de los polímeros sintéticos (Han & Floros, 1997; Lee et al., 2008).

#### **4.1.7. Análisis térmico de las películas**

Se midieron las propiedades térmicas de las películas con la formulación correspondiente al experimento 2, 4, 11 y 14, para analizar el efecto del quitosano y el PVOH sobre la estabilidad térmica de las películas. La Figura 20 muestra los perfiles DSC de las películas seleccionadas. El primer pico endotérmico comienza a 60°C, que corresponde a la volatilización del agua de las muestras de las películas (Garavand et al., 2017). El pico endotérmico a unos 220 °C en las curvas DSC del experimento 4 y 11, corresponde a la degradación térmica del PVOH (Bonilla et al., 2014). Este pico fue mayor y más agudo para el experimento 4, debido a la presencia de PVOH y la interacción quitosano-PVOH. Los picos entre 250 y 350 °C corresponden a la temperatura de inicio de la degradación térmica de la celulosa (Liu et al., 2011). La presencia de PVOH aumentó la estabilidad térmica de las películas, lo que se atribuye al aumento de la interacción entre los plastificantes y las películas de celulosa (Morgado et al., 2011).

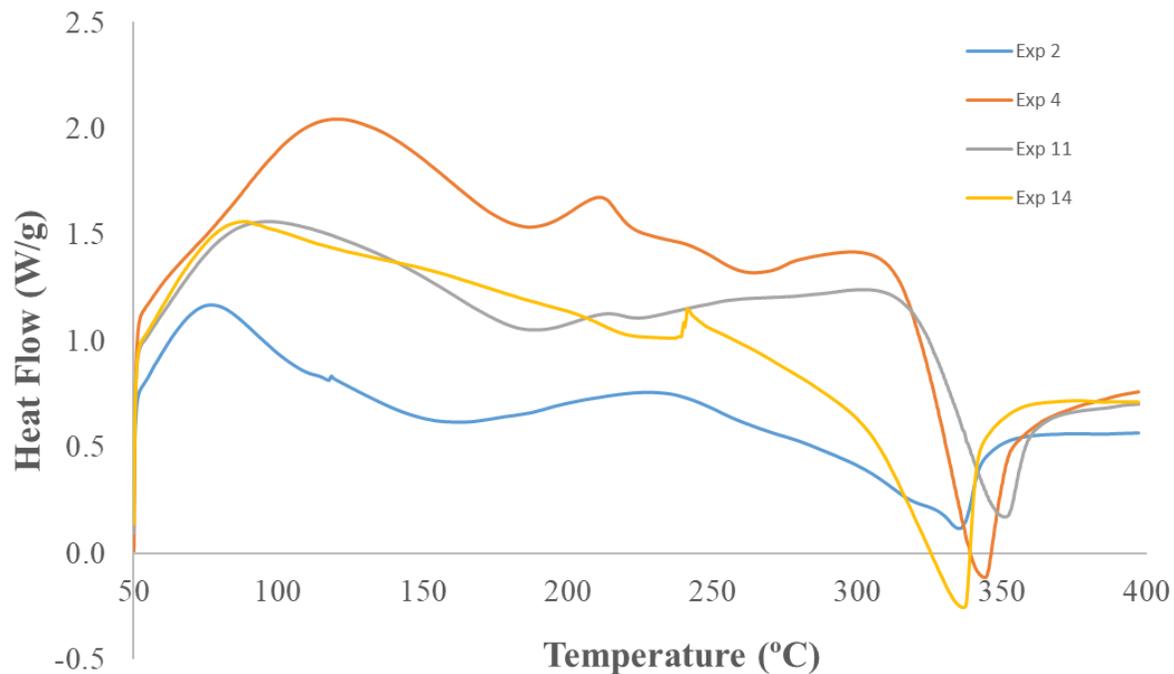


Figura 20. Termograma obtenido por calorimetría diferencial de barrido de películas seleccionadas. Composición: Todas las muestras de celulosa (4%), Exp 2 (1% de quitosano, 0% de PVOH), Exp 4 (1% de quitosano, 4% de PVOH), Exp 11 (0% de quitosano, 4% de PVOH), Exp 14 (0% de quitosano, 0% de PVOH).

## **4.2. Caracterización de películas compuestas a base de celulosa bacteriana combinadas con quitosano y alcohol polivinílico**

Se obtuvieron películas biodegradables utilizando celulosa bacteriana, PVOH y quitosano en varias concentraciones, siguiendo el diseño experimental que se muestra en la Tabla 9. La concentración de PVOH en el baño osciló entre el 0 y 4% (p/p) y la de quitosano entre el 0 y 1% (p/p). A mayores concentraciones de quitosano y PVOH, el baño era muy viscoso, lo que producía películas demasiado gruesas. El espesor medio de las películas y los resultados obtenidos para las variables dependientes de las pruebas de contenido de humedad en equilibrio y pruebas de tensión (TS, %E, YM y T) se muestran en la Tabla 9. En la Tabla 10 se muestran los resultados obtenidos para las variables dependientes obtenidas en las pruebas de punción (BS y DB), pruebas de permeabilidad (WVP), retención de agua (%W) y solubilidad (%S). El efecto del PVOH y del quitosano sobre las variables dependientes se modelaron utilizando una ecuación polinómica de segundo orden. Los resultados del ANOVA de las variables dependientes se muestran en la Tabla 11 - 14, que también muestran los valores estadísticos de ajuste de  $r^2$ , el  $r^2$  predicho, el  $r^2$  ajustado y la precisión adecuada para cada variable dependiente analizada.

Resultados. Caracterización de películas compuestas a base de celulosa bacteriana combinadas con quitosano y alcohol polivinílico

Tabla 9. Diseño de experimentos para el estudio de películas a base de celulosa bacteriana combinadas con quitosano y alcohol polivinílico (PVOH). Resultados experimentales de las propiedades de espesor, contenido de humedad en equilibrio y propiedades de tensión. MC es el contenido de humedad en el equilibrio de cada muestra después de haber sido almacenada en desecadores con sal saturada de bromuro de sodio durante 5 días, TS es la resistencia a la tensión, %E es el porcentaje de elasticidad hasta la rotura, YM es el módulo de Young y T es tenacidad.

Exp.	Quitosano % (p/p)	PVOH % (p/p)	Espesor Mm	MC %	TS MPa	%E %	YM MPa	T MJ/m <sup>3</sup>
1	0	0	2.08·10 <sup>-2</sup>	1.82	20.76	2.28	1043.88	0.26
2	0	2	5.07·10 <sup>-2</sup>	8.58	30.59	4.60	1595.16	1.16
3	0	4	6.62·10 <sup>-2</sup>	8.06	27.50	9.99	1055.57	2.48
4	0.5	0	2.36·10 <sup>-2</sup>	6.41	33.37	4.60	1443.45	1.12
5	0.5	2	3.98·10 <sup>-2</sup>	8.73	38.89	4.71	2247.82	1.29
6	0.5	4	5.04·10 <sup>-2</sup>	8.46	38.29	5.57	1825.22	5.94
7	1	0	2.99·10 <sup>-2</sup>	12.55	39.28	7.08	1579.59	1.92
8	1	2	5.17·10 <sup>-2</sup>	10.68	41.65	13.20	1363.63	3.41
9	1	4	5.71·10 <sup>-2</sup>	9.89	36.81	21.82	1174.37	7.18

*Tabla 10. Diseño de experimento para el estudio de películas bacterianas a base de celulosa bacteriana combinadas con quitosano y alcohol polivinílico (PVOH). Resultados experimentales de las pruebas de punción, permeabilidad, retención de agua y solubilidad. T es la tenacidad, BS es la resistencia a la punción, DB es la elasticidad de punción, WVP es la permeabilidad al vapor de agua, %W es la adsorción o retención de agua y %S es el porcentaje de solubilidad de las películas.*

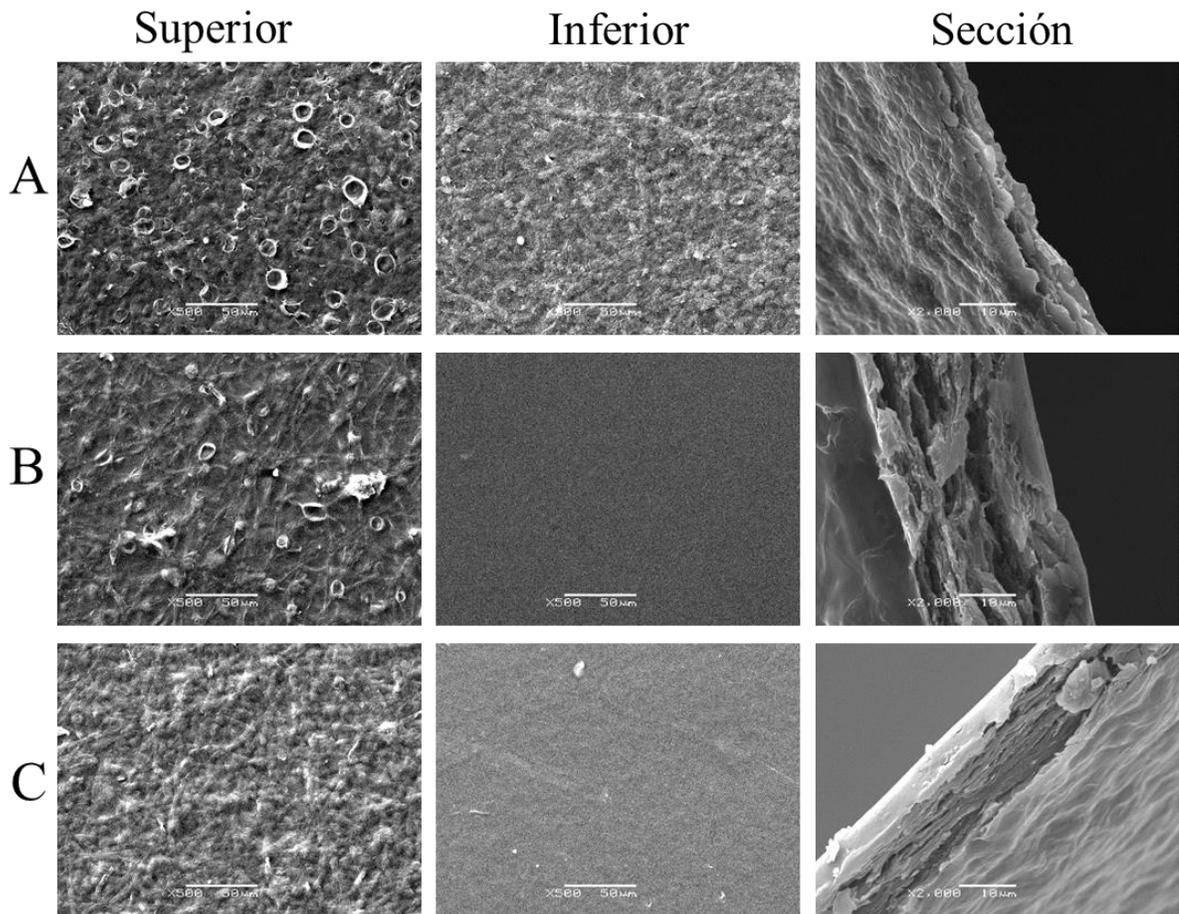
Exp.	Quitosano % (p/p)	PVOH % (p/p)	BS g	DB mm	WVP g/m s Pa	%W %	%S %
1	0	0	58.88	0.39	$2.38 \cdot 10^{-11}$	364.78	9.37
2	0	2.0	543.02	0.97	$1.47 \cdot 10^{-11}$	224.52	46.91
3	0	4.0	1054.04	1.37	$1.85 \cdot 10^{-11}$	164.49	41.96
4	0.5	0	489.98	1.31	$2.46 \cdot 10^{-11}$	157.79	4.53
5	0.5	2.0	1312.33	1.60	$2.06 \cdot 10^{-11}$	345.99	32.08
6	0.5	4.0	2878.19	2.75	$2.21 \cdot 10^{-11}$	368.35	36.82
7	1.0	0	1067.35	1.71	$2.79 \cdot 10^{-11}$	96.16	8.14
8	1.0	2.0	2640.13	2.36	$2.68 \cdot 10^{-11}$	478.73	29.71
9	1.0	4.0	3234.62	3.24	$3.40 \cdot 10^{-11}$	397.09	33.13

#### 4.2.1. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Las superficies de ambos lados y la sección transversal de las películas obtenidas en los experimentos 1, 3, 5, 6, 7, 8 y 9 fueron observadas por microscopía electrónica de barrido (SEM). La Figura 21 y Figura 22 muestran la superficie superior e inferior de las películas, así como la sección transversal. Los experimentos 1, 3 y 7 permitieron analizar el efecto del PVOH y del quitosano por separado sobre la microestructura de las películas de celulosa bacteriana. Los experimentos 1, 5, 6, 8 y 9 permitieron analizar las modificaciones en la microestructura de la celulosa bacteriana debido a la adición conjunta de PVOH y quitosano.

Como se muestra en la Figura 21a, las películas de celulosa bacteriana presentaron una matriz continua con una superficie porosa. La parte inferior mostraba una superficie más densa y una capa rugosa en el lado opuesto. Probablemente, la diferencia entre ambos lados dependió del proceso de fermentación, siendo la capa menos densa y más porosa la última capa de formación. La sección transversal de las películas de celulosa bacteriana (Figura 21a) mostraron una estructura laminada, formada capa por capa. En general, la adición de PVOH y quitosano dio lugar a un suavizado la superficie, disminuyendo la rugosidad y la porosidad (Figura 21b y Figura 21c).

Los lados inferiores fueron más lisos que los superiores porque estuvieron en contacto directo con la placa de Petri durante el secado. De acuerdo con las imágenes SEM de la sección transversal del experimento 3 (Figura 21b) y 7 (Figura 21c), el PVOH y el quitosano aumentaron el grosor y la densidad de la película promoviendo una estructura más compacta. El aumento del espesor fue más importante en las formulaciones que contenían PVOH que en las que contenían quitosano. El quitosano y el PVOH tuvieron un efecto similar sobre la superficie y sobre la microestructura que el de las películas de celulosa regenerada previamente estudiadas.



*Figura 21. Imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido de las películas de los experimentos 1, 3 y 7. A) Muestra de celulosa bacteriana pura. B) Celulosa bacteriana-alcohol polivinílico 4% (p/p). C) Celulosa bacteriana-quitosano 1% (p/p).*

La adición simultánea de quitosano y PVOH dio lugar a una superficie lisa, disminuyendo la rugosidad y la porosidad (Figura 22b-e). Este efecto fue más notable a una concentración más alta de PVOH en presencia de quitosano (Figura 22c y Figura 22e). Como se observó en los experimentos anteriores, los lados inferiores fueron más lisos que los superiores porque estaban en contacto con la placa de Petri durante el proceso de secado.

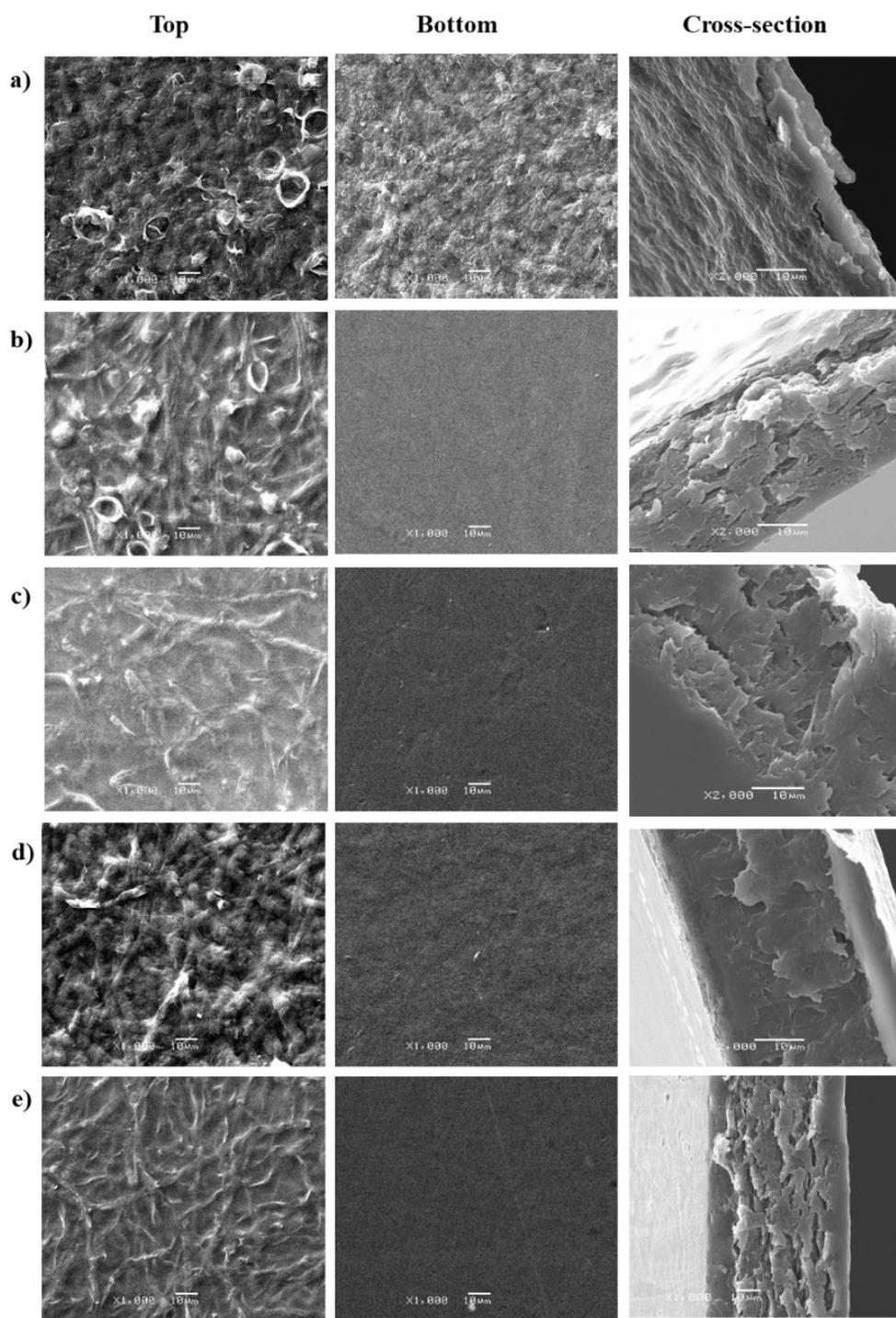


Figura 22. Microscopía electrónica de barrido de la parte superior, inferior y transversal de las muestras 1, 5, 6, 8 y 9 de las películas. A) Celulosa bacteriana pura. B) Celulosa bacteriana, quitosano (0,5% p/p) y alcohol polivinílico (2% p/p). C) Celulosa bacteriana, quitosano (0,5% p/p) y alcohol polivinílico (4% p/p). D) Celulosa bacteriana, quitosano (1% p/p) y alcohol polivinílico (2% p/p). E) Celulosa bacteriana, quitosano (1% p/p) y alcohol polivinílico (4% p/p).

De acuerdo con las imágenes SEM de la sección transversal, el PVOH y el quitosano aumentaron notablemente el grosor y la densidad de la película promoviendo una estructura más compacta. En altas concentraciones de quitosano y en presencia de PVOH, la formación de un revestimiento en los lados inferior y superior fue más evidente (Figura 22d y Figura 22e). Este revestimiento de las películas de CB no era tan evidente a bajas concentraciones de quitosano. El aumento del contenido de quitosano permitió mejorar las interacciones entre el quitosano y el PVOH, lo que dio lugar a una retención homogénea de los polímeros en la superficie del CB.

#### 4.2.2. Efecto sobre el espesor de la película

La formulación de las películas afectó el grosor de las películas compuestas. Los valores de espesor variaron entre  $2.08 \cdot 10^{-2}$  a  $5.71 \cdot 10^{-2}$  mm. Los datos se ajustaron bien a un modelo matemático lineal. El valor F del modelo fue de 15.03 y  $p < 0.05$ , siendo significativo. Los valores F y  $p$  de los términos permiten determinar qué componente tiene mayor efecto en la respuesta. De acuerdo con los valores  $p$  de los términos del modelo, sólo la concentración de PVOH mostró un efecto significativo sobre el espesor de la película ( $p < 0.05$ ). La concentración de quitosano no fue significativa.

*Tabla 11. El análisis de varianza (ANOVA) para cada una de las variables dependientes del estudio. PVOH es alcohol polivinílico, MC es el contenido de humedad de equilibrio de cada muestra después de haber sido almacenada en desecadores con sal saturada de bromuro de sodio durante 5 días, TS es la resistencia a la tensión, %E es el porcentaje de elongación hasta la rotura y YM es el módulo de Young.*

Fuente	Espesor		MC		TS		%E		YM	
	F valor	p-valor								
Modelo	15.03	0.0046	9.04	0.0184	30.63	0.0089	9.80	0.0129	302.83	0.0033
A-Quitosano	0.003	0.9574	15.96	0.0104	107.55	0.0019	10.39	0.0181	63.87	0.0153
B-PVOH	30.06	0.0015	2.35	0.1862	5.98	0.0920	9.21	0.0230	153.05	0.0065
AB			8.81	0.0312	9.05	0.0573			79.11	0.0124
A <sup>2</sup>					14.23	0.0326			1054.5	0.0009
B <sup>2</sup>					16.35	0.0272			655.51	0.0015

La Tabla 12 muestra los valores estadísticos de ajuste de  $r^2$ , el  $r^2$  predicho, el  $r^2$  ajustado y la precisión adecuada para cada variable. El  $r^2$  ajustado compara la bondad de ajuste de los modelos de regresión que contienen diferentes variables independientes. La predicción de  $r^2$  es una medida de la capacidad del modelo para predecir un valor de respuesta. El  $r^2$  ajustado y el  $r^2$  predicho deben estar dentro de un margen de aproximadamente 0.20 entre sí para estar en un acuerdo razonable. El valor de  $r^2$  fue de 0.83 y el  $r^2$  predicho estuvo en razonable acuerdo con el  $r^2$  ajustado. La relación de la precisión adecuada indicó una señal adecuada.

*Tabla 12. Parámetros estadísticos de ajuste del modelo para los parámetros de espesor, contenido de humedad en equilibrio y propiedades de tensión. MC es el contenido de humedad en el equilibrio de cada muestra después de haber sido almacenada en desecadores con sal saturada de bromuro de sodio durante 5 días, TS es la resistencia a la tensión, %E es el porcentaje de elasticidad hasta la rotura y YM es el módulo de Young.*

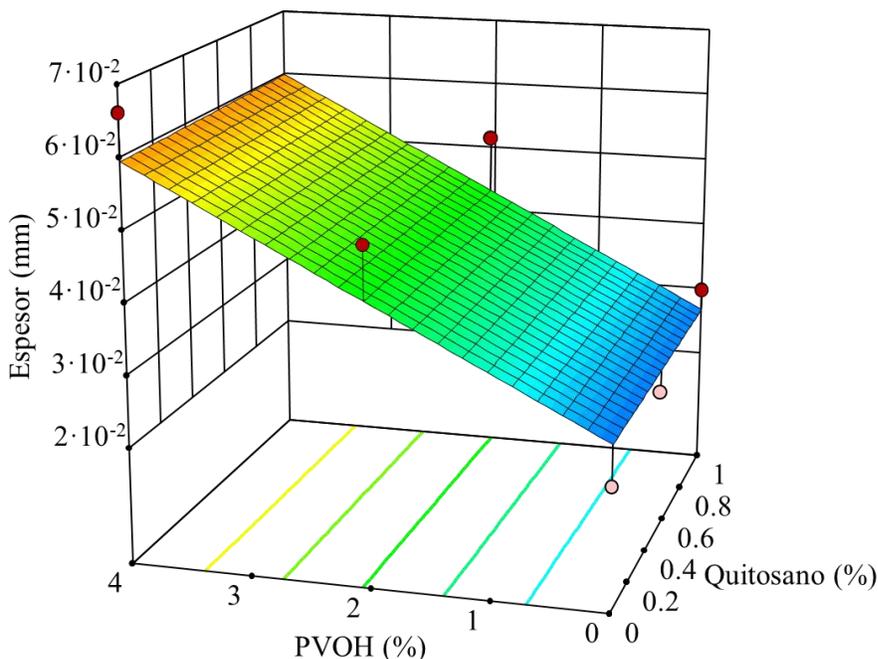
	<b>Espesor</b>	<b>MC</b>	<b>TS</b>	<b>%E</b>	<b>YM</b>
$r^2$	0.83	0.98	0.98	0.77	0.99
Predicho $r^2$	0.62	0.97	0.95	0.69	0.99
Ajustado $r^2$	0.78	0.95	0.79	0.45	0.98
Adecuada precisión	7.83	25.55	16.94	8.85	48.82

La Ecuación 21 predice los valores de espesor de las películas de CB-quitosano-PVOH en función de las concentraciones experimentales de quitosano y PVOH.

$$Espesor (mm) = 2.66 \cdot 10^{-2} + 3.37 \cdot 10^{-4} \cdot Quitosano (\%) + 8.29 \cdot 10^{-3} \cdot PVOH(\%) \quad (Ec. 21)$$

De acuerdo con la superficie de respuesta (Figura 23), el PVOH aumentó el grosor de las películas de CB como se observó en las imágenes SEM. El análisis estadístico

demostró que el efecto del quitosano no fue significativo. Sin embargo, las imágenes SEM mostraron que un mayor contenido de quitosano promovía la retención homogénea de ambos polímeros, quitosano y PVOH, en ambos lados de las películas.



*Figura 23. Modelo predictivo del efecto del alcohol polivinílico (PVOH) y el quitosano en el espesor de las películas a base de celulosa bacteriana.*

#### **4.2.3. Efecto sobre el contenido de humedad en el equilibrio**

Se analizó el contenido de la humedad de las muestras. La celulosa bacteriana, el quitosano y el PVOH son componentes hidrófilos, pero con diferente afinidad y capacidad de interactuar con el agua. El contenido de humedad puede modificar las propiedades de las películas, principalmente las propiedades mecánicas. Por lo tanto, la determinación del contenido de humedad de cada formulación puede ayudar a interpretar las otras pruebas. El contenido de humedad de las películas reveladas acondicionadas en desecadores con solución saturada de bromuro de sodio durante 5 días osciló entre el 1.82 y el 12.55%. Los datos se ajustaron a un modelo matemático de interacción de dos

factores. La prueba 2 fue ignorada ya que fue detectada como un valor atípico en la prueba de distancia de Cook. El valor F del modelo fue 9.04 y  $p < 0.05$  lo que indica que el modelo fue significativo. El valor de  $r^2$  fue de 0.98. En este caso, la diferencia entre el  $r^2$  predicho (0.97) y el  $r^2$  ajustado (0.95) fue inferior a 0.2, lo que es razonable. La precisión adecuada obtenida fue de 25.65, lo que implica una señal adecuada.

Los valores F de los términos del modelo indicaron que el contenido de humedad de las muestras se veía afectado principalmente por la concentración de quitosano, seguida de la interacción entre el quitosano y el PVOH. La Ecuación 22 predice el contenido de humedad de las películas de celulosa bacteriana en función de las concentraciones de quitosano y PVOH.

$$\text{Contenido de humedad (\%)} = 1.72 + 10.57 \cdot \text{Quitosano(\%)} + 1.58 \cdot \text{PVOH(\%)} - 2.22 \cdot \text{Quitosano(\%)} \cdot \text{PVOH(\%)} \quad (\text{Ec. 22})$$

De acuerdo con la superficie de respuesta (Figura 24), la presencia de quitosano o PVOH en las películas de celulosa bacteriana aumenta el contenido de humedad. El quitosano y el PVOH son de naturaleza hidrofílica; sin embargo, el quitosano fue el principal responsable del aumento del contenido de humedad debido a la gran cantidad de grupos aminos e hidrofílicos. El comportamiento de adsorción de humedad de las mezclas de quitosano y PVOH en diferentes ambientes de humedad se investigó en estudios anteriores (Liu et al., 2018). Los resultados de este estudio demostraron un mayor contenido de humedad de los compuestos al aumentar la concentración de quitosano.

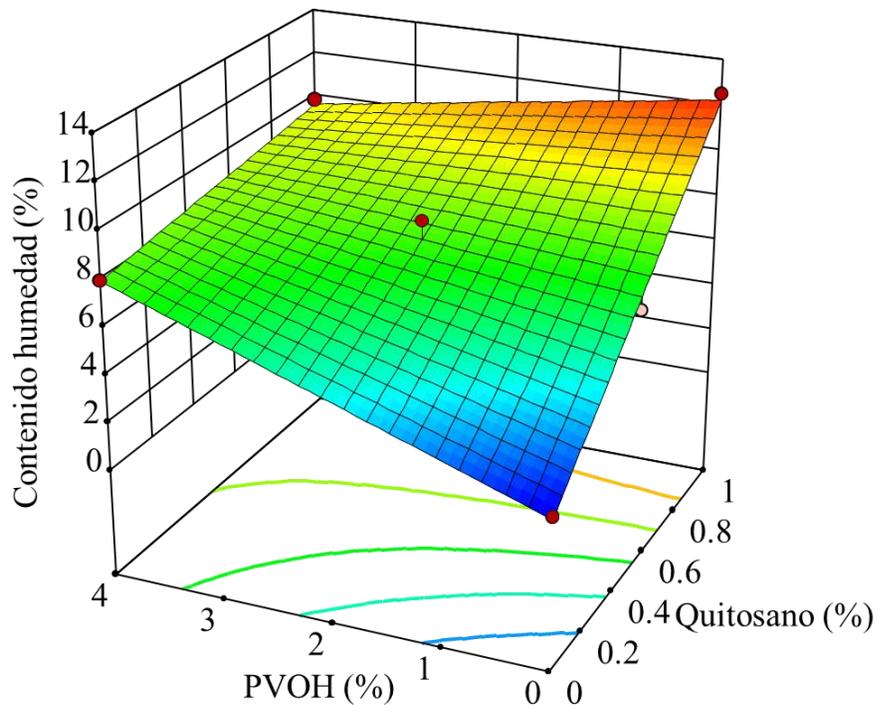


Figura 24. Modelo predictivo del efecto sobre el contenido de humedad en equilibrio de las películas a base de celulosa bacteriana combinadas con quitosano y alcohol polivinílico (PVOH)

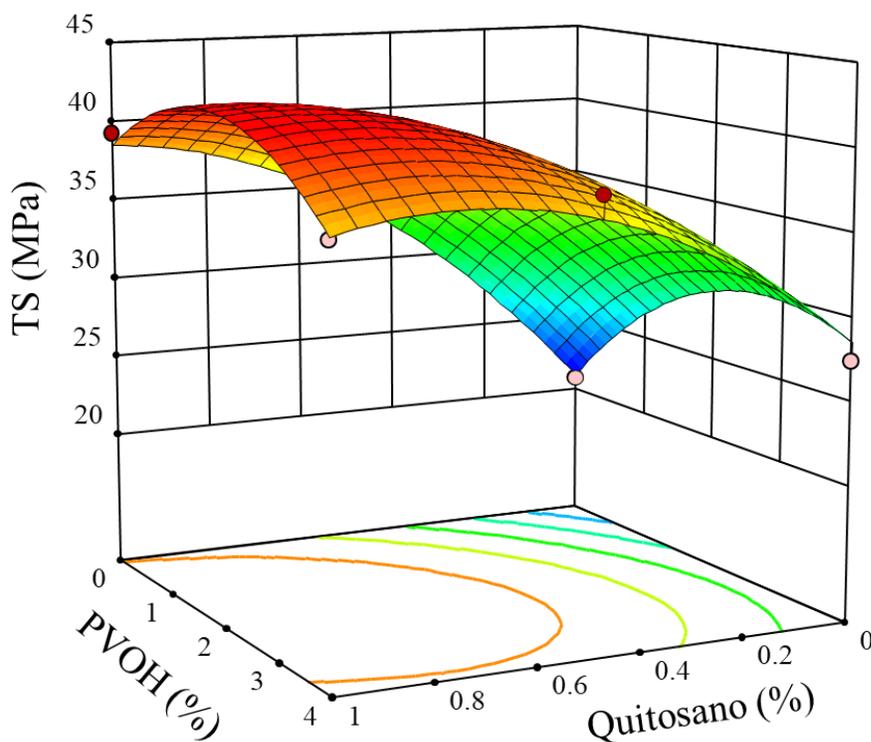
#### 4.2.4. Efecto sobre las propiedades mecánicas a condiciones estándar

Los valores de TS oscilaron entre 20.76 y 41.65 MPa. Los datos se ajustaron siguiendo una ecuación cuadrática. El valor F del modelo fue de 30.63, lo que indica que el modelo es significativo. Todos los términos del modelo cuadrático fueron significativos ( $p < 0.05$ ). El valor de  $r^2$  fue de 0.98 y el  $r^2$  predicho estaba en razonable acuerdo con el  $r^2$  ajustado. La precisión adecuada obtenida fue de 16.94, lo que implica una señal adecuada. Los valores F de los términos del modelo indicó que los valores de TS estaba muy afectados por el contenido de quitosano. La Ecuación 23 predice los valores de TS en función de las concentraciones de quitosano y PVOH.

$$TS(MPa) = 20.99 + 33.90 \cdot \text{Quitosano}(\%) + 6.29 \cdot \text{PVOH}(\%) - 2.30 \cdot \text{Quitosano}(\%) \cdot \text{PVOH}(\%) - 16.33 \cdot \text{Quitosano}(\%)^2 - 1.09 \cdot \text{PVOH}(\%)^2 \quad (\text{Ec. 23})$$

La Figura 25 muestra el efecto de quitosano y el PVOH sobre los valores de TS de las películas desarrolladas. En el caso de películas a base de celulosa regenerada pura se observaron valores de TS de 38.30 MPa a partir de una disolución de un 4% de celulosa microcristalina. En el caso de películas a base de CB pura se observaron valores de TS de 20.76 MPa. Las películas de CB mostraron valores de TS más bajos que las películas de celulosa regenerada, a pesar de que CB tiene mayor cristalinidad, porque en su estructura no hay restos de estructuras amorfas. Hay dos razones principales que explican esta diferencia en los valores de TS. Una razón es la variación del espesor. La celulosa regenerada pura estudiada era tres veces más gruesa que las películas puras de CB. Un menor grosor podría implicar una menor interacción entre las fibras de celulosa. Como se observó en el estudio de las películas de celulosa regenerada, los valores de TS de las películas de celulosa regenerada dependían de la concentración de celulosa. Además, la celulosa bacteriana tiene una estructura menos empaquetada que la celulosa regenerada, como se muestra en las imágenes del SEM.

Estas diferencias en la microestructura podrían afectar a la resistencia a la rotura, pero también podrían promover la interacción con otros polímeros de la mezcla. Probablemente, un mayor tiempo de fermentación de las bacterias acéticas para obtener películas más gruesas, podría ayudar a aumentar las interacciones de puentes de hidrógeno y aumentar los valores de TS. En la literatura, se han publicado valores de TS entre 5 y 96 MPa para películas puras de CB (Cai & Kim, 2010; Phisalaphong & Jatupaiboon, 2008; Saibuatong & Phisalaphong, 2010; Szymańska-Chargot et al., 2017). El amplio rango de valores de TS podría explicarse porque las propiedades de la celulosa dependen del ensamblaje específico y del orden supramolecular controlado por el medio de cultivo, las condiciones de fermentación y el tratamiento de la celulosa. Las condiciones de medición o el contenido de humedad de las muestras también afectan a los valores obtenidos (Hu et al., 2014).



*Figura 25. Modelo predictivo para el efecto del alcohol polivinílico (PVOH) y quitosano en las películas a base de celulosa bacteriana.*

Por otro lado, analizando la interacción con otros polímeros, la adición de quitosano y/o PVOH aumenta en general los valores de TS de las películas. Los valores de TS publicados para las películas de quitosano puro elaboradas a partir de una solución acuosa de ácido acético y condiciones de almacenamiento similares oscilaron entre 50 y 70 MPa (Leceta et al., 2013; Li, Zivanovic, Davidson, & Kit, 2010; Liu et al., 2018). En cuanto a las películas de PVOH puro, los valores de TS reportados oscilaron entre 40 y 50 MPa (Hu & Wang, 2016; Liu et al., 2018; Lu, Wang, & Drzal, 2008). Ambos polímeros reportaron valores de TS más altos que el CB puro. Así, las películas fueron reforzadas después de combinar CB con polímeros con valores de TS mayores. Se produjeron nuevas interacciones físicas entre los componentes, debido a la posible interacción entre los grupos -OH y -NH<sub>2</sub> en estos polímeros. Estas nuevas interacciones físicas fueron capaces de mejorar las propiedades mecánicas de las películas basadas en la mezcla

(Bahrami et al., 2003). Además, como se observa en las imágenes SEM, la presencia de PVOH y quitosano aumentó la densidad de la estructura, obteniendo una estructura más compacta, lo que explica el aumento de TS. Sin embargo, en las concentraciones más altas de quitosano y PVOH, el TS disminuyó ligeramente, pero mantuvo valores más altos que los del CB puro. Este cambio se debió al aumento del contenido de humedad de las muestras debido a la naturaleza hidrófila del quitosano y el PVOH. Las moléculas de agua muestran un efecto plastificante en los polímeros, promoviendo la movilidad de las cadenas poliméricas (Liu et al., 2018). En trabajos previamente publicados, se observa como el tiempo de incubación (14 días) y el proceso de liofilización (-40°C durante 3 días), modificaron la estructura de las películas de quitosano-BC, modificando las propiedades mecánicas y obteniendo valores de TS de 450 MPa (Kim et al., 2011).

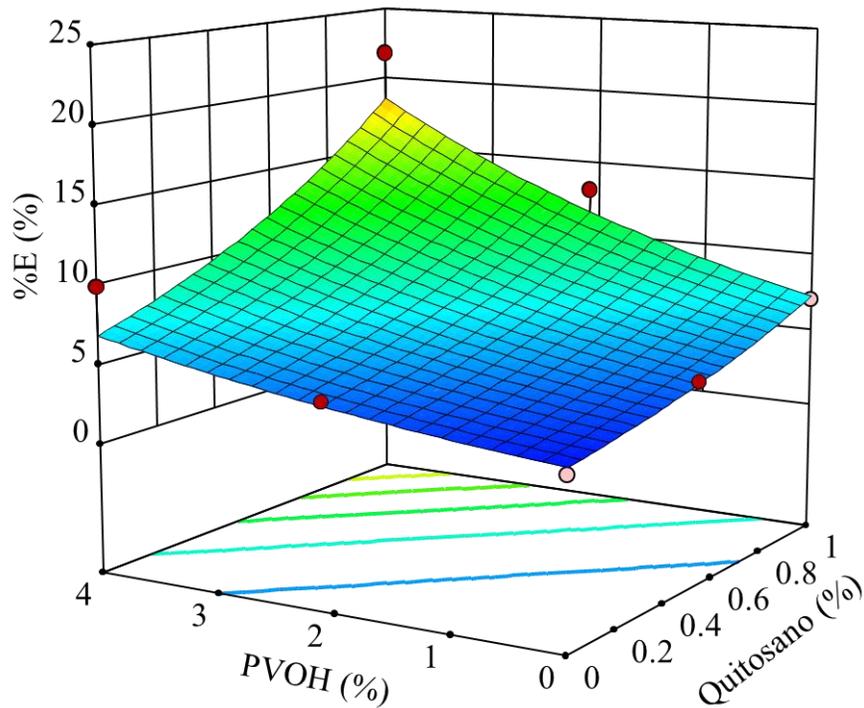
En cuanto a las propiedades de elasticidad, los valores de %E oscilaron entre 2.28 y 21.82%. Los datos se ajustaron a un modelo matemático lineal. El gráfico de Box-Cox recomendó transformar los datos a base logarítmica decimal para obtener un mejor ajuste de la ecuación. El valor F del modelo fue de 9.80, obteniendo un modelo significativo. Sólo hay un 1.29% de posibilidades de que el valor F se deba al ruido. Todos los términos del modelo fueron significativos ( $p < 0.05$ ) y el valor de  $r^2$  fue 0.77. En este caso, el  $r^2$  predicho de 0.6948 se alejó ligeramente del  $r^2$  ajustado de 0.4569. Sin embargo, la precisión adecuada obtenida fue de 8.85, lo que indica una relación señal-ruido adecuada. Los valores F de los términos del modelo indicaron que el quitosano produjo un efecto ligeramente superior en el %E. La Ecuación 24 predice la respuesta del %E en función de las concentraciones de quitosano y de PVOH.

$$\text{Log}_{10}(\%E) = 0.41 + 0.43 \cdot \text{Quitosano} (\%) + 0.10 \cdot \text{PVOH}(\%) \quad (\text{Ec. 24})$$

En la literatura, los valores de %E publicados para el CB pura varían de 0.6 a 5% (Cai & Kim, 2010). De acuerdo con la superficie de respuesta (Figura 26), la presencia de quitosano o PVOH en las películas de CB aumentó los valores de %E. Este

comportamiento fue más significativo en las formulaciones que contenían quitosano y PVOH. El %E de películas puras de CB obtenido fue 2.28%, valor mayor al obtenido para películas de celulosa pura regenerada (1.55%). El mayor %E para las muestras de CB permitió una manipulación más fácil de las muestras que en el caso de la celulosa regenerada. Las películas desarrolladas en este estudio aumentaron significativamente la elasticidad hasta un valor máximo de 21.82% cuando se añadió quitosano y PVOH, facilitando la manipulación de las películas. Por otro lado, la adición de quitosano y PVOH aumentó el contenido de humedad de las muestras, promoviendo un efecto plastificante de las películas debido al incremento de las moléculas de agua en la estructura (Liu et al., 2018; Suyatma, Tighzert, Copinet, & Coma, 2005). Probablemente, la interacción de las fibras de celulosa con el PVOH y las moléculas de agua redujo las fuerzas de fricción entre las cadenas poliméricas, facilitando su movilidad. Las películas de celulosa regenerada combinadas con quitosano y PVOH alcanzaron una elasticidad máxima del 12.82%, valor inferior al alcanzado por las películas a base de celulosa bacteriana. Este resultado sugirió que la estructura tridimensional más abierta de la CB promovió la interacción entre los polímeros de la película compuesta.

Por otra parte, el porcentaje de elongación a la rotura de las películas compuestas fue superior al componente individual, probablemente promovido por la interacción física del quitosano-PVOH en las mezclas (Liu et al., 2018).

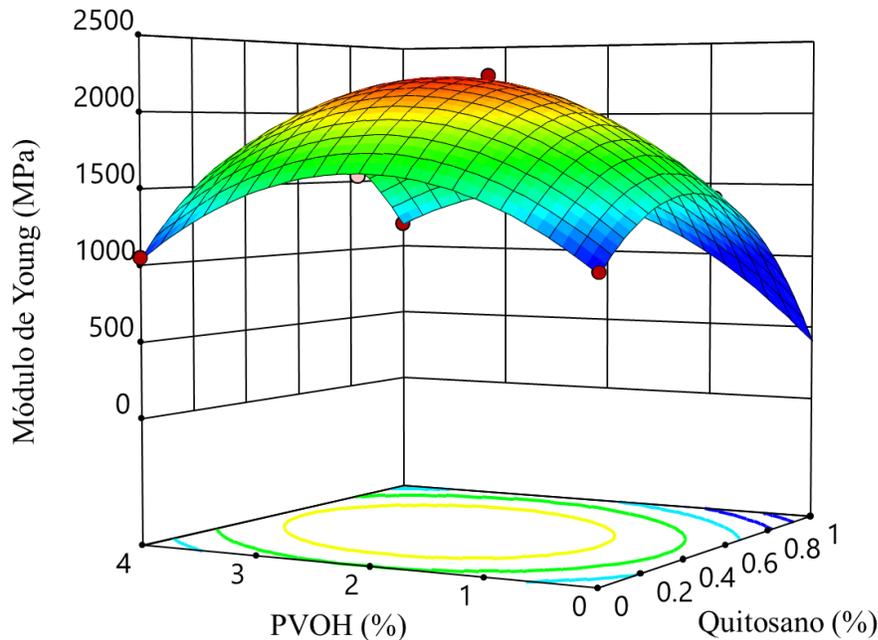


*Figura 26. Modelo predictivo del efecto del contenido de quitosano y alcohol polivinílico en las propiedades de elasticidad (%E) de las películas a base de celulosa bacteriana.*

Los valores del módulo de Young obtenidos se encontraron en el rango de 1043.88 a 2247.82 MPa. Los datos se ajustaron utilizando una ecuación cuadrática. La muestra 7 se descartó porque fue identificada como un valor atípico por la prueba de distancia de Cook. El valor F del modelo fue 302.83 con un valor  $p = 0.0033$ . Estos parámetros estadísticos indicaron que el modelo matemático fue significativo. El valor de  $r^2$  fue de 0.99 y el  $r^2$  ajustado (0.99) estaba en razonable acuerdo con el  $r^2$  previsto (0.98). El valor de precisión adecuado fue superior a 4 (48.82), lo que implicó una relación señal-ruido adecuada. Los valores F indicaron que el efecto cuadrático del contenido de quitosano y PVOH tuvo el efecto más importante en la respuesta del %E, seguido del efecto lineal del PVOH. La Ecuación 25 predice la respuesta en el módulo de Young en función de los componentes de quitosano y PVOH.

$$\begin{aligned} \text{Módulo de Young (MPa)} = & 1034.58 + 2301.07 \cdot \text{Quitosano (\%)} + 579.66 \cdot \\ & \text{PVOH (\%)} + 189.12 \cdot \text{Quitosano (\%)} \cdot \text{PVOH (\%)} - 2929.43 \cdot \text{Quitosano (\%)}^2 - 144.35 \cdot \\ & \text{PVOH (\%)}^2 \end{aligned} \quad (\text{Ec. 25})$$

De acuerdo con la superficie de respuesta (Figura 27), los valores de YM aumentaron cuando la concentración de quitosano y PVOH aumentó hasta valores intermedios.



*Figura 27. Modelo predictivo del efecto de la concentración del quitosano y alcohol polivinílico (PVOH) en los valores del módulo de Young para películas a base de celulosa bacteriana.*

Este comportamiento podría explicarse por los puentes de hidrógeno formados entre los componentes de la película. Se observaron resultados similares en películas a base de celulosa regenerada combinada con quitosano y PVOH. Sin embargo, el aumento de los valores de concentración de quitosano y de PVOH produjo una disminución de los valores obtenidos de YM, especialmente con el aumento del

quitosano. Además, el aumento del contenido de humedad en las películas ocasionó una disminución significativa de los valores de YM. El efecto de la humedad en YM ha sido previamente estudiado en las películas de quitosano-PVOH. En general, los valores de YM de la película de quitosano puro oscilan entre 1500 y 3000 MPa, dependiendo de la concentración de quitosano, el peso molecular, el disolvente, el grado de desacetilación y las condiciones de almacenamiento (Fernandes et al., 2010; Liu et al., 2018). Los valores de YM para las películas puras de PVOH oscilan entre 500-1000- MPa (Paralikar et al., 2008; Roohani et al., 2008). Sin embargo, películas de quitosano y PVOH acondicionadas a altas humedades relativas (75% RH), manifestaron una disminución de los valores de YM hasta valores de 60 MPa y 5 MPa, respectivamente. Al aumentar las condiciones de HR se produjo un aumento del contenido de humedad de las muestras de quitosano y PVOH. El agua adsorbida en la estructura de las películas manifestó un efecto plastificante, lo que se tradujo en una disminución de los valores de YM (Liu et al., 2018).

Los valores de tenacidad oscilaron entre 0.26 y 7.18 MJ/m<sup>3</sup>. Los datos se ajustaron bien usando un modelo lineal. El valor F del modelo fue de 16.23 y el  $p < 0.05$ , siendo un modelo significativo (Tabla 13). En este caso, tanto el PVOH como el quitosano fueron términos significativos en el modelo ( $p < 0.05$ ). El valor de  $r^2$  fue de 0.84 y el  $r^2$  predicho estaba en razonable acuerdo con el  $r^2$  ajustado (Tabla 14). La proporción de la precisión adecuada fue superior a 4, lo que indicó una señal adecuada. La Ecuación 26 predice los valores de tenacidad de las películas de CB en función de las concentraciones experimentales de quitosano y PVOH.

$$\text{Tenacidad (MJ/m}^3\text{)} = -0.74 + 2.87 \cdot \text{Quitosano (\%)} + 1.03 \cdot \text{PVOH(\%)} \quad (\text{Ec. 26})$$

La superficie de respuesta (Figura 28) indica que el quitosano y el PVOH aumentaron la tenacidad de las películas compuestas a base de BC.

*Tabla 13. Análisis de varianza (ANOVA) para las variables dependientes del estudio de las propiedades de punción, permeabilidad e interacción con el agua. PVOH es el alcohol polivinílico, T es tenacidad, BS es la resistencia a la punción, DB es la elasticidad de punción, WVP es la permeabilidad al vapor de agua, %W es la adsorción o retención de agua y %S es el porcentaje de solubilidad de las películas.*

Fuente	T		BS		DB	
	F valor	p-valor	F valor	p-valor	F valor	p-valor
Modelo	16.23	0.0038	82.25	< 0.0001	57.93	0.0001
A-Quitosano	10.68	0.0171	79.1	0.0001	66.19	0.0002
B-PVOH	21.77	0.0034	85.4	< 0.0001	49.67	0.0004
Fuente	WVP		%W		%S	
	F valor	p-valor	F valor	p-valor	F valor	p-valor
Modelo	20.11	0.0163	10.46	0.023	53.77	0.0184
A-Quitosano	68.39	0.0037	9.74	0.0355	26.14	0.0362
B-PVOH	0.19	0.6905	13.23	0.022	158.45	0.0063
AB	13.08	0.0363			9.33	0.0925
A <sup>2</sup>	2.78	0.1942			9.87	0.0881
B <sup>2</sup>	16.13	0.0277			31.61	0.0302

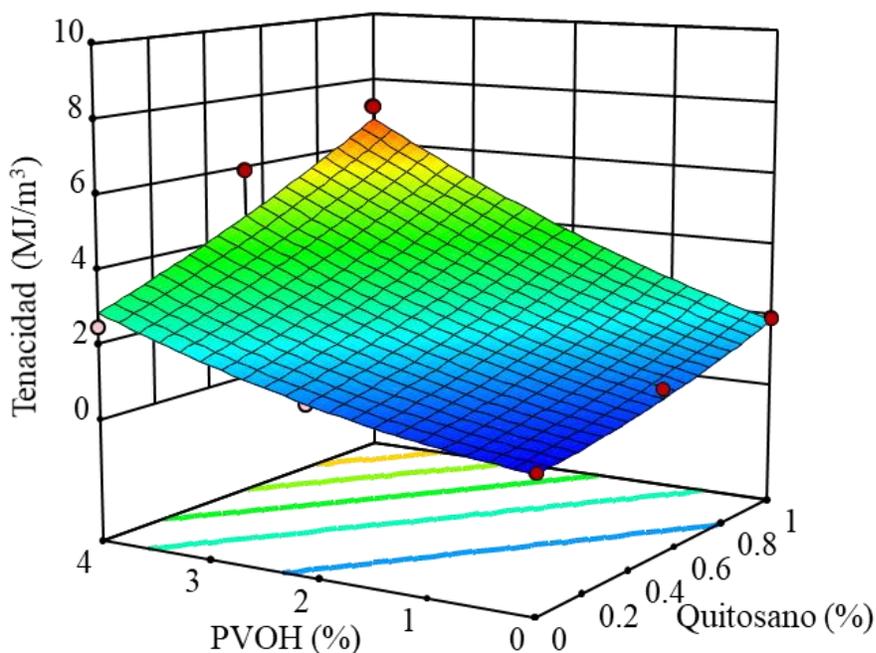
Las muestras de CB pura tuvieron valores de tenacidad de 0.26 MJ/m<sup>3</sup>. Los valores calculados para las películas a base de celulosa regenerada pura fueron de 2.91 MJ/m<sup>3</sup>, exhibiendo una mayor capacidad de absorción de energía hasta el punto de rotura. Las diferencias estructurales y de espesor entre las películas de CB y las de celulosa regenerada podrían ser la causa principal de la diferencia en los valores de T. Las películas de celulosa regenerada pura son tres veces más gruesas que las películas puras de CB. El grosor puede estar relacionado con la cantidad de fibras de celulosa que

están interactuando. Al disminuir el grosor, el número de fibras que interactúan también disminuye, modificando la resistencia mecánica de las películas. Además, las películas puras de CB mostraron una estructura no compacta que podría afectar la resistencia.

*Tabla 14. Parámetros estadísticos de ajuste de modelo de las variables dependientes del estudio de las propiedades de punción, permeabilidad e interacción con el agua. T es tenacidad, BS es la resistencia a la punción, DB es la elasticidad de punción, WVP es la permeabilidad al vapor de agua, %W es la adsorción o retención de agua y %S es el porcentaje de solubilidad de las películas.*

	<b>T</b>	<b>BS</b>	<b>DB</b>	<b>WVP</b>	<b>%W</b>	<b>%S</b>
$r^2$	0.84	0.97	0.95	0.99	0.89	0.99
Predicho $r^2$	0.65	0.91	0.89	0.99	0.41	0.85
Ajustado $r^2$	0.79	0.95	0.93	0.95	0.80	0.97
Adecuada precisión	11.22	25.65	21.47	39.39	8.03	19.49

En películas de celulosa preparadas a partir de madera blanda se demostró una disminución de la tenacidad con el aumento de porosidad (Henriksson et al., 2008). Sin embargo, en este estudio, la estructura porosa fue una ventaja para la combinación de las películas de celulosa con PVOH y quitosano por inmersión. La microestructura de la CB facilitó la interacción entre los componentes y la penetración de los componentes de refuerzo a través de los poros. De este modo, la adición de quitosano o PVOH aumentó los valores de dureza o tenacidad, siendo más significativo el efecto CB-PVOH o la presencia de ambos polímeros (CB-quitosano-PVOH). En la literatura, las películas de quitosano puro o de PVOH mostraron valores de T de 16.8 o 34.3 MJ/m<sup>3</sup>, respectivamente (Costa-Júnior et al., 2009).



*Figura 28. Modelo predictivo de efecto del quitosano y alcohol polivinílico en la tenacidad de las películas a base de celulosa microbiana.*

En este estudio, los polímeros con altos valores de T produjeron un efecto de refuerzo en las películas basadas en CB. Además, el quitosano y el PVOH son miscibles, probablemente debido a los puentes de hidrógeno intermoleculares entre ambos polímeros. Estas interacciones aumentaron las fuerzas de Van der Waals en la matriz de CB, lo que dio lugar a un aumento de los valores de T. El efecto de refuerzo sobre las propiedades mecánicas debido a la formación de puentes de hidrógeno ha sido reportado en películas de kefirán-quitosano (Sabaghi et al., 2015), películas de almidón de trigo-quitosano (Bonilla et al., 2013) y películas de PVOH-quitosano (Bonilla et al., 2014; Hajji et al., 2016). Se alcanzaron valores máximos de T similares a los de las películas de celulosa regenerada con PVOH 4% (p/p) y quitosano 1% (p/p) en la película de CB. De acuerdo con los resultados obtenidos, se observó una mejora de la resistencia en los hidrogeles de CB combinados con poliacrilamida y gelatina por inmersión (Yasuda et al., 2005).

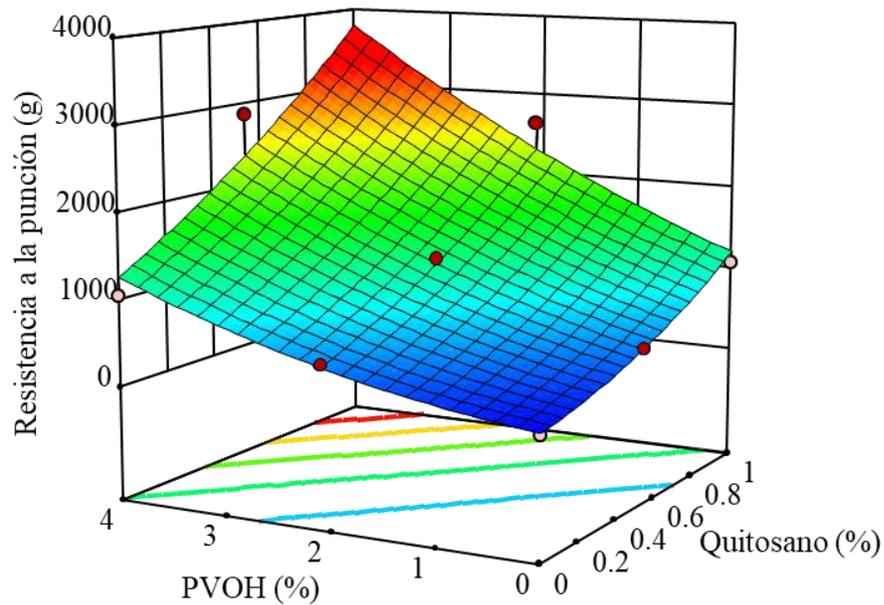
En cuanto a las propiedades de punción, los valores de BS oscilaron entre 58.88

y 3234.62 g. Los datos se ajustaron siguiendo un modelo lineal. El gráfico de Box-Cox recomendó transformar los datos a la raíz cuadrada de BS para obtener un mejor ajuste de la ecuación. El valor F del modelo fue de 82.25 y  $p < 0.0001$ , siendo significativo. Todos los términos del modelo fueron significativos ( $p \leq 0.0001$ ). El valor de  $r^2$  fue de 0.97 y el  $r^2$  previsto estaba en razonable acuerdo con el  $r^2$  ajustado. La proporción de la precisión adecuada fue superior a 4, lo que indica una señal adecuada. La Ecuación 27 estima la respuesta en la BS en función de la concentración de quitosano y PVOH en las películas de celulosa bacteriana.

$$\sqrt{BS} (g) = 8.82 + 25.83 \cdot \text{Quitosano} (\%) + 6.71 \cdot \text{PVOH} (\%) \quad (\text{Ec. 27})$$

La Figura 29 muestra un comportamiento similar de BS en comparación con el T, observando un aumento de los valores debido a la presencia de quitosano y PVOH. El aumento fue más notable cuando se añadieron los dos polímeros, probablemente debido a la interacción CB-quitosano-PVOH en la matriz de la película.

Las películas de quitosano puro mostraron un valor de BS que oscilaba entre 1234 y 1892 g, en función del peso molecular (Leceta et al., 2013). Han sido publicado valores de BS para películas de PVOH puras entre 2703 y 3295 g (Silva et al., 2008). En el presente estudio, el valor máximo alcanzado fue de 3234.62 g combinando las películas de celulosa con un baño de 1% de quitosano y 4% de PVOH, lo que indica la buena interacción entre el CB, quitosano y el PVOH. Este efecto fue más notable en la celulosa regenerada, alcanzando valores de 6291 g, casi el doble de la resistencia a la punción. Los valores obtenidos fueron superiores a los publicados en trabajos encontrados en la literatura para otros biopolímeros, por ejemplo, películas de gelatina (8.5 - 10.7 g) (Gómez-Estaca et al., 2009), películas de almidón y kefirán (380 - 253 g) (Motedayen et al., 2013) o películas de carboximetilcelulosa-PVOH (112.2 - 397.8 g) (Muppalla et al., 2014).

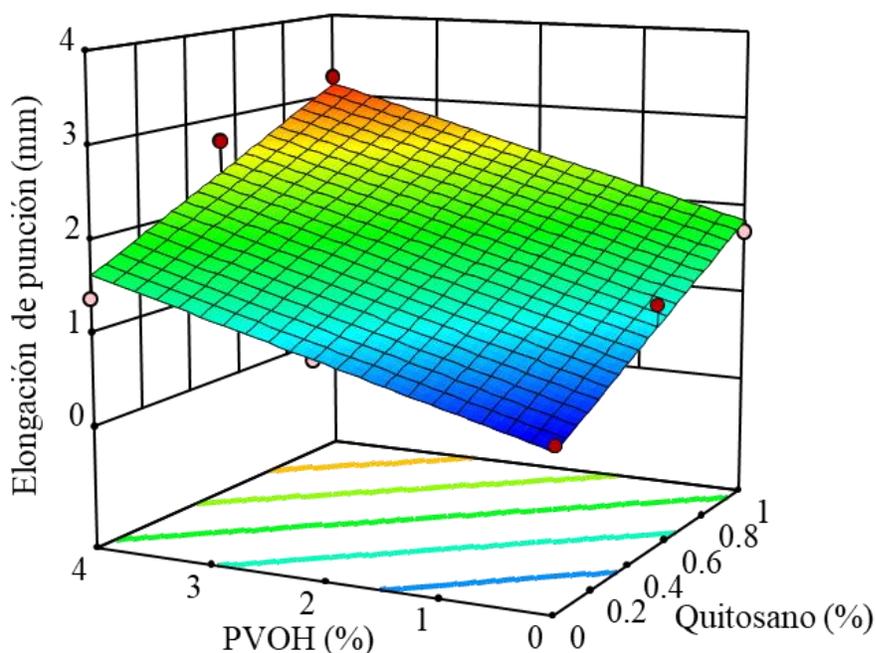


*Figura 29. Modelo predictivo del efecto del contenido de quitosano y alcohol polivinílico (PVOH) en la resistencia a la punción de las películas a base de celulosa bacteriana.*

En cuanto a los parámetros de elasticidad de las películas sometidas a una deformación por punción, los valores de DB oscilaron entre 0.39 y 3.24 mm. Los datos se ajustaron a un modelo matemático lineal. El valor F del modelo fue 57.93 y  $p < 0.0001$ , siendo el modelo significativo. Todos los términos del modelo fueron significativos ( $p < 0.0001$ ). El valor de  $r^2$  fue de 0.95 y el  $r^2$  predicho estaba en razonable acuerdo con el  $r^2$  ajustado. La relación de la precisión adecuada indicaba una señal adecuada (mayor de 4). La Ecuación 28 predice los valores de DB en función de las concentraciones de quitosano y PVOH.

$$DB (mm) = 0.32 + 1.52 \cdot \text{Quitosano} (\%) + 0.33 \cdot \text{PVOH}(\%) \quad (\text{Ec. 28})$$

El quitosano y el PVOH tuvieron un efecto similar (Figura 30) al observado en las demás propiedades mecánicas.



*Figura 30. Modelo predictivo del contenido de quitosano y alcohol polivinílico en la elasticidad de las películas a base de celulosa bacteriana sometidas a una fuerza de punción.*

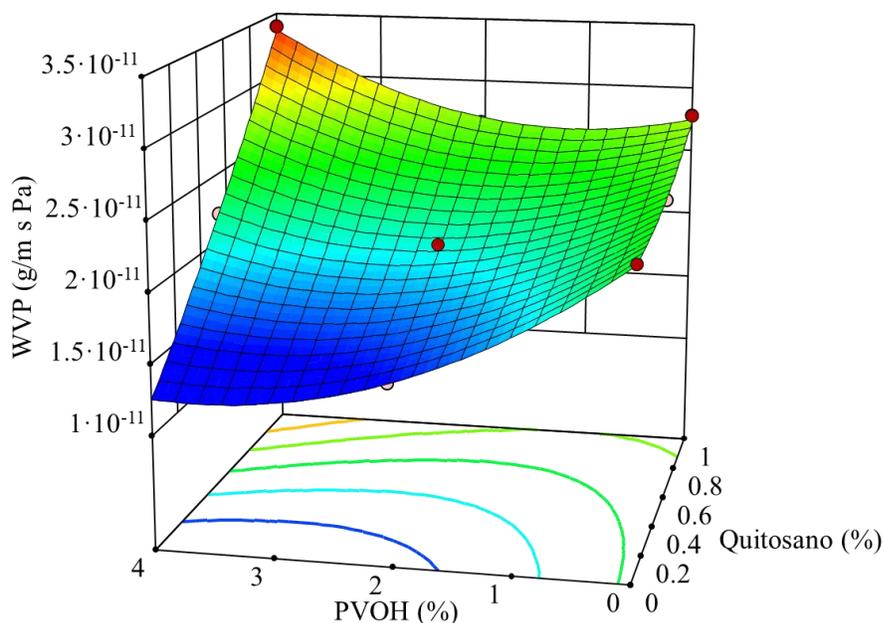
Los valores de DB aumentaron cuando la concentración de quitosano y PVOH se incrementó, siendo más significativo el aumento de la presencia de ambos polímeros. Debido a la buena extensibilidad de las películas de PVOH y quitosano puro, se observó un efecto plastificante de los polímeros en las películas de BC, aumentando los valores de deformación (García et al., 2004; Leceta et al., 2013; Silva et al., 2008). Las películas de celulosa regenerada con quitosano mostraron una deformación de punción máxima de 2.52 mm, inferior a la observada en las películas de BC-quitosano. La estructura de las películas de CB promovió la interacción entre los polímeros, mejorando el efecto plastificante del PVOH y el quitosano en las películas de BC, permitiendo una mayor deformación de la película. El efecto plastificante también se observó cuando se añadió PVOH a las películas de gelatina (Silva et al., 2008) o a las películas a base de quitosano plastificadas con glicerol (Leceta et al., 2013).

#### **4.2.5. Efecto sobre la permeabilidad al vapor de agua**

Los valores de WVP variaron entre  $1.47 \cdot 10^{-11}$  y  $3.40 \cdot 10^{-11}$  g/m·s·Pa. Los datos se ajustaron siguiendo un modelo cuadrático. El experimento 3 se ignoró porque fue identificado como un valor atípico por la prueba de la distancia de Cook. El valor F del modelo fue de 20.11 con un valor *p* de 0.0163, lo que indicó que el modelo matemático fue significativo. El valor de  $r^2$  fue de 0.99 y el  $r^2$  predicho (0.95) estaba en razonable acuerdo con el  $r^2$  ajustado (0.99). La precisión adecuada fue superior a 4 (39.39), lo que implicó una señal adecuada. Los valores F indican que el quitosano tuvo el efecto más importante sobre la respuesta del WVP, seguido de la interacción quitosano-PVOH. La Ecuación 29 predice la respuesta en la WVP en función del quitosano y la PVOH.

$$WVP (g/m \cdot s \cdot Pa) = 2.38 \cdot 10^{-11} + 4.71 \cdot 10^{-13} \cdot \text{Quitosano} (\%) - 6.23 \cdot 10^{-12} \cdot PVOH(\%) + 4.30 \cdot 10^{-12} \cdot \text{Quitosano}(\%) \cdot PVOH(\%) + 3.45 \cdot 10^{-12} \cdot \text{Quitosano}(\%)^2 + 8.65 \cdot 10^{-13} \cdot PVOH(\%)^2 \quad (\text{Ec. 29})$$

Como se muestra en la superficie de respuesta (Figura 31), el comportamiento de WVP dependió de los componentes incorporados a la matriz de CB. Los valores de permeabilidad aumentaron en las películas de quitosano-CB al aumentar el contenido de quitosano. La propiedad hidrófila del quitosano podría explicar el aumento del WVP. Por el contrario, las películas de CB-PVOH mostraron menores valores de permeabilidad que las películas de celulosa pura. Los datos experimentales indicaron que las películas puras de CB tuvieron valores de WVP de  $2.38 \cdot 10^{-11}$  (g/m·s·Pa) y de acuerdo con los datos publicados, las películas puras de PVOH mostraron valores de WVP de  $1.70 \cdot 10^{-11}$  g/m·s·Pa a 30°C (Mihaela Jipa et al., 2012).



*Figura 31. Efecto del contenido de quitosano y alcohol polivinílico (PVOH) en la permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas a base de celulosa bacteriana.*

Las películas puras de CB tienen una estructura porosa abierta que facilita la difusión de las moléculas de agua a través de las fibras de celulosa. El PVOH rellenó los huecos entre las fibras de celulosa, disminuyendo la porosidad y obstaculizando la difusión de las moléculas de agua a través de la matriz. El PVOH es un polímero hidrófilo, pero su capacidad de interacción con el agua es inferior a la del quitosano (Liu et al., 2018). Por esta razón, las películas de CB-PVOH mostraron valores de WVP más bajos que los de las películas de celulosa bacteriana de quitosano. Sin embargo, este comportamiento cambió con la presencia simultánea de quitosano y PVOH, produciendo un mayor aumento de la permeabilidad cuando aumentó la concentración de ambos polímeros. Este efecto ha sido reportado en estudios previos ya que las películas de quitosano-PVOH manifiestan valores de WVP más altos que las películas de quitosano puro o PVOH. Los autores explicaron este efecto por la formación de una matriz más abierta. Las capas de hidratación del quitosano dieron como resultado una menor densidad de la matriz polimérica. Esta estructura facilitó la transferencia de las moléculas de agua a través de la red (Bonilla et al., 2014). Las películas de celulosa-quitosano-PVOH regeneradas mostraron el mismo efecto sobre los valores de WVP.

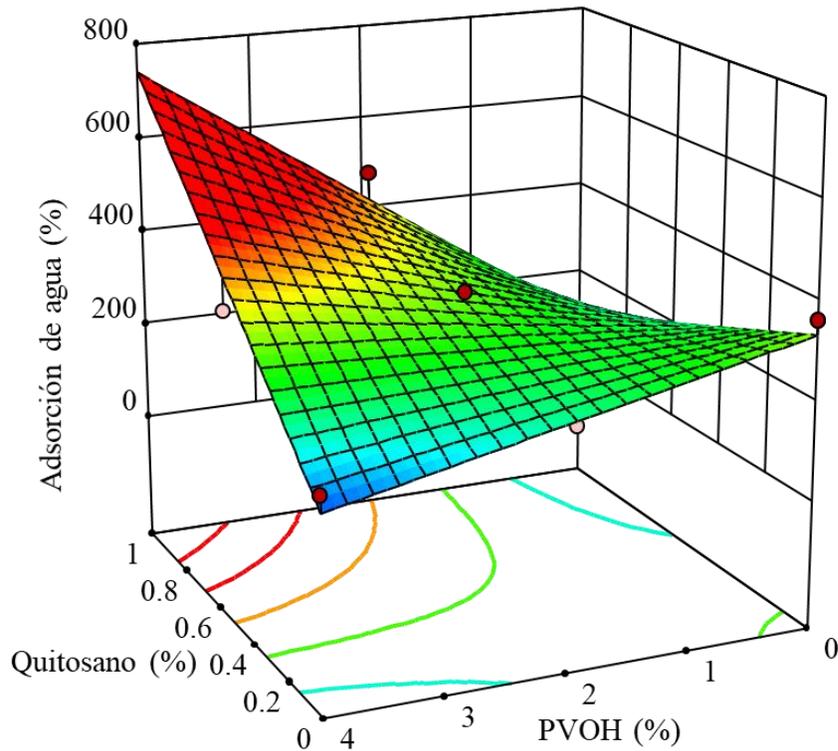
#### **4.2.6. Efecto sobre la propiedad de retención o adsorción de agua de las películas**

Los valores de adsorción o retención de agua obtenidos oscilaron entre 96.16 y 478.73%. Los datos se ajustaron siguiendo un modelo matemático de interacción de dos factores. La prueba 9 fue descartada porque se detectó como valor atípico por la prueba de distancia de Cook. El valor F del modelo fue de 10.46 y  $p < 0.05$ , siendo el modelo significativo. Todos los términos del modelo fueron significativos ( $p < 0.05$ ). El valor de  $r^2$  fue de 0.89. En este caso, el  $r^2$  predicho de 0.41 se alejó ligeramente del  $r^2$  ajustado de 0.80. Sin embargo, la precisión adecuada obtenida fue superior a 4, lo que indica una adecuada relación señal-ruido. Utilizando la Ecuación 30 es posible estimar los valores del %W, en función del quitosano y la PVOH.

$$\%W (\%) = 335.28 - 235.20 \cdot \text{Quitosano} (\%) - 51.05 \cdot \text{PVOH} (\%) + 211.30 \cdot \text{Quitosano} (\%) \cdot \text{PVOH} (\%) \quad (\text{Ec. 30})$$

El comportamiento de la capacidad de retención de agua de las películas se ve afectado por varios factores, entre ellos la densidad de la red o la capacidad de hidratación de los polímeros (Pavaloiu et al., 2014). La capacidad de retención de agua de la CB pura fue unas 5 veces su peso seco, permitiendo obtener una capacidad de adsorción de agua del 364.78%, capacidad superior a la de otras películas de hidrocoloides (Lin, Lopez-Sanchez, Li, & Li, 2014). La estructura porosa y tridimensional de la CB permite un mayor contacto superficial, facilitando el atrapamiento físico de las moléculas de agua dentro de la matriz de celulosa. De acuerdo con la superficie de respuesta (Figura 32), el comportamiento de adsorción fue influenciado principalmente por el quitosano. La capacidad se redujo drásticamente de 364.78% (películas de CB puro) a 96.16% (película de CB-quitosano 1%) cuando la concentración de quitosano aumentó en la composición. Como se mostró en las imágenes del SEM, la incorporación del quitosano dio como resultado una estructura más compacta y redujo la porosidad. La

estructura de CB-quitosano obstaculizó el atrapamiento de las moléculas de agua dentro de la matriz de celulosa, disminuyendo la capacidad de retención de agua.



*Figura 32. Modelo predictivo del efecto de la concentración de quitosano y alcohol polivinílico (PVOH) en la capacidad de adsorción de agua en las películas a base de celulosa bacteriana.*

El PVOH también disminuyó la capacidad de retención de agua, pero en menor medida que el quitosano. La capacidad de retención de la CB pura se redujo a la mitad al combinarse con un 4% de PVOH. Por el contrario, la presencia de ambos polímeros, debido a las interacciones quitosano-PVOH, aumentó la retención de agua hasta valores similares a los de las películas de quitosano puro. Los puentes de hidrógeno intra e intermoleculares que se producen entre la cadena de PVOH y el quitosano favorecieron la capacidad de hinchamiento. Los resultados coincidieron con estudios anteriores sobre las membranas de CB-quitosano para aplicaciones en apósitos (Lin, Lien, Yeh, Yu, &

Hsu, 2013) y las mezclas de quitosano-PVOH (Costa-Júnior et al., 2009; Hajji et al., 2016).

#### **4.2.7. Efecto sobre la solubilidad de la película**

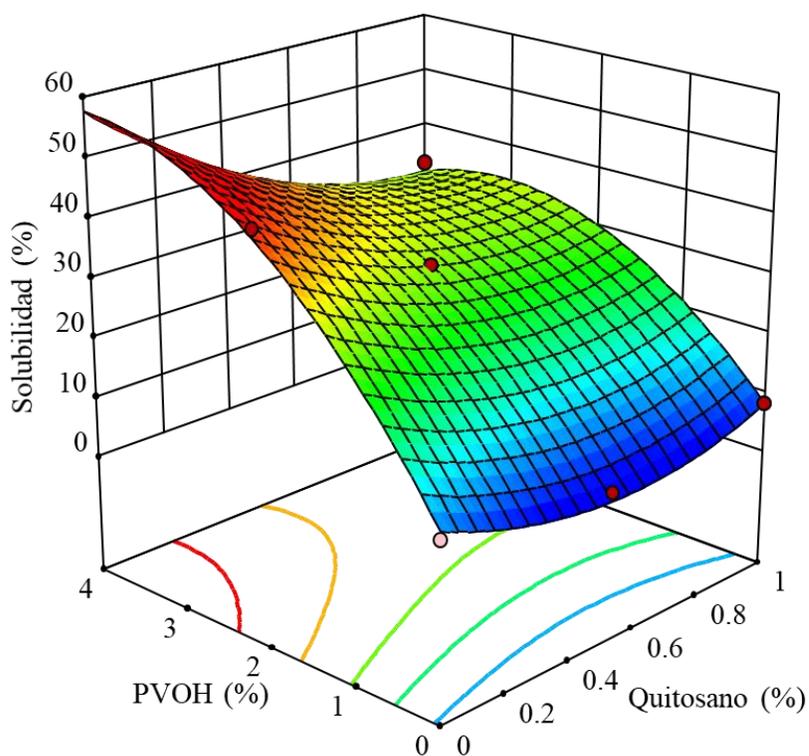
El porcentaje de la solubilidad de la película de CB-quitosano-PVOH en el agua osciló entre 9.37 y 46.91%. Los datos se ajustaron siguiendo un modelo cuadrático. Los resultados obtenidos en la prueba 3 se ignoraron para el análisis del ANOVA porque fue detectada como un valor atípico en la prueba de distancia de Cook. El valor F del modelo fue 53.77 y  $p < 0.05$ , siendo significativo. El quitosano, el PVOH y el efecto cuadrático del PVOH fueron términos significativos del modelo. El valor de  $r^2$  fue de 0.99 y el  $r^2$  predicho estaba en razonable acuerdo con el  $r^2$  ajustado. La relación de la precisión adecuada indicaba una señal adecuada. La Ecuación 31 predice los valores de la solubilidad de la película en función de las concentraciones de quitosano y PVOH de las películas compuestas.

$$\%S (\%) = 10.80 - 27.97 \cdot \text{Quitosano} (\%) + 23.0 \cdot \text{PVOH} (\%) - 5.80 \cdot \text{Quitosano} (\%) \cdot \text{PVOH} (\%) + 25.30 \cdot \text{Quitosano} (\%)^2 - 2.83 \cdot \text{PVOH} (\%)^2 \quad (\text{Ec. 31})$$

La superficie de respuesta (Figura 33) muestra que la solubilidad de la película se vio influida principalmente por el contenido de PVOH.

Debido a su naturaleza hidrófila y su solubilidad en agua, parte del PVOH se disolvió en la prueba. Un estudio previo indicó un 65.5% de solubilidad para películas de PVOH puro (Hajji et al., 2016). Las películas de CB pura mostraron un valor de solubilidad bajo del 9%. La celulosa es insoluble en el agua (Cazon et al., 2017), por lo que el valor obtenido para la CB pura se debió probablemente a la presencia de sólidos solubles del medio de cultivo que quedaron retenidos en las muestras. Las películas de CB-quitosano no mostraron cambios significativos en los valores de solubilidad en comparación con las muestras de CB pura. El quitosano fue retenido en la película porque es soluble a un pH

ligeramente ácido. Las muestras de CB-quitosano-PVOH mostraron una ligera disminución en el porcentaje de materia soluble en comparación con las películas de CB-PVOH. Probablemente, la reticulación entre la amina y el hidroxilo dio lugar a una estructura de empaquetamiento entre la PVOH y el quitosano, limitando las interacciones con el agua y reduciendo la solubilidad de la PVOH (Hajji et al., 2016)



*Figura 33. Modelo predictivo del efecto de la concentración de quitosano y alcohol polivinílico (PVOH) en la solubilidad de las películas compuestas a base de celulosa bacteriana.*

#### **4.2.8. Propiedades de barrera de luz, transparencia y opacidad**

Uno de los principales objetivos del envasado activo es mantener la calidad de los alimentos y aumentar su vida útil. Por lo tanto, desarrollar biopelículas con buenas propiedades de barrera óptica en la región de la radiación UV es una estrategia factible. La luz ultravioleta es la principal responsable de la aparición del oxígeno singlete, la causa

más común de la oxidación de lípidos. Esta reacción oxidativa altera el olor, el sabor y el color de los alimentos, disminuyendo sus cualidades organolépticas, lo que afecta a la aceptabilidad de los alimentos por parte de los consumidores (Goudarzi et al., 2017; Vilela et al., 2017). Por otro lado, las películas biodegradables con propiedades de barrera a la luz UV deben tener una transparencia adecuada. Los biopolímeros con buenos valores de transparencia aplicados directamente sobre los alimentos proporcionan un buen aspecto visual, lo que aumenta su aceptación por parte de los consumidores. Los lípidos son más susceptibles a las reacciones oxidativas en la región de 200 a 280 nm de longitud de onda.

La Figura 34 muestra la transmitancia de los experimentos 1, 3 y 7 en el rango UV de 200-280 nm. Las muestras seleccionadas permiten analizar las propiedades ópticas de la CB pura (Exp. 1) y el efecto del PVOH (Exp. 3, CB-PVOH 4%) y el quitosano (Exp. 7, CB-quitosano 1%) en las películas compuestas. Por otro lado, la Figura 35 muestra los valores de transmitancia de los experimentos 1, 5 (CB - quitosano 0,5% - PVOH 2%), 6 (CB - quitosano 0,5% - PVOH 4%), 8 (CB - quitosano 1% - PVOH 2%) y 9 (CB - quitosano 1% -PVOH 4%) que permitieron analizar el efecto de las interacciones quitosano-PVOH sobre las propiedades ópticas de la CB pura.

En la región UV, la CB pura mostró valores de transmitancia del 0% hasta una longitud de onda de 230 nm, aumentando luego hasta el 2%. Las películas de celulosa bacteriana pura mostraron valores de transmitancia más bajos que la celulosa pura regenerada, que oscilaban entre 0.4 y 5.3%. Esta diferencia se debe probablemente a la pureza del CB y a las diferencias estructurales entre las películas. La adición de PVOH aumentó la transmitancia a 280 nm hasta el 11.65%.

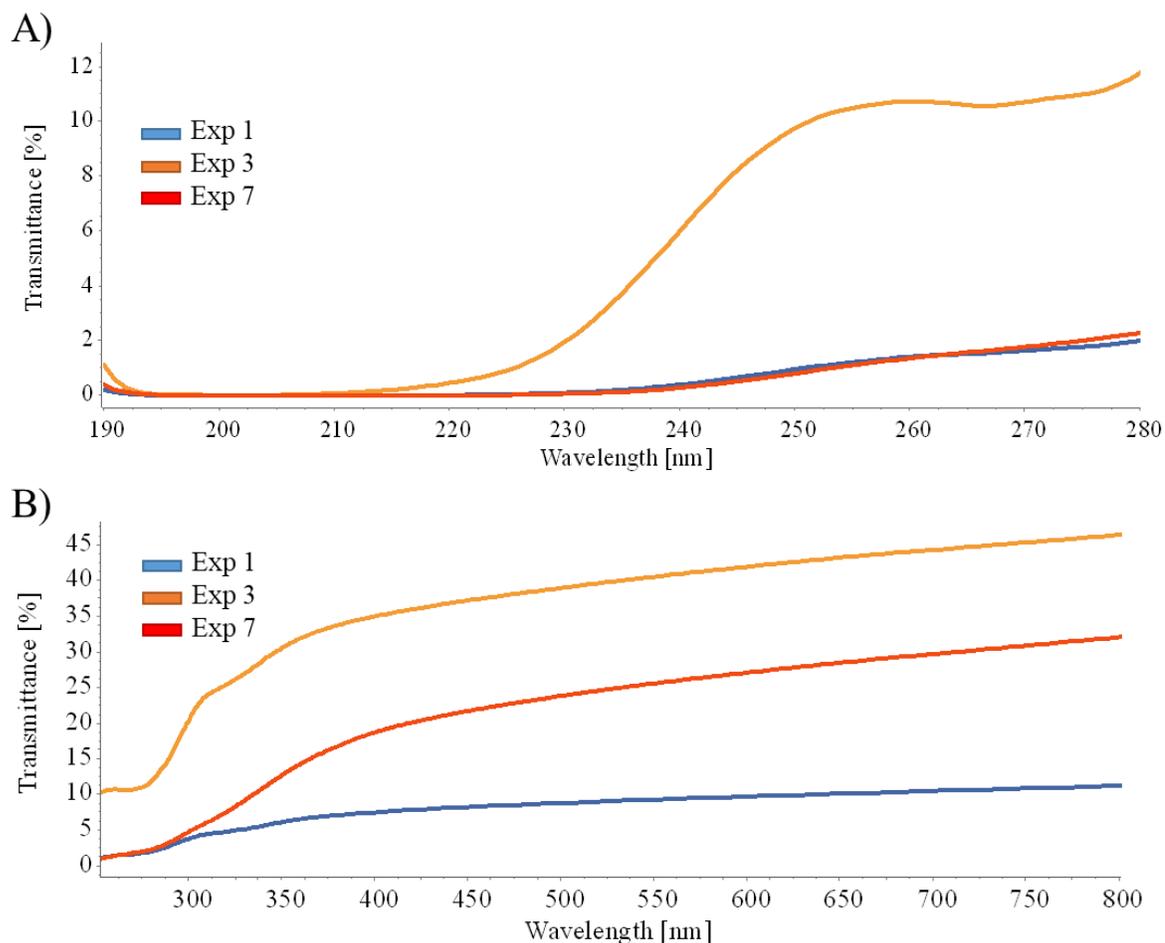


Figura 34. Perfil de transmitancia en la region UV-VIS de las películas de los experimentos 1, 3 y 7: Exp 1) Muestra de celulosa bacteriana pura; Exp 3) Celulosa bacteriana-alcohol polivinílico 4% (p/p); Exp 7) Celulosa bacteriana-quitosano 1% (p/p).

Los espectros del quitosano-CB mostraron que los valores de transmitancia se mantuvieron bajos, sin diferencias significativas en comparación con la celulosa bacteriana pura. En estudios anteriores, se han reportado bajos valores de transmitancia de las películas de quitosano en la región UV, indicando la capacidad de adsorción de radiación UV del quitosano (Kalaycioğlu et al., 2017). Por este motivo, dada la capacidad de adsorción de radiación UV y los bajos valores observado para las películas de CB pura y quitosano, al combinar ambos polímeros siguieron manteniendo bajos valores de transmitancia. En películas con quitosano y PVOH se observó un aumento de los valores de transmitancia en estas regiones a medida que aumentaba la longitud de onda. El valor máximo elevado en la región UV-C (200-280 nm) fue 12.67% de la transmitancia para el

experimento 5.

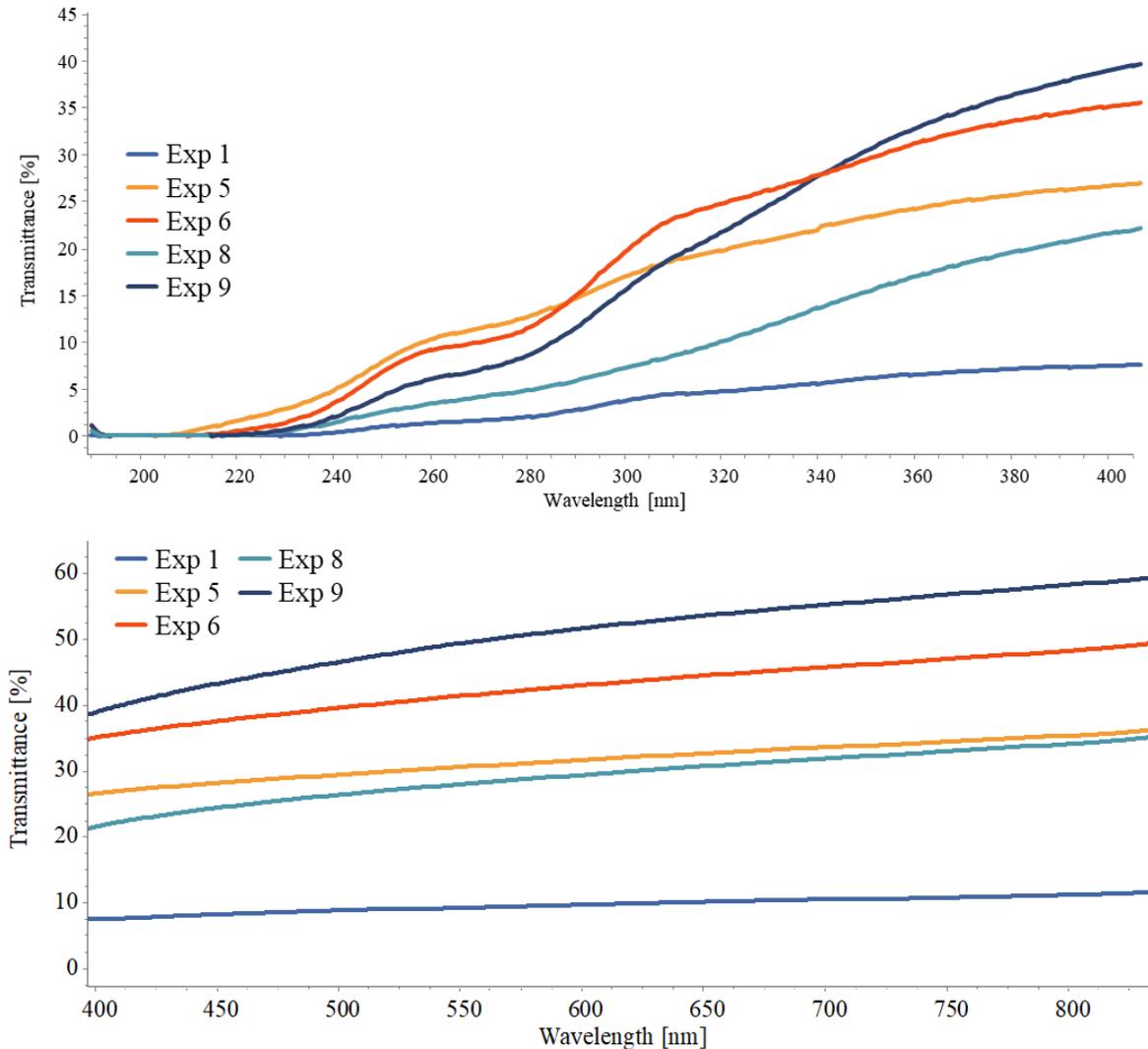


Figura 35. Transmitancia en la región UV-VIS de las muestras de las películas de celulosa bacteriana-quitosano-alcohol polivinílico (PVOH) de los experimentos 1, 5, 6, 8 y 9. Experimento 1) Celulosa bacteriana pura. Experimento 5) Celulosa bacteriana, quitosano (0,5% p/p) y alcohol polivinílico (2% p/p). Experimento 6) Celulosa bacteriana, quitosano (0,5% p/p) y alcohol polivinílico (4% p/p). Experimento 8) Celulosa bacteriana, quitosano (1% p/p) y alcohol polivinílico (2% p/p). Experimento 9) Celulosa bacteriana, quitosano (1% p/p) y alcohol polivinílico (4% p/p).

Sin embargo, cuando la concentración de quitosano alcanzó el 1% (p/p) (Exp. 8) la transmitancia se redujo a 4.80%. Las propiedades de barrera del quitosano contra los rayos UV fueron más notables a concentraciones del 1%. Las muestras con mayor contenido de quitosano y menor PVOH alcanzaron el valor mínimo de transmitancia en

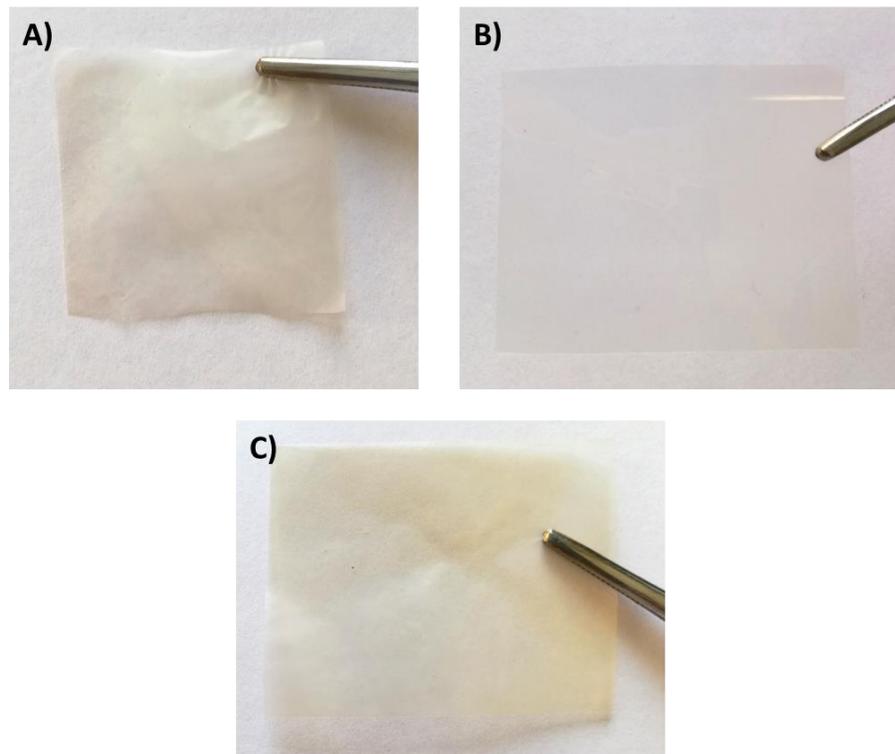
películas con la presencia quitosano-PVOH, el 9.2%. En la región UV-C para películas CB-quitosano-PVOH, las muestras 6 (0.5% quitosano – 4% PVOH) y 8 (1% quitosano – 2% PVOH) mostraron de nuevo los valores máximos y mínimos de transmitancia, siendo 35.1% y 21.6%, respectivamente, indicando que el quitosano reforzó las barreras de radiación UV de la celulosa pura combinada con PVOH.

En la región UV-VIS (280- 800 nm), las películas puras de CB mantuvieron bajos valores de transmitancia, con una transmitancia máxima del 11%. La adición de PVOH a CB dio como resultado el mayor efecto sobre la transmisión, aumentando el valor en un 46.6%. Sin embargo, en las muestras de CB-quitosano, la transmitancia aumentó constantemente con la longitud de onda, hasta el 32%. Este aumento de la transmitancia afectó a las propiedades visuales aumentando la transparencia y disminuyendo la opacidad de las películas.

Los experimentos 9 y 6 mostraron valores de 58.9 y 47.9 % de transmitancia a una longitud de onda de 800 nm, respectivamente. A concentraciones más bajas de PVOH (2% p/p), la variación del contenido de quitosano no afectó significativamente al porcentaje de transmitancia, observando una diferencia de valores inferior a 1% entre las muestras 5 y 8. Al aumentar la concentración de PVOH y quitosano, es posible que aumente el número de sitios activos (grupos hidroxilo, principalmente), lo que conlleva el aumento de las interacciones entre PVOH-quitosano. El aumento de las interacciones entre PVOH-quitosano pudo facilitar la retención homogénea de PVOH por ambos lados de la película y dentro de la matriz, aumentando los valores de transmitancia de la película, debido a las propiedades ópticas del PVOH, mejorando las propiedades ópticas en la región UV-VIS. Las películas de celulosa regenerada con quitosano (1% p/p) y PVOH (4% p/p) mostraron un valor de transmitancia del 38.31% a 800 nm, inferior al de las películas CB. La estructura única de la celulosa bacteriana facilitó la interacción celulosa-quitosano-PVOH, lo que dio lugar a una mejora de las propiedades ópticas en la región UV-VIS en comparación con la celulosa vegetal.

Las películas de celulosa pura mostraron un color ahumado. Al combinar estas películas con PVOH, el resultado fueron muestras con un aspecto visual translúcido y

brillante, como se puede ver en la Figura 36. Sin embargo, los resultados obtenidos para las muestras de CB pura (Exp. 1), CB-PVOH 4% (Exp. 7) y CB-quitosano 1% (Exp. 7) fueron 47.6, 24.5 y 48.0, respectivamente, indicando que las muestras con mayor transparencia (mayor transmitancia en la región VIS), fueron las películas de CB puras y CB-quitosano. Esto se debe a que los resultados de transparencia obtenidos se ven fuertemente afectados por el espesor de la muestra, siendo en este caso las muestras de CB-PVOH hasta 3 veces mayor a las películas de CB y CB-quitosano, afectando a los valores de transparencia. Los bajos valores de transmitancia en la región UV observados para las películas de CB y quitosano, y la mejora del aspecto visual debido al PVOH, podrían hacer de estos compuestos una excelente opción para aplicarlos como un envase activo para alimentos con propiedades de barrera a la luz adecuadas para prevenir la oxidación de lípidos inducida por la luz ultravioleta.



*Figura 36. Aspecto visual de la muestra de A) celulosa bacteriana pura, B) celulosa bacteriana-alcohol polivinílico 4% (p/p) y C) celulosa bacteriana-quitosano 1% (p/p).*

#### 4.2.9. Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)

Las interacciones entre el BC-quitosano-PVOH a nivel estructural se evaluaron mediante mediciones FT-IR. La Figura 37 muestra los espectros FT-IR del experimento 1, 3 y 7. Los espectros muestran las bandas de absorción características de BC, PVOH y quitosano.

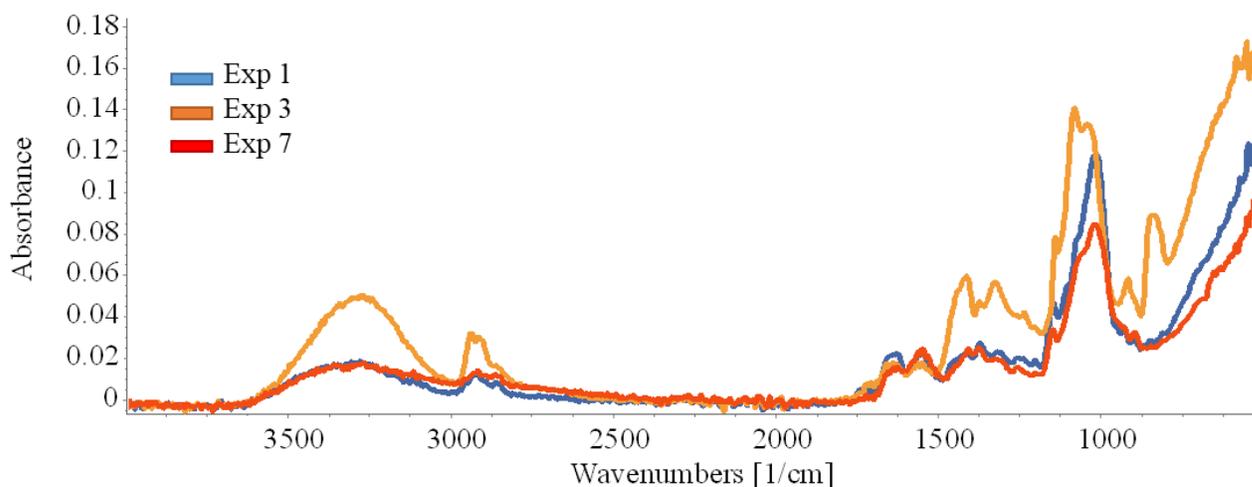


Figura 37. Espectro FT-IR de las películas de los experimentos 1, 3 y 7: Exp 1) Muestra de celulosa bacteriana pura; Exp 3) Celulosa bacteriana-alcohol polivinílico 4% (p/p); Exp 7) Celulosa bacteriana-quitosano 1% (p/p).

La banda ancha en la región de 3000-3600  $\text{cm}^{-1}$  se atribuye a la unión intermolecular del hidrógeno y a las vibraciones de estiramiento de -OH en CB y PVOH. La adición de PVOH dio lugar a un ligero desplazamiento de este pico en un número de onda mayor, probablemente debido al aumento de los grupos -OH y a la formación de puentes de hidrógeno. Este aumento de la absorbancia también podría estar asociado a la interacción con el grupo -OH (Pavaloiu et al., 2014). Una señal débil a 2920  $\text{cm}^{-1}$  apareció en las tres muestras, debido al estiramiento de -CH.

Los picos de absorbancia observados alrededor de  $1550\text{ cm}^{-1}$  se asignaron a la vibración de deformación  $\text{-NH}_2$  del quitosano (Zhao et al., 2018). Sin embargo, los espectros FT-IR de las películas puras de CB y BC-PVOH mostraron un pico de absorbancia a  $1550\text{ cm}^{-1}$ , con menor intensidad. Probablemente, debido a la presencia de residuos del medio de cultivo que no pudieron ser eliminados completamente durante el proceso de lavado, ya que las películas elaboradas con celulosa regenerada no mostraron absorbancia en esta longitud de onda. Las bandas de absorción con un máximo de  $1055\text{ cm}^{-1}$  y  $1020\text{ cm}^{-1}$  están asignadas a las vibraciones de estiramiento del anillo piramidal C-O-C y a la deformación del anillo C-H, respectivamente. En esta región, las bandas de BC-PVOH están desplazadas en comparación con los espectros puros de BC, lo que indica una asociación polimérica a través de la unión de hidrógeno (Pereira et al., 2015).

#### **4.2.10. Propiedades térmicas de las películas TGA-DSC**

El análisis termogravimétrico y la calorimetría diferencial de barrido de las muestras de los experimentos 1, 3 y 7 (Figura 38) permitieron evaluar la estabilidad de las películas a base de CB pura y el efecto de la adición de PVOH y quitosano en la estabilidad térmica de las películas. Se observó un primer pico endotérmico (Exp. 1 y Exp. 3) en la región entre  $60\text{-}110^\circ\text{C}$  correspondiente a la volatilización del agua de las muestras de las películas (Martins et al., 2009). De acuerdo con los datos obtenidos en la medición del contenido de humedad en equilibrio, este primer pico dio lugar a una pérdida de peso entre 3 y 5%, para las películas analizadas.

En la Figura 38, el pico endotérmico a  $250^\circ\text{C}$  que se observa en el termograma del Exp. 1 y Exp. 3, correspondió a la temperatura de inicio de la degradación térmica de la celulosa, de acuerdo con los datos observados en trabajos anteriores (Mohammadkazemi et al., 2015). A  $400^\circ\text{C}$  la descomposición del CB correspondió al 66.7% de la pérdida de peso. El termograma de las muestras de BC-PVOH (Exp.3) mostraba dos picos endotérmicos en la segunda región. El primer pico endotérmico, a unos  $220^\circ\text{C}$ , corresponde a la degradación térmica del PVOH (Bonilla et al., 2014). En el

rango de 200 a 240°C, el porcentaje de la pérdida de peso fue de 5.2-7.2% del peso inicial total. La pérdida de peso en este intervalo no fue significativa, lo que indicaba que parte de la PVOH se degradó a temperaturas más altas probablemente debido a la interacción con la celulosa. El segundo pico endotérmico, a 260-340°C, correspondió a la pérdida de peso del (11.1-74.4)% del peso inicial. Los datos sugieren que la interacción BC-PVOH aumentó la estabilidad térmica de las películas, aumentando la temperatura de degradación del PVOH y del CB. Por otra parte, en presencia de quitosano, la temperatura de inicio de la degradación de la muestra se encontró en la región de 260-270°C. La presencia de quitosano aumentó la temperatura de degradación de la muestra en comparación con la de la CB pura. En la región de 260 a 340°C, la pérdida de peso fue de 12.7 a 45.0%, alcanzando una pérdida de peso de 55.1% hasta una temperatura de 400°C, lo que indica que la interacción BC-quitosano aumentó la estabilidad térmica de la muestra. La celulosa regenerada con PVOH y la celulosa regenerada con quitosano también mostraron este aumento de la estabilidad térmica debido a la interacción entre los polímeros.

La Figura 39 muestra los análisis térmicos de las muestras de los experimentos 5, 6, 8 y 9 que permitieron evaluar el efecto de la interacción PVOH-quitosano sobre la estabilidad térmica de las películas. En la región de 220°C, el pico endotérmico fue mayor y más agudo cuando aumentaba la concentración de PVOH, y se suavizaban al aumentar el contenido de quitosano. A 220°C la descomposición de las muestras osciló entre el 4 y el 6%, siendo no significativa. Además, al aumentar la concentración de PVOH, manteniendo constante el contenido de quitosano, la proporción de materia degradada disminuyó ligeramente, lo que indica que parte del PVOH se degradó a temperaturas más altas. Probablemente, la interacción entre ambos polímeros aumentó la estabilidad térmica del PVOH de las muestras a 220°C. La presencia de quitosano y PVOH en las películas de CB aumentó la estabilidad térmica de las mismas. El tercer punto endotérmico se desplazó de 250°C hasta 260°C, aumentando la temperatura de degradación de los polímeros. A 340°C, la pérdida de peso se situó entre el 56.8 y el 65.4%, alcanzando valores más bajos a una mayor concentración de PVOH y quitosano, lo que indica que la interacción CB-PVOH-quitosano aumentó la estabilidad térmica de

las muestras. La celulosa regenerada combinada con PVOH-quitosano también mostró este aumento de la estabilidad térmica debido a la interacción entre los polímeros.

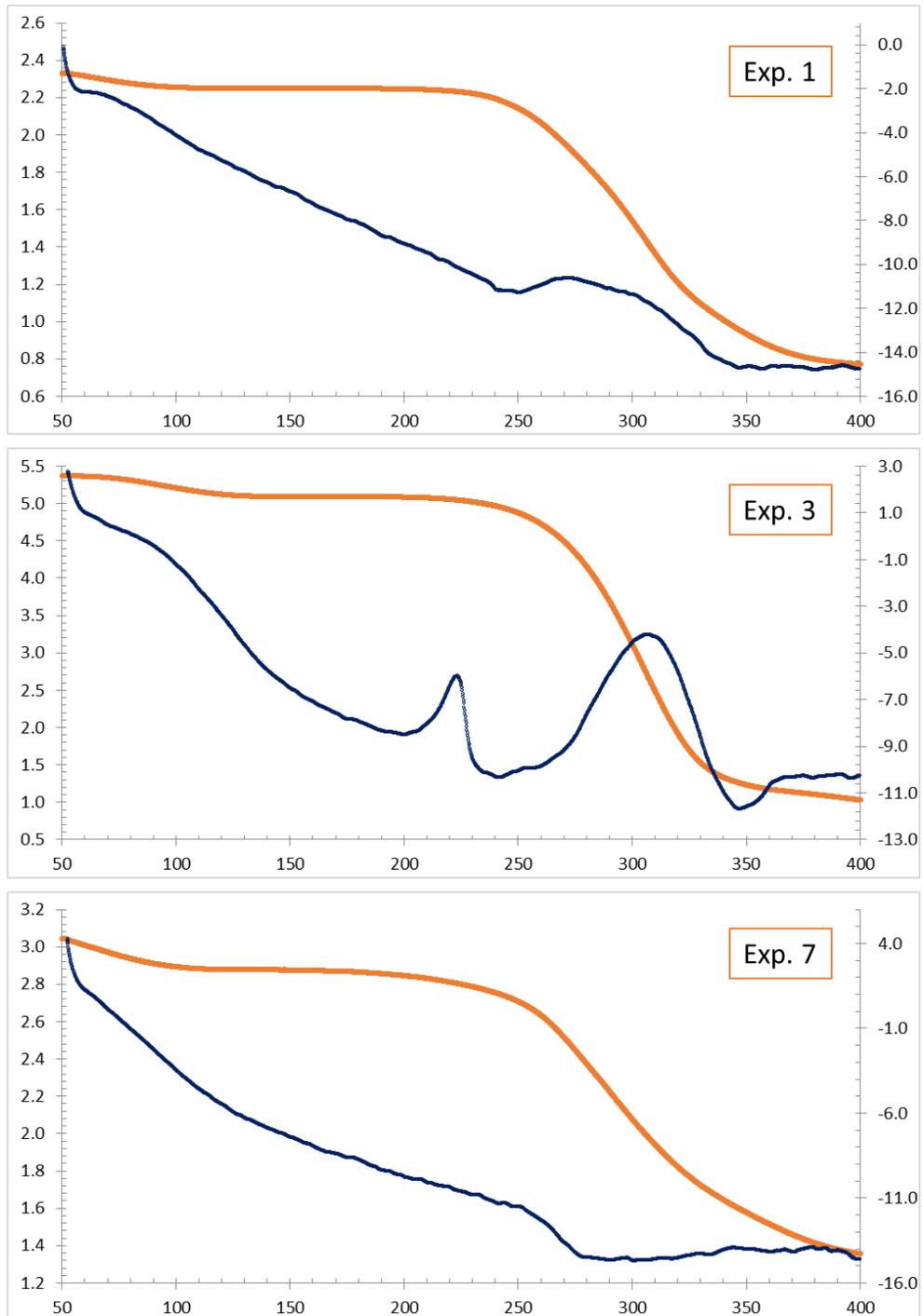
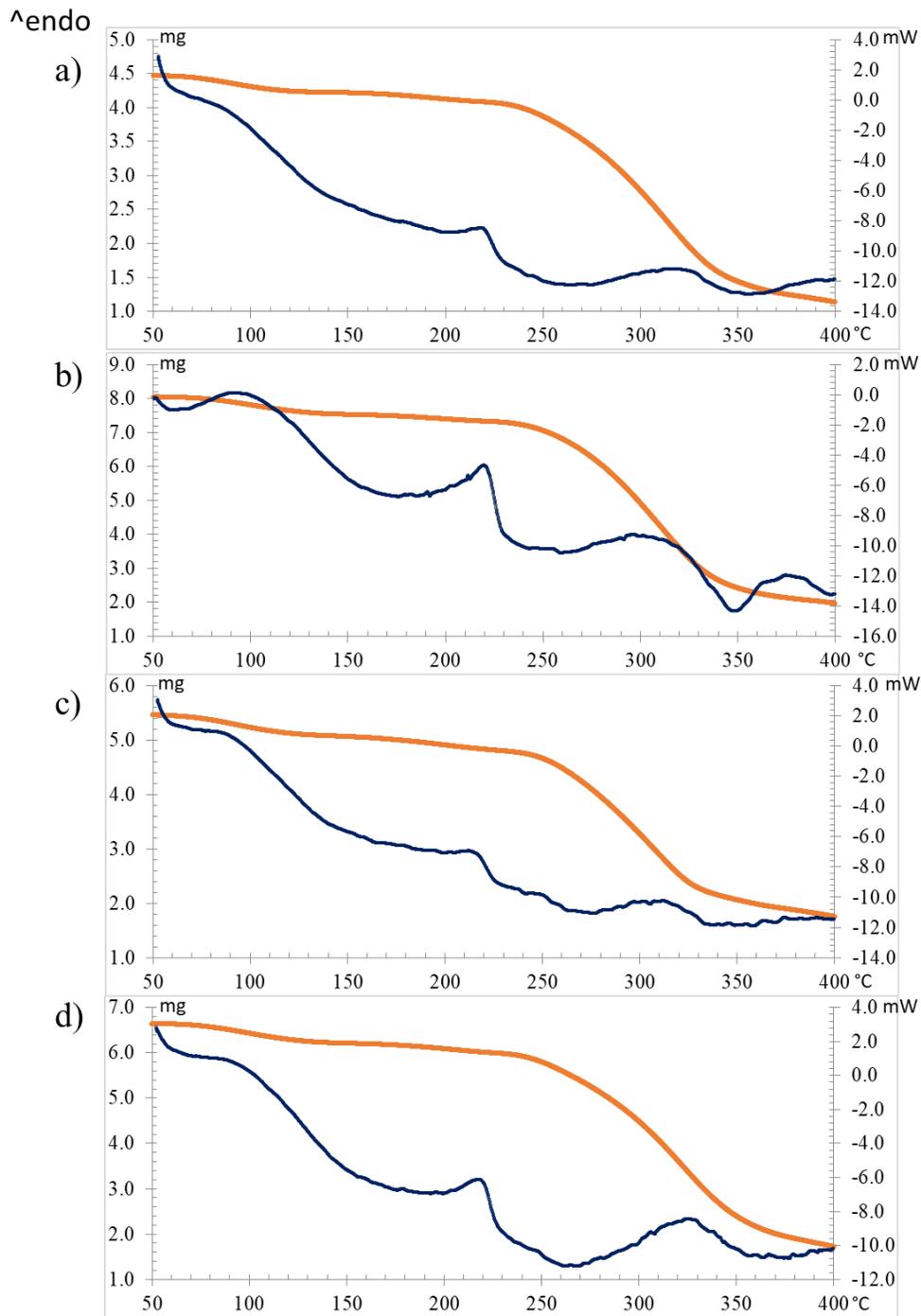


Figura 38. Termogravimetría (línea azul) y calorimetría diferencial de barrido (línea naranja) de los experimentos 1, 3 y 7: 1) Muestra de celulosa bacteriana pura; 3) Celulosa bacteriana-alcohol polivinílico 4% (p/p); 7)

*Celulosa bacteriana-quitosano 1% (p/p).*



*Figura 39. Termogravimetría y calorimetría diferencial de barrido de los experimentos 5, 6, 8, y 9. A) Celulosa bacteriana, quitosano (0,5% p/p) y alcohol polivinílico (2% p/p). B) Celulosa bacteriana, quitosano (0,5% p/p) y alcohol polivinílico (4% p/p). C) Celulosa bacteriana, quitosano (1% p/p) y alcohol polivinílico (2% p/p). D) Celulosa bacteriana, quitosano (1% p/p) y alcohol polivinílico (4% p/p).*

### **4.3. Películas de celulosa regenerada con quitosano y alcohol polivinílico: Efecto del contenido de humedad en las propiedades de barrera, mecánicas y ópticas**

A partir de los resultados obtenidos en la caracterización previa de las películas a base de celulosa regenerada combinada con quitosano y PVOH, se seleccionó la formulación con mejores propiedades funcionales, como mejores propiedades elásticas manteniendo buenos valores de resistencia tanto a la tensión como a la punción, buenas propiedades ópticas y apariencia visual, para evaluar el efecto plastificante del agua adsorbida en la estructura de la película. Para ello, se elaboraron películas a partir de una solución del 4% (p/p) de celulosa microcristalina combinadas con quitosano y PVOH por inmersión en un baño con una disolución de 1% (p/p) de quitosano y un 4% (p/p) de PVOH.

#### **4.3.1. Evaluación de las isothermas de absorción de humedad**

Los datos experimentales de adsorción de humedad y el ajuste GAB de la isoterma a 30°C para películas de celulosa regenerada combinadas con quitosano y PVOH se muestran en la Figura 40. Las isothermas de absorción de humedad relacionan la actividad del agua con el contenido de humedad. En muchos casos, el efecto del agua sobre las propiedades del material hidrófilo se explica mejor por la actividad del agua que por el contenido de humedad.

Las muestras de película alcanzaron el mayor contenido de humedad del 27.53% a  $a_w = 0.9$ . En estudios previos, el contenido de humedad de las películas de celulosa pura regenerada oscilaba entre el 10 y el 16% a  $0.9 a_w$  y 25°C, dependiendo de la fuente de celulosa (Bedane, Eic, et al., 2015). Datos publicados para películas de quitosano puro (1% p/p) indican valores de contenido de humedad de hasta el 40% cuando se acondicionó a  $0.9 a_w$  y 30°C (Aguirre-Loredo et al., 2016). Las mezclas de quitosano (2%, p/v) y PVOH (2,3%, p/v) permitieron obtener contenidos de humedad que oscilaron entre

el 25 y el 35%, dependiendo de la proporción de los polímeros (Srinivasa et al., 2003). Así, las películas de celulosa regenerada combinadas con quitosano y PVOH mostraron valores máximos de contenido de humedad superiores a los obtenidos para la celulosa pura, pero inferiores a los observados en las películas de quitosano y quitosano-PVOH en condiciones similares. Los resultados sugieren que la adición de quitosano y PVOH aumentó el contenido de humedad en las películas de celulosa regenerada debido a su naturaleza hidrófila. Este aumento se debió a los grupos hidroxilo y amino con una alta afinidad por las moléculas de agua del medio ambiente (Liu et al., 2018; Vargas, Chiralt, Albors, & González-Martínez, 2009). Por otro lado, la presencia de celulosa limitó la cantidad de agua que interaccionó con la matriz a consecuencia de las interacciones que se establecieron entre celulosa-quitosano-PVOH y la reducción del número de sitios disponibles para la adsorción de agua.

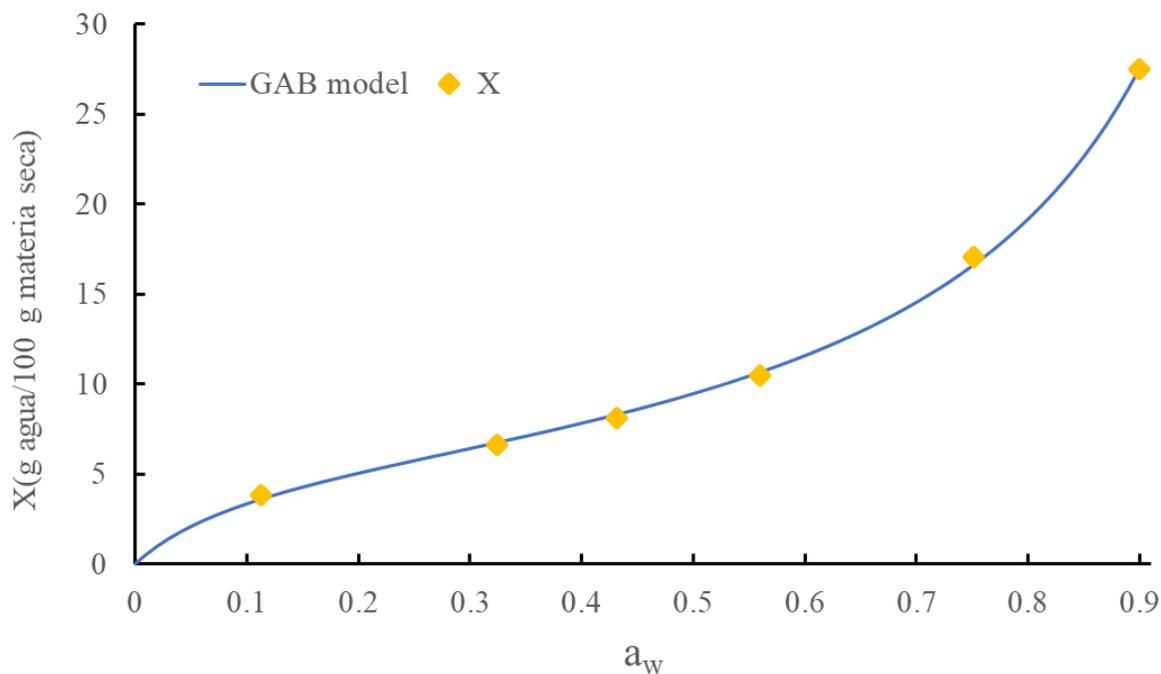


Figura 40. Isoterma de adsorción de agua de películas de celulosa regenerada, quitosano y alcohol polivinílico a 30°C. La línea sólida muestra el ajuste obtenido con el modelo GAB. X es el contenido de humedad de equilibrio de las muestras.

La isoterma de adsorción de humedad mostró una curva con forma sigmoideal, típica de polímeros sensibles al vapor de agua (Aguirre-Loredo et al., 2016; Bertuzzi et al., 2007; Moreira et al., 2011; Rivero, Damonte, Garcia, & Pinotti, 2016; Srinivasa et al., 2003). En la literatura se describen tres regiones principales para este tipo de isotermas. La primera región de la curva ( $a_w < 0.2$ ) corresponde a la adsorción de moléculas de agua en la monocapa mediante puentes de hidrógeno en los grupos polares de la película. La segunda región, una región lineal ( $0.2 < a_w < 0.6$ ) corresponde a la adsorción de moléculas de agua en las multicapas. En la tercera región ( $a_w > 0.6$ ), ocurre un drástico aumento de la pendiente debido a la condensación de agua en los poros de la matriz, produciendo la hidratación e hinchamiento de los polímeros hidrófilos (Srinivasa et al., 2003; Su et al., 2010).

Los datos experimentales de adsorción de humedad se ajustaron al modelo matemático de GAB ( $r^2 > 0.99$ ). Los parámetros de GAB,  $X_m$ , C y K calculados fueron 5.93, 11.00 y 0.88, respectivamente. Estudios publicados han reportado valores de contenido de humedad en la monocapa para películas de celulosa regenerada de  $X_m = 7.16$  y, para películas quitosano-PVOH en diferentes proporciones, valores entre 7.86 y 12.76 (Bedane, Eic, et al., 2015b; Srinivasa et al., 2003). Comparando los valores obtenidos en el presente trabajo, con los valores previamente publicados e indicados, se esperaba un valor de contenido de humedad en la monocapa mayor que el publicado para las películas de celulosa regenerada pura. Sin embargo, las películas desarrolladas de celulosa regenerada combinadas con quitosano y PVOH mostró valores menores. Aunque la presencia de quitosano y PVOH proporcionó mayor número de sitios más activos, debido al aumento de los grupos hidroxilo y amino en la superficie de la película, el contenido de humedad en la monocapa fue menor. Probablemente, las interacciones entre los componentes de la película compuesta limitaron la disponibilidad de estos sitios de unión. Además, la presencia de quitosano y PVOH modificó la superficie de la celulosa regenerada, reduciendo los huecos disponibles para la retención de las moléculas de agua.

Siguiendo las clasificaciones de Brunauer, las películas a base de celulosa regenerada combinada con quitosano y PVOH mostraron una isoterma de sorción de tipo II ( $0 \leq K \leq 1$  y  $C > 2$ ), la isoterma de sorción más común de los materiales de origen biológicos y alimenticios (Blahovec, 2004; Hazaveh et al., 2015).

#### **4.3.2. Permeabilidad del vapor de agua a diferentes actividades de agua**

La permeabilidad al vapor de agua de las películas con la formulación seleccionada para el estudio (celulosa 4%-quitosano 1%-PVOH 4%) se analizó a diferentes contenidos de humedad, calculados a partir de la isoterma de adsorción de humedad a 30°C. Como se muestra en la Figura 41, los valores de WVP de las muestras aumentaron a medida que el contenido de humedad de las películas aumentó, obteniendo valores de permeabilidad entre  $6.86 \cdot 10^{-12}$  a  $6.34 \cdot 10^{-11}$  g/ m·s·Pa. Por lo que la permeabilidad al vapor de agua de las películas dependió del contenido de humedad de cada muestra. Los valores de permeabilidad permanecieron bajos hasta un valor de  $a_w$  de aproximadamente 0.3, mostrando un fuerte aumento de  $a_w > 0.35$  (Figura 41).

En los materiales sintéticos e hidrófobos, las propiedades de permeabilidad son independiente del contenido de agua. Sin embargo, en el caso de los materiales hidrófilos, como la celulosa, el quitosano y el PVOH, los grupos polares (grupos amino e hidroxilo) interactúan con las moléculas de agua, lo que da lugar a importantes cambios estructurales. Estos cambios estructurales modifican la difusión de las moléculas de agua a través de la matriz de la película, lo que conduce a variaciones en los valores de WVP (Bedane, Eic, et al., 2015; Chinnan & Park, 1995; Roy et al., 2000). Durante el proceso de plastificación, las moléculas de agua aumentan el volumen libre en el polímero debido a la hidratación e hinchamiento del material, perdiendo la estructura empaquetada. El hinchamiento de las películas mejora la movilidad de las cadenas poliméricas, facilitando la difusión del agua a través de la matriz polimérica. Como resultado, se produce un aumento de la permeabilidad del vapor de agua, que es más evidente cuando hay un alto contenido de humedad (Bedane, Eic, et al., 2015b; Chinnan & Park, 1995; Roy et al., 2000; Su et al., 2010; Wiles, Vergano, Barron, Bunn, & Testin, 2000). Se ha observado

un comportamiento similar en otras películas basadas en biopolímeros hidrófilos como el quitosano (Aguirre-Loredo et al., 2016).

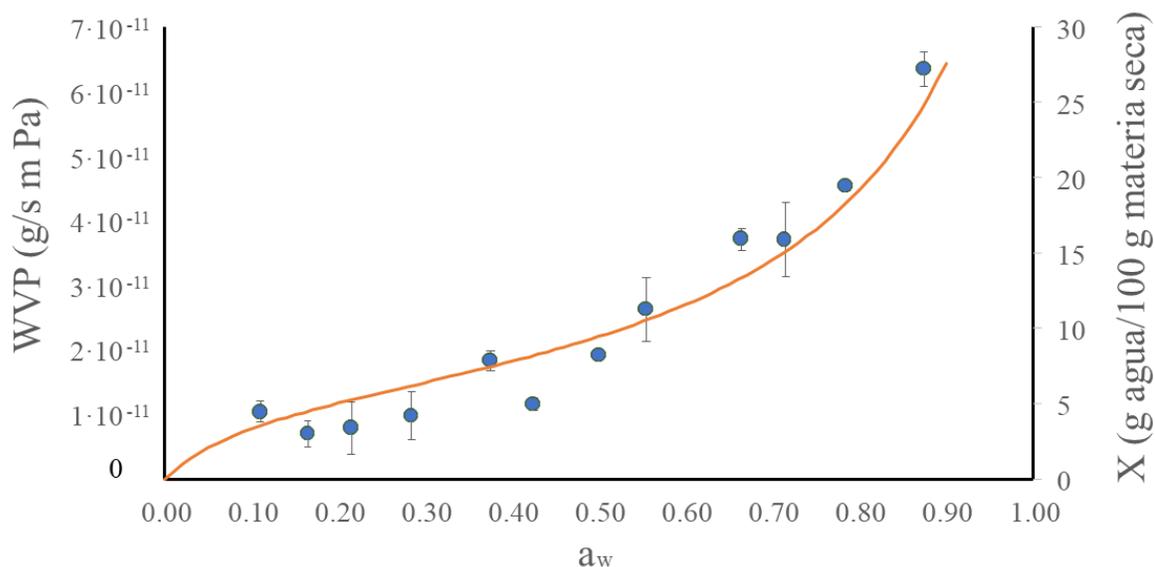


Figura 41. Permeabilidad al vapor de agua de las películas a base de celulosa regenerada, quitosano y alcohol polivinílico medida a 30°C en función de la  $a_w$ . La línea sólida muestra la isoterma obtenida con el modelo GAB. X es el contenido de humedad de equilibrio de las muestras.

### 4.3.3. Propiedades mecánicas a diferentes actividades de agua

Las propiedades mecánicas de tensión y punción de las películas de celulosa regenerada con quitosano y PVOH se evaluaron en un amplio rango de condiciones de  $HR_{eq}$  para analizar los cambios de las propiedades mecánicas en función del contenido de humedad o la actividad del agua. Como se muestra en la Figuras 42 y Figura 43, las propiedades mecánicas de la película evaluadas fueron significativamente afectadas por el contenido de humedad ( $p < 0.05$ ).

En cuanto a las propiedades mecánicas de tensión, los valores de TS oscilaron entre 8.63 y 72.77 MPa. Se observaron principalmente dos regiones (Figura 42a); en primer lugar, hasta  $a_w = 0.32$ , la TS aumentó al aumentar la HR y, por lo tanto, el contenido de humedad de la película, seguido de una disminución continua de los valores de TS para muestras acondicionadas a valores de  $a_w > 0.32$ . Los valores de %E (Figura 42b)

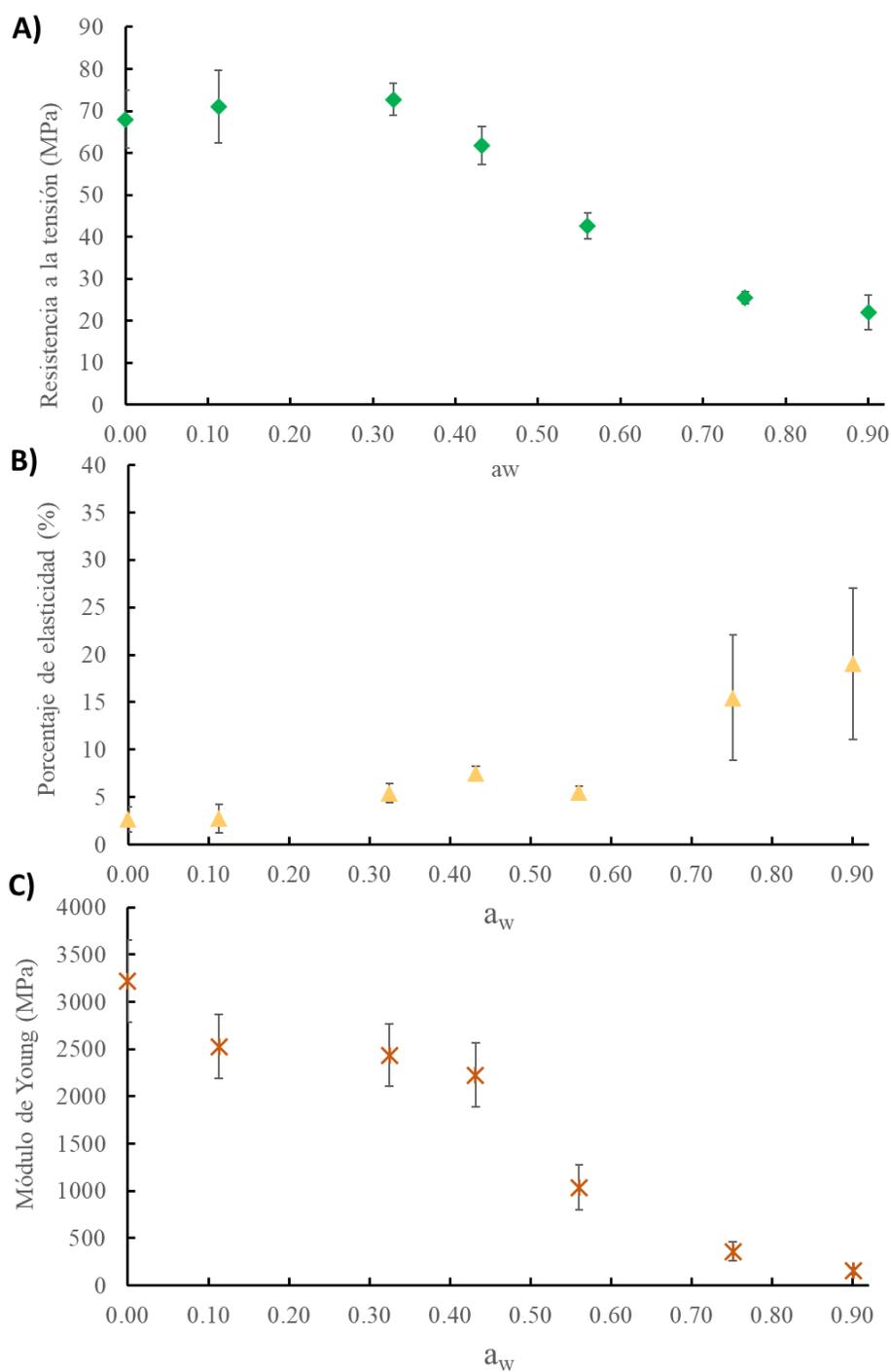
aumentaron ligeramente de 2.65 a 7.51% cuando la  $a_w$  aumentó a 0.57. Para valores de  $a_w > 0.57$ , los valores del porcentaje de elongación mostraron un aumento más intenso, aumentando de 5.49% hasta un valor máximo de 31.43% para películas acondicionadas al máximo valor de  $a_w$  evaluado. El módulo de Young (Figura 42c) se situó entre 40 y 3224.67 MPa. La disminución con la mayor pendiente se produjo entre  $0.43 < a_w < 0.75$ , disminuyendo el valor de YM de 2224.60 a 361.42 MPa.

Los grupos hidrófilos polares en el quitosano y el PVOH promovieron la absorción de humedad en las películas (Liu et al., 2018). La naturaleza higroscópica del quitosano y el PVOH permitió incorporar agua adicional en la matriz de la película. Las moléculas de agua adsorbidas cambiaron la estructura interna de las películas compuestas, convirtiéndose en materiales poliméricos blandos y elásticos (Chang, Abd Karim, & Seow, 2006; Liu et al., 2018). El agua ejerció un efecto plastificante en las películas desarrolladas, mejorando la movilidad de las cadenas poliméricas. El bajo peso molecular de las moléculas de agua facilita la movilidad molecular de los polímeros amorfos y parcialmente cristalinos (Mali et al., 2005). Estos cambios estructurales en la película, como resultado del efecto plastificante del agua, se reflejaron en las propiedades mecánicas, disminuyendo los valores de TS y YM y un consecuente aumento del %E (Sothornvit & Krochta, 2005).

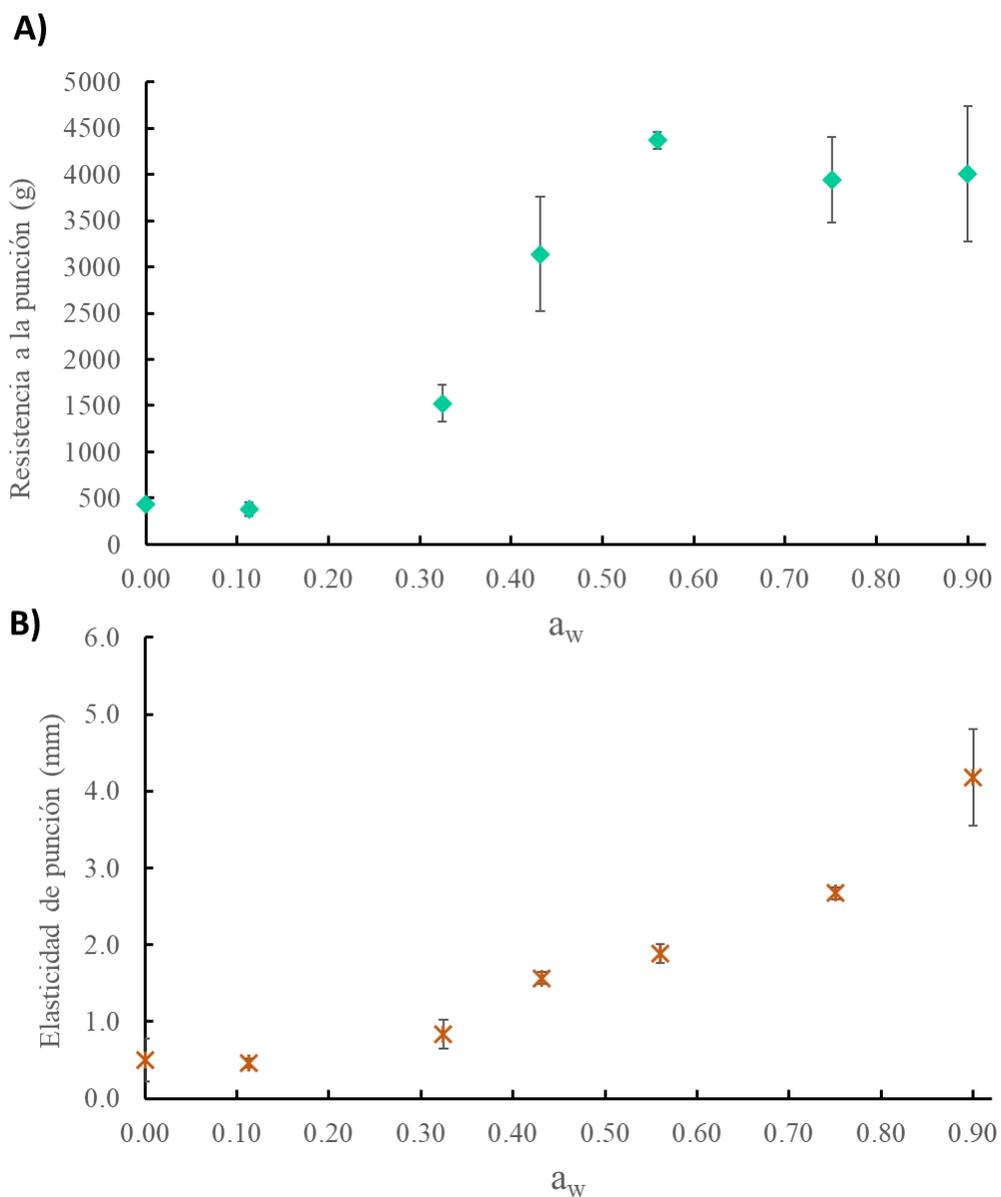
En la prueba de punción, los valores de BS (Figura 43a) oscilaron entre 378.07 y 4370.50 g. La resistencia a la rotura por punción aumentó cuando la actividad del agua incrementó, alcanzando el valor máximo a  $a_w = 0.57$ . En el rango de  $0.57 < a_w < 0.75$  los valores permanecieron en el rango de 3940.03 a 4370.50 g, con pequeñas variaciones.

Los resultados indican que, en general, el contenido de agua de la película mejoró las propiedades de resistencia a las fuerzas axiales. El efecto plastificante aumentó la movilidad de las cadenas del polímero, como se mencionó en el análisis de las propiedades de tensión. Este efecto facilitó la reorganización de las cadenas poliméricas durante la deformación por perforación, reduciendo la fragilidad y aumentando los valores de BS. Este comportamiento coincide con el efecto observado del contenido de agua sobre la propiedad de la DB (elasticidad de punción), aumentando la elasticidad de las

películas al aumentar el contenido de humedad de las muestras. Los valores de la DB aumentaron de 0.50 mm ( $a_w = 0$ ) a un valor máximo de 4.18 mm ( $a_w = 0.90$ ). El efecto plastificante de las moléculas de agua en los materiales hidrófilos y su impacto en las propiedades mecánicas también se han reportado en estudios previos (Aguirre-Loredo et al., 2016; Liu et al., 2018; Mali et al., 2005; Zhang & Han, 2008).



*Figura 42. Propiedades mecánicas de las películas de celulosa regenerada, quitosano y alcohol polivinílico a 30 °C en función de la  $a_w$ . A) Efecto de las moléculas de agua sobre la resistencia a la tensión. B) Efecto de las moléculas de agua sobre el porcentaje de elasticidad. C) Efecto de las moléculas de agua en el módulo de Young.*



*Figura 43. Propiedades de punción de películas de celulosa regenerada, quitosano y alcohol polivinílico a 30°C en función de la  $a_w$ . A) Efecto de las moléculas de agua sobre la resistencia a la punción. B) Efecto de las moléculas de agua en la elasticidad de punción.*

#### **4.3.4. Propiedades ópticas a diferentes actividades de agua**

Las propiedades ópticas como el color, la transparencia y la opacidad son parámetros importantes en términos de apariencia, ya que los consumidores esperan que

el producto envasado sea agradable. Además, las películas con buenas propiedades de barrera a los rayos ultravioleta permiten ampliar la vida útil de los productos envasados, retrasando la degradación de los componentes que afectan a su calidad. Las propiedades ópticas pueden sufrir modificaciones dependiendo de las condiciones de humedad durante el almacenamiento debido a la afinidad del agua con los componentes de la película. La Figura 44a muestra las propiedades de barrera de luz de las películas por los valores de transmitancia de las muestras en la región UV de 200 a 400 nm.

En el Tabla 15 se resumen los resultados obtenidos del análisis de las propiedades ópticas de las películas. Según los datos de las propiedades de barrera a la radiación UV, la actividad del agua de la película disminuyó la transmitancia de las muestras en la región UV. La presencia de moléculas de agua disminuyó la transmitancia de 16.34 a 7.95 %, de 12.06 a 5.03 % y de 5.28 a 2.38 % en la región UV-A, UV-B y UVC. Por lo tanto, los datos indicaron que la presencia de agua mejoró las propiedades de barrera UV de las películas desarrolladas. Esta mejora podría ser el resultado de múltiples factores, entre ellos las propiedades ópticas del agua (Litjens et al., 1999; Quickenden & Irvin, 1980), las modificaciones en la estructura y el aumento del espesor debido al efecto plastificante del agua (Bertuzzi et al., 2007). Se evaluó el efecto del contenido de agua sobre los parámetros CIE  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , los valores de transparencia y opacidad. En la Tabla 15 se resumen los resultados obtenidos del análisis de las propiedades ópticas de las películas. La principal diferencia fue la disminución de la luminosidad (valor  $L^*$ ) de las muestras a medida que aumentaba la actividad del agua. Además, las moléculas de agua produjeron un ligero aumento del color amarillento (valor  $b^*$ ). Los valores de  $b^*$  fueron similares a los obtenidos para otras películas con quitosano (Thakhiew et al., 2010). En el caso del parámetro  $a^*$ , los valores oscilaban entre 0.16 y 0.57 y no se observó una tendencia clara de la variación de los valores en función de la actividad del agua. Finalmente, el aumento del contenido de agua de las muestras produjo una disminución de los valores de transparencia y, en consecuencia, un aumento de la opacidad. Los resultados mostraron óptimas propiedades de barrera UV del compuesto desarrollado con un buen aspecto visual que podría tener aplicaciones potenciales en productos alimenticios.

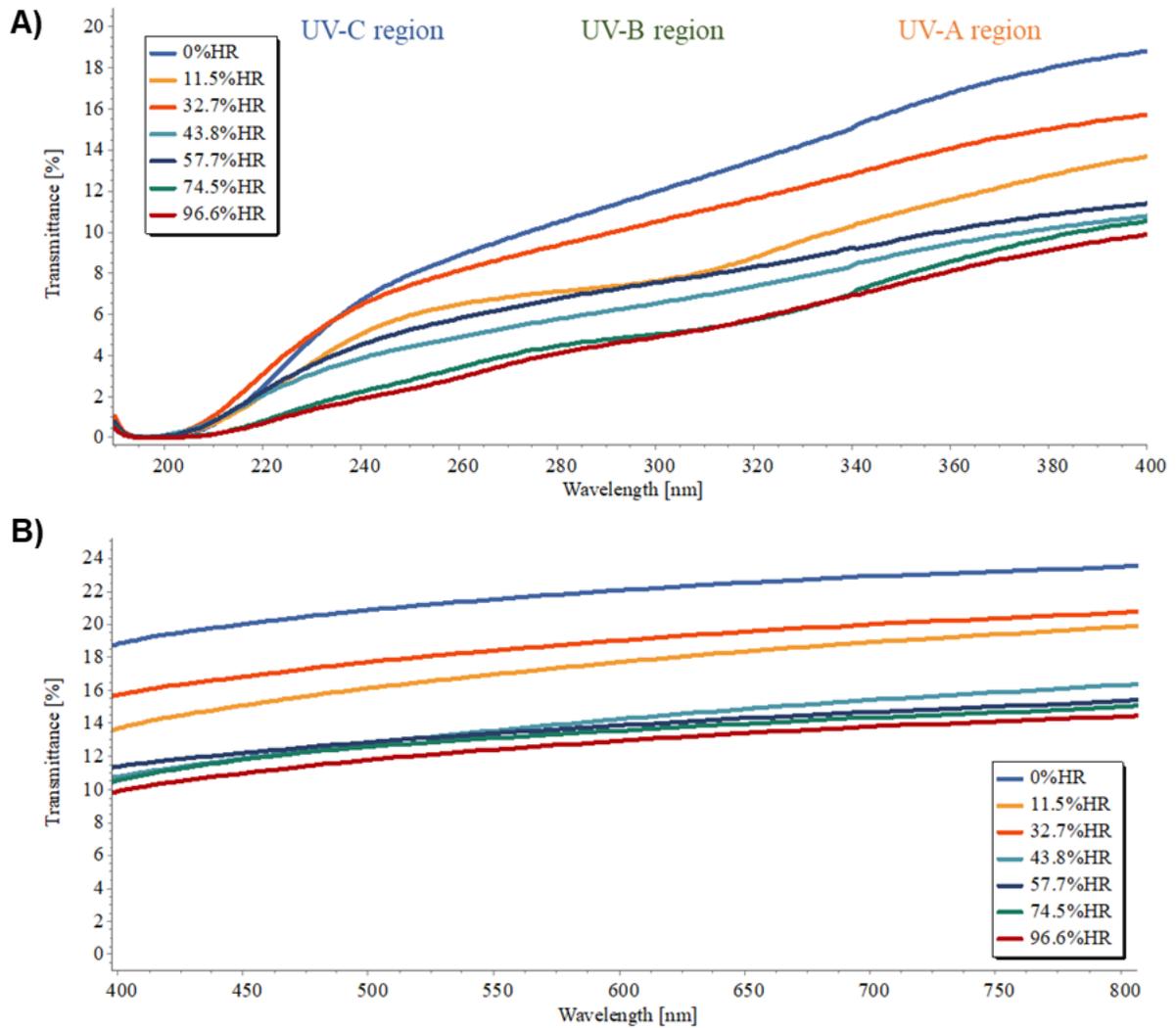


Figura 44. Perfil espectral UV-VIS en función de la  $a_w$  de las películas de celulosa regenerada-quitosano-alcohol polivinilo acondicionadas a 30°C. A) Porcentaje de transmitancia de las muestras en la región UV. B) Porcentaje de transmitancia de las muestras en la región VIS.

Resultados. Películas de celulosa regenerada con quitosano y alcohol polivinílico: Efecto del contenido de humedad en las propiedades de barrera, mecánicas y ópticas

Tabla 15. Parámetros de color, valores de transmitancia porcentual promedio en cada región de radiación de luz ultravioleta UV-A (320-400 nm), UV-B (280-320 nm) y UV-C (190-280 nm) y propiedades ópticas de las muestras preacondicionadas a diferentes humedades relativas y a 30°C.

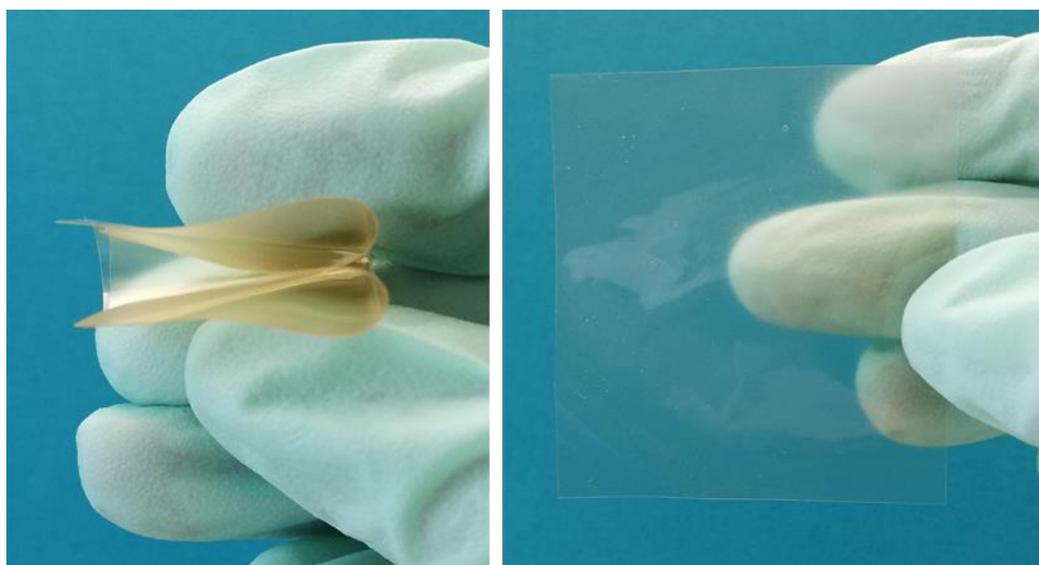
$a_w$	L*	a*	b*	(UV-A) %T	(UV-B) %T	(UV-C) %T
0	53.55	0.20	2.79	16.34	12.06	5.28
0.11	48.31	0.45	4.16	11.00	7.94	4.04
0.32	50.06	0.33	3.27	13.78	10.50	5.18
0.43	43.70	0.57	4.36	9.20	6.59	3.29
0.57	43.43	0.36	3.07	10.00	7.58	3.87
.074	43.00	0.16	3.41	8.20	5.11	2.48
0.96	41.93	0.34	3.89	7.95	5.03	2.38

$a_w$	T600	%T600	Abs500	Transparencia	Opacidad	Espesor mm
0	0.22	22.09	0.67	14.94	7.49	0.09
0.11	0.17	17.25	0.79	13.30	8.48	0.09
0.32	0.19	19.36	0.75	15.69	9.16	0.08
0.43	0.14	14.08	0.88	12.35	9.51	0.09
0.57	0.13	13.48	0.88	12.15	9.45	0.09
0.74	0.13	13.14	0.91	11.19	9.13	0.10
0.96	0.13	12.79	0.92	11.07	9.16	0.10

#### **4.4. Películas de celulosa bacteriana con quitosano y alcohol polivinílico: Efecto del contenido de humedad en las propiedades de barrera, mecánicas y ópticas**

El estudio previo de la caracterización de las películas de BC-quitosano-PVOH con diferentes concentraciones de quitosano y PVOH, permitió optimizar la formulación con las propiedades funcionales más idóneas. Se seleccionó la formulación de las películas con buenas propiedades de flexibilidad y apariencia (Figura 45) para evaluar el efecto plastificante del agua adsorbida. Por lo tanto, el presente trabajo evaluó los resultados obtenidos de las películas basadas en una solución de quitosano 1% (p/p) y PVOH 4% (p/p).

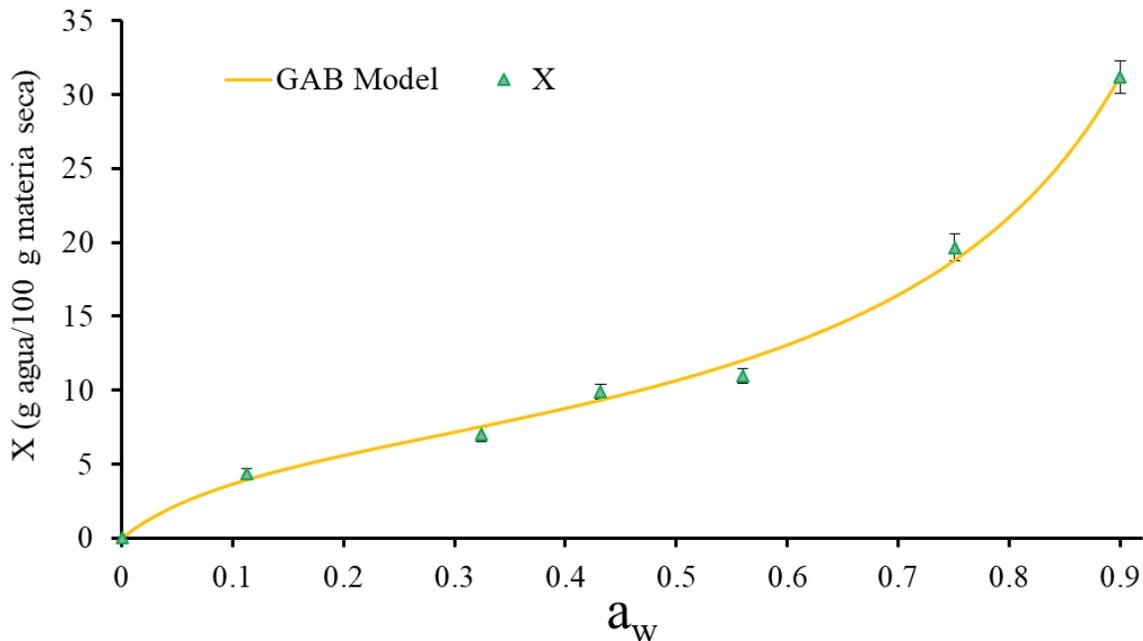


*Figura 45. Películas de celulosa bacteriana combinadas con quitosano 1% (p/p) y alcohol polivinílico (PVOH) 4% (p/p).*

##### **4.4.1. Evaluación de las isothermas de adsorción de humedad**

La isoterma de adsorción de humedad de un material representa la relación de equilibrio entre el contenido de humedad y la actividad del agua ( $a_w$ ) a una temperatura determinada (Tantala et al., 2019). La Figura 46 muestra la isoterma de adsorción de

humedad de la película de CB combinada con quitosano 1% (p/p) y PVOH 4% (p/p) acondicionadas en diferentes  $HR_{eq}$  a 30°C. La isoterma sigmoidal de esta muestra podrían clasificarse como de tipo II, según la clasificación de Brunauer (Blahovec, 2004; Hazaveh et al., 2015).



*Figura 46. Isotherma de adsorción de humedad de las películas de celulosa bacteriana, quitosano y alcohol polivinílico a 30°C. La línea sólida muestra el ajuste obtenido con el modelo GAB. X es el contenido de humedad de equilibrio de las muestras.*

La isoterma mostró una región convexa inicial hasta  $a_w = 0.27$ , correspondiente a la adsorción monocapa de moléculas de agua promovida por la presencia de sitios polares en la superficie de la película. A partir de  $a_w > 0.27$ , se observó una región lineal con un aumento constante del contenido de humedad con la actividad de agua hasta  $a_w = 0.55$ , que corresponde a la adsorción de las moléculas de agua en multicapas. Luego, se produjo un rápido aumento del contenido de humedad cuando  $a_w$  aumentó indicando la presencia de agua de estado libre. En esta región se produjo un fenómeno de hinchamiento de la película a medida que aumentaba la actividad del agua, asociado a la presencia de agua libre dentro de los poros (Imran, El-Fahmy, Revol-Junelles, & Desobry, 2010; Srinivasa et al., 2003; Su et al., 2010).

La isoterma de adsorción de humedad fue similar a otras isothermas calculadas para biopolímeros con propiedades hidrófilas observadas en trabajos publicados anteriormente (Aguirre-Loredo et al., 2016; Bertuzzi et al., 2007; Moreira et al., 2011; Rivero et al., 2016; Srinivasa et al., 2003; Tantala et al., 2019).

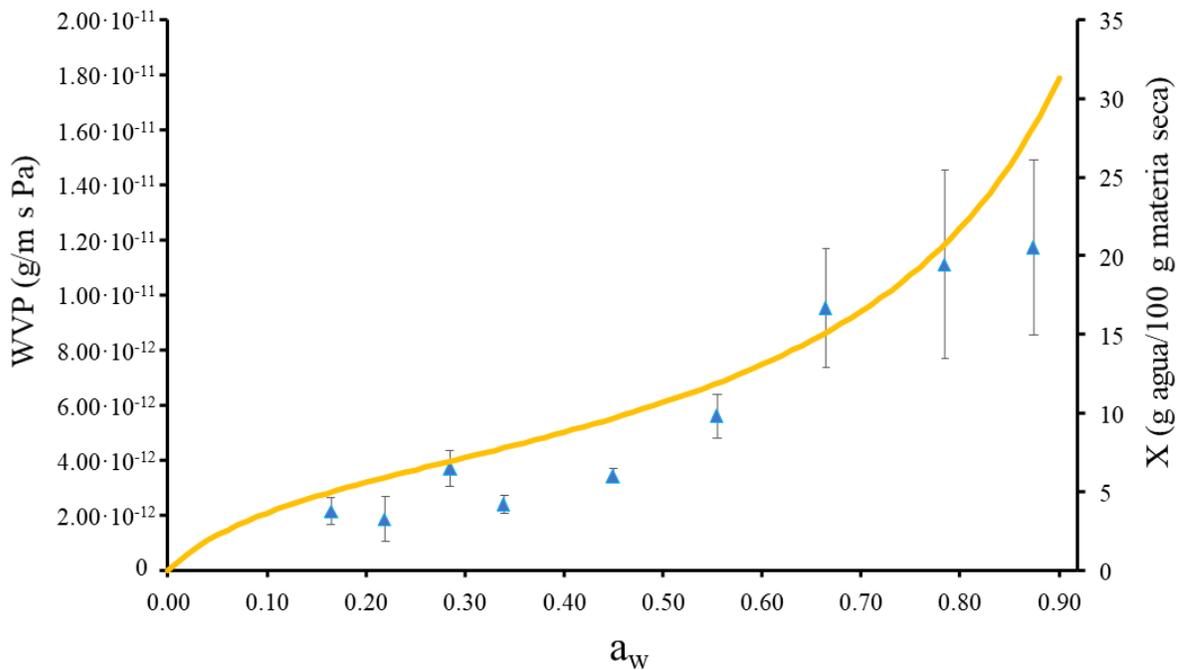
Los datos experimentales de adsorción se ajustaron bien usando la ecuación GAB ( $r^2 > 0.99$ ), obteniendo los valores de los parámetros del GAB  $X_m = 6.74$ ,  $C = 10.24$  y  $K = 0.88$ . El parámetro  $X_m$  es útil para evaluar las características higroscópicas de las películas. Este parámetro indica la cantidad máxima de humedad adsorbida en una sola capa en un sustrato. En estudios anteriores se publicaron valores de contenido de humedad en la monocapa de películas biodegradables basadas en celulosa regenerada pura que oscilaban entre 6.31 y 7.16 (Bedane, Eic, et al., 2015; Sun et al., 2010), el quitosano puro 9.25 (Aguirre-Loredo et al., 2016), y la mezcla de quitosano y PVOH oscilaba entre 7.86 y 12.76 (Srinivasa et al., 2003). Se esperaba obtener un valor  $X_m$  similar al registrado en las películas de quitosano puro o de quitosano-PVOH. La microscopía electrónica de barrido evidenció la formación de un recubrimiento de quitosano-PVOH en las caras inferior y superior de las películas de celulosa bacteriana. El quitosano y el PVOH poseen un mayor contenido de grupos hidroxilo y amino que podrían interactuar con las moléculas de agua. Por esta razón, podría suponerse que la capacidad de retener la humedad en la monocapa se vería considerablemente influida por la presencia de quitosano y PVOH. Sin embargo, el CB-quitosano-PVOH mostró valores de  $X_m$  menores, similares a los valores reportados para la celulosa pura regenerada (Sun et al., 2010). El bajo valor obtenido para  $X_m$  podría deberse a la interacción entre los componentes de la película, formando nuevos enlaces y limitando los sitios activos de unión donde pueden interactuar las moléculas de agua. Además, el quitosano y el PVOH pueden reducir la rugosidad y la porosidad de las películas, disminuyendo la superficie activa.

Las muestras de CB-quitosano-PVOH alcanzaron el contenido más alto de humedad del 31.16% a  $a_w = 0.9$ , siendo superiores a los valores publicados para la celulosa regenerada pura (Bedane, Eic, et al., 2015). La presencia de quitosano y PVOH

produjo un aumento del contenido de humedad en las películas basadas en CB debido al incremento de grupos hidroxilo y amino con alta afinidad por las moléculas de agua (Liu et al., 2018; Vargas, Albors, Chiralt, & González-Martínez, 2009). Aunque la presencia de celulosa disminuyó el contenido de humedad en relación con el quitosano puro (Aguirre-Loredo et al., 2016).

#### **4.4.2. Permeabilidad del vapor de agua (WVP)**

En este estudio, la WVP de las películas de CB-quitosano-PVOH se midió en un amplio rango de  $a_w$  a 30°C. En la literatura, el proceso de permeación de las moléculas de agua a través de un polímero se describe en cuatro pasos: 1) adsorción de vapor de agua en la superficie del polímero; 2) solubilización dentro de la matriz del polímero; 3) difusión a través de la matriz del polímero; 4) desorción del vapor de agua en el otro lado de la superficie del polímero. Cuando no hay interacciones entre el polímero y el agua, como en el caso de las películas hidrofóbicas como los polímeros sintéticos, el coeficiente de permeabilidad es independiente de la  $a_w$  (Roy et al., 2000). Sin embargo, como se muestra en la Figura 47, el WVP de las películas de CB-quitosano-PVOH depende de la actividad del agua o del  $HR_{eq}$ . Los resultados permitieron analizar las variaciones de las propiedades de la barrera de vapor de agua de las películas bajo diferentes entornos de  $HR_{eq}$ . Los valores de WVP oscilaron entre  $1.86 \cdot 10^{-12}$  y  $1.17 \cdot 10^{-11}$  g/m·s·Pa, aumentando a medida que aumentaba la  $HR_{eq}$  en el medio ambiente o la actividad del agua de la película. Por lo tanto, la WVP del CB-quitosano-PVOH dependía del contenido de humedad de las muestras y de las condiciones ambientales. Como se muestra en la Figura 47, los valores de permeabilidad permanecieron bajos y sin variaciones importantes hasta que se alcanzó un valor de  $a_w = 0.45$ .



*Figura 47. Permeabilidad al vapor de agua de las películas de celulosa bacteriana, quitosano y alcohol polivinílico a 30°C en función de la  $a_w$ . La línea sólida muestra la isoterma obtenida con el modelo GAB. X es el contenido de humedad de equilibrio de las muestras.*

De acuerdo con las isotermas de adsorción de humedad, en esta región se completó la adsorción de agua en la monocapa y se inició la adsorción de humedad en la multicapa. A partir de  $a_w > 0.45$ , la WVP incrementó en forma importante cuando  $a_w$  aumentó. Los principales componentes de la película tienen grupos amino e hidroxilo, que son sitios de unión de las moléculas de agua y proporcionan propiedades hidrofílicas. Debido a la naturaleza hidrófila de estas películas, a mayor HR en el ambiente, el contenido de humedad de las muestras aumentó. Las moléculas de agua adsorbidas plastificaron las áreas amorfas, promoviendo una reorganización interna de la estructura debido a la hidratación de la matriz (Bedane, Eić, et al., 2015a; Chinnan & Park, 1995; Roy et al., 2000; Su et al., 2010). Como resultado, las cadenas de celulosa hidratadas están más separadas, con menos interacciones entre las cadenas. Esta hidratación aumentó el volumen libre de la matriz, facilitando la difusión del vapor de agua a través de la película. Además, esta hidratación podría causar variaciones en el grosor de la

película (Vargas, Chiralt, et al., 2009; Wiles et al., 2000). Los datos se calcularon considerando el espesor de la película seca antes del acondicionamiento, lo que puede afectar a los valores de permeabilidad. Relacionando los datos de permeabilidad obtenidos con las isothermas de adsorción, se observó que el proceso de hinchamiento tuvo lugar en la región de adsorción de moléculas de agua en la multicapa. En esta región se observó un aumento significativo de la permeabilidad debido a los cambios en la estructura de los polímeros (Bertuzzi et al., 2007). Se observó un comportamiento similar en películas de polisacáridos como el almidón (Bertuzzi et al., 2007) y el quitosano (Aguirre-Loredo et al., 2016), cuyas principales propiedades funcionales dependen del contenido de agua y, por tanto, de la humedad circundante.

#### **4.4.3. Propiedades mecánicas a diferentes actividades de agua**

Se evaluó el efecto del contenido de humedad sobre las propiedades mecánicas de las películas de CB-quitosano-PVOH. Se estudiaron las propiedades mecánicas de tensión y punción de las películas previamente acondicionadas en diferentes condiciones de  $HR_{eq}$ . Los resultados se muestran en la Figura 48 y Figura 49. Los resultados mostraron que el comportamiento mecánico de las películas fue significativamente afectado por la  $a_w$  ( $p < 0.05$ ).

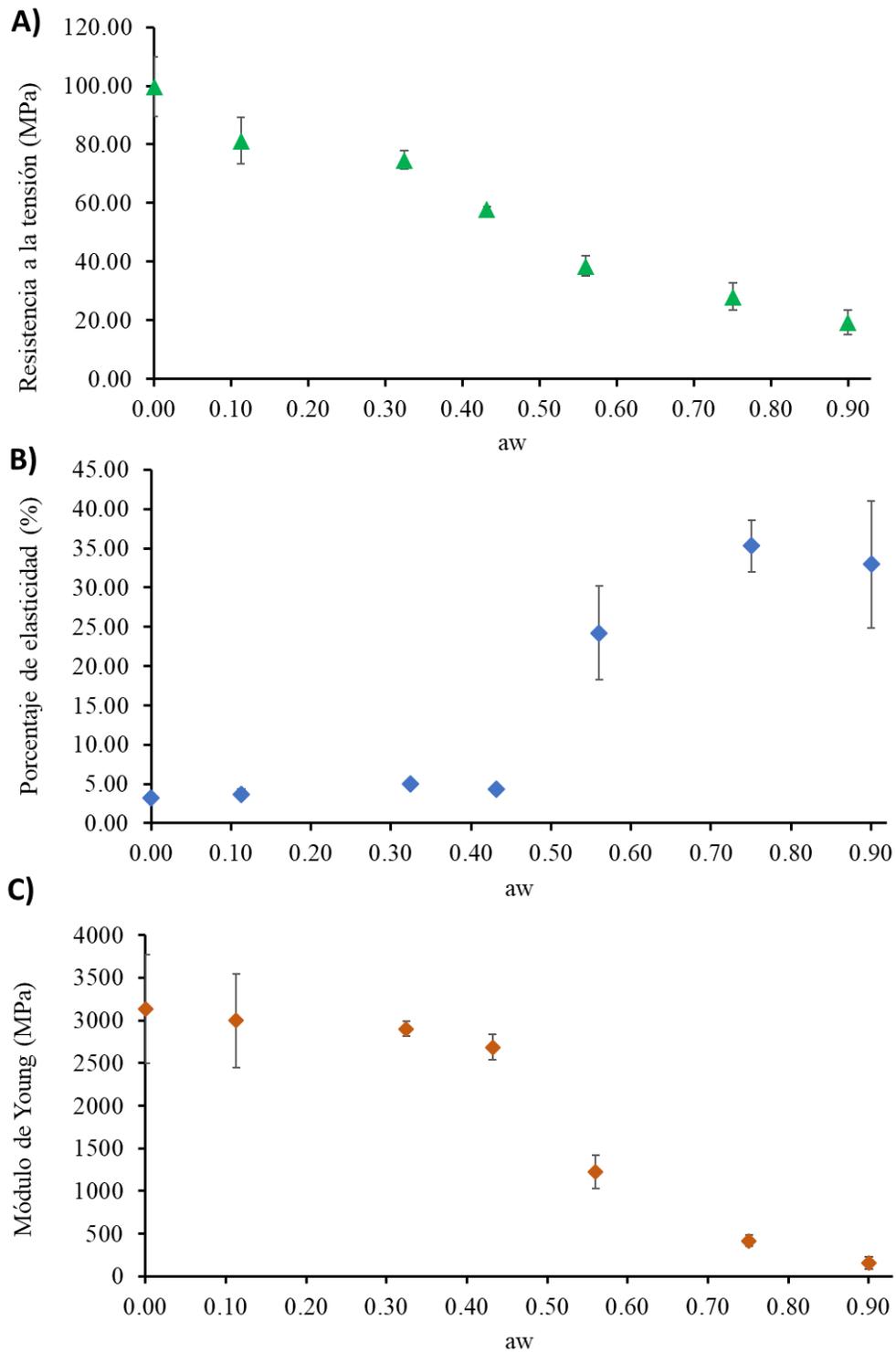
Los valores de TS oscilaron entre 99.76 y 19.33 MPa. El TS disminuyó al aumentar la  $a_w$ , siendo más significativo en la región de  $0.32 < a_w < 0.57$ . En esta región, los valores de TS disminuyeron desde 74.76 hasta 38.56 MPa. El módulo de Young mostró una tendencia similar a la de TS, como se muestra en la Figura 48c. Los valores del módulo de Young oscilaron entre 3133.46 y 30.71 MPa, mostrando una drástica disminución cuando la  $a_w$  aumentó. La disminución más significativa tuvo lugar entre  $0.43 < a_w < 0.75$ , disminuyendo los valores del módulo de Young de 2686.92 a 415.37 MPa. Por otro lado, los resultados de %E mostraron tres regiones (Figura 48b). En primer lugar, hasta  $a_w < 0.43$ , la elongación de las películas no sufrió variaciones significativas cuando  $a_w$  aumentó. Los valores oscilaron entre el 3.25 y el 5.01 %. En el rango de  $0.43 < a_w < 0.75$ , los valores de %E tuvieron un aumento significativo desde 4.31 hasta 35.33%.

Finalmente, en la última región de  $a_w > 0.75$ , los valores de %E mostraron un ligero aumento hasta el 36.55%. De acuerdo con los resultados obtenidos en las isotermas y las propiedades de permeabilidad, los grupos polares del quitosano, el PVOH y el CB promovieron la absorción de humedad en las películas (Liu et al., 2018; Mali et al., 2005). Durante la adsorción de las moléculas de agua en la monocapa, no se produjeron modificaciones estructurales importantes, ya que no se observaron cambios drásticos en la elasticidad de la película. Sin embargo, en las películas acondicionadas a mayor  $HR_{eq}$ , una vez que se completó la adsorción en la monocapa, se produjo la adsorción en la multicapa y las moléculas de agua adsorbidas causaron un reordenamiento de las cadenas de la estructura interna debido a la hidratación. Esta modificación de la estructura dio como resultado un material más suave y elástico debido al efecto plastificante de las moléculas de agua (Aguirre-Loredo et al., 2016; Chang et al., 2006). A valores de  $HR_{eq}$  mayores ( $a_w > 0.70$ ), las variaciones de TS, %E y YM fueron leves. En esta región, las moléculas de agua adsorbidas estaban libres, llenando los huecos vacíos de la matriz. En este estado, las moléculas de agua actuaron como lubricante para facilitar el movimiento de la cadena de polímeros debido a su bajo peso molecular (Sothornvit & Krochta, 2005). Sin embargo, el efecto plastificante no fue significativo en esta región como en la región de las moléculas de agua de adsorción en la multicapa como resultado de las modificaciones estructurales.

En cuanto a la prueba de punción (Figura 49a), los resultados mostraron que las propiedades de elasticidad seguían una tendencia similar a las propiedades de tensión, manifestando un aumento constante de los valores de DB al aumentar los valores de  $a_w$ . Como se muestra en la Figura 49b, los valores de DB aumentaron de 0.64 mm ( $a_w = 0$ ) hasta el valor máximo de 5.12 mm ( $a_w = 0.90$ ). Indicando que el efecto plastificante mejoró la movilidad de las cadenas de polímeros. El aumento más significativo tuvo lugar en la región de la adsorción de humedad en la multicapa en la matriz de la película, que según los resultados obtenidos en el análisis de las isotermas y las propiedades de permeabilidad, se encuentra entre  $0.32 < a_w < 0.56$ . Sin embargo, en el caso de la resistencia a la punción, se observaron dos regiones principales en los que los valores de BS sufrieron las principales modificaciones, primero una tendencia de aumento,

seguida de una disminución de los valores, como se muestra en la Figura 49a. En la primera región, hasta  $a_w = 0.56$ , se observó un aumento en los valores de BS de 538.80 a 4607.00 g. Aumentando la resistencia a la perforación con el aumento de la actividad del agua. El efecto plastificante y la consiguiente reorganización de la estructura mejoró la resistencia a la deformación axial, aumentando los valores de BS. Este comportamiento está de acuerdo con el efecto de la actividad del agua en la propiedad de DB al aumentar la elasticidad de las películas a medida que aumenta la  $a_w$  de las muestras. Por el contrario, se observó una disminución de la resistencia a la punción al aumentar la actividad del agua de la muestra. Los valores de BS disminuyeron de 4607 g ( $a_w = 0.56$ ) a 2429.81 g ( $a_w = 0.90$ ). A mayor altura, la humedad adsorbida en la matriz polimérica suaviza la estructura de las películas compuestas, resultando en una disminución de la resistencia a la rotura cuando las películas fueron sometidas a fuerzas axiales en diferentes direcciones.

Por lo tanto, los resultados mostraron que el agua ejerció un efecto plastificante en las películas de CB-quitosano-PVOH, ayudando a la movilidad de las cadenas poliméricas, con la consiguiente disminución de los valores de TS y YM y el aumento de los valores de %E y DB (Sothornvit & Krochta, 2005). El efecto plastificante de las moléculas de agua en los materiales hidrófilos y su impacto sobre las propiedades mecánicas también se ha reportado en estudios anteriores para otras películas (Aguirre-Loredo et al., 2016; Chang et al., 2006; Mali et al., 2005; Zhang & Han, 2008).



*Figura 48. Propiedades mecánicas de las películas de celulosa bacteriana, quitosano y alcohol polivinílico a 30°C en función de la aw. A) Efecto de las moléculas de agua sobre la resistencia a la tensión. B) Efecto de las moléculas de agua sobre el porcentaje de elongación. C) El efecto de las moléculas de agua en el módulo de Young.*

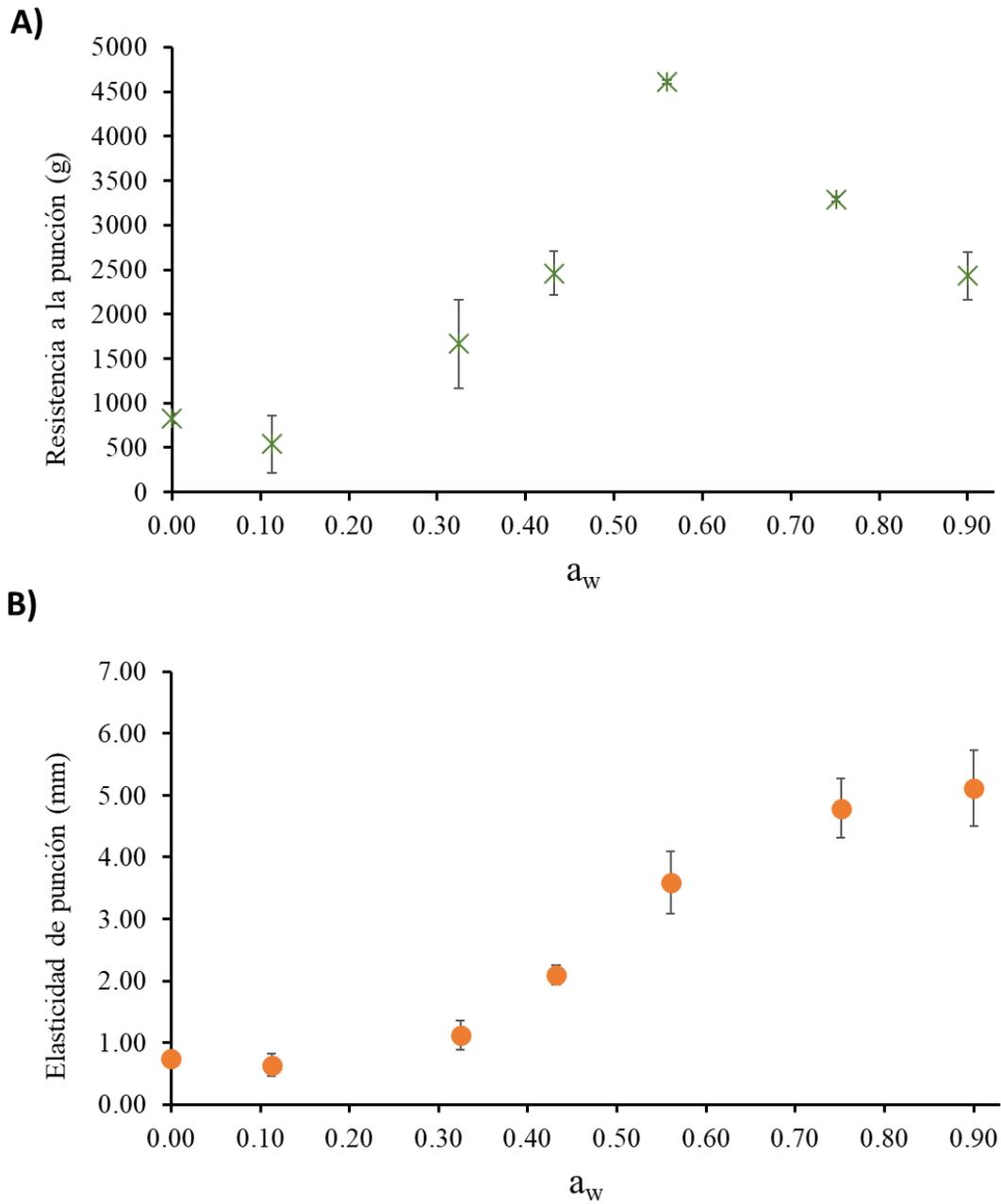


Figura 49. Propiedades mecánicas de punción de las películas de celulosa bacteriana con quitosano y alcohol polivinílico a 30 °C en función de  $a_w$ . A) Efecto de las moléculas de agua sobre la resistencia a la punción. B) Efecto de las moléculas de agua en la elasticidad de punción.

#### 4.4.4. Propiedades de barrera de luz, transparencia y opacidad

El desarrollo de polímeros con propiedades de barrera UV es una buena estrategia para aumentar la vida útil de los alimentos o mantener sus propiedades organolépticas. Estas propiedades podrían ser alteradas dependiendo de las condiciones ambientales, como la HR, donde se aplican. La Figura 50 muestra los valores de transmitancia de las muestras obtenidas en la región entre 190 y 650 nm. La Figura 50a muestra las propiedades de transmisión de las muestras en la región de la radiación UV (190-400 nm) en un amplio rango de HR<sub>eq</sub>. La Tabla 16 muestra los valores medios de transmitancia obtenidos en cada gama de UV (UV-A, UV-B, UV-C).

*Tabla 16. Propiedades ópticas de las muestras preacondicionadas en diferentes condiciones de actividad del agua. Promedio de los valores de transmitancia porcentual en cada región de la radiación de luz ultravioleta UV-A (320-400 nm), UV-B (280-320 nm) y UV-C (190-280 nm). L\*, a\* y b\* son los parámetros de la CIE.*

Humedad relativa	T <sub>600</sub>	Abs <sub>500</sub>	UV-A	UV-B	UV-C
0.00	0.41	0.44	23.76	11.03	2.81
11.50	0.33	0.54	18.41	7.83	1.57
32.70	0.36	0.49	21.09	9.76	2.47
43.80	0.41	0.43	25.08	13.56	4.50
57.70	0.41	0.43	24.11	11.75	3.49
74.50	0.44	0.42	20.35	6.83	1.47
90.50	0.40	0.45	16.86	4.88	1.22
Humedad relativa	L*	a*	b*	Transparencia	Opacidad
0.00	68.57	0.84	6.73	31.57	8.67
11.50	63.00	0.95	7.12	31.74	11.21
32.70	65.51	0.78	6.63	26.48	8.37
43.80	68.71	0.76	5.96	33.53	9.02
57.70	68.83	0.61	6.19	31.60	8.53
74.50	70.40	0.50	8.19	29.28	7.46
90.50	68.27	0.36	8.39	30.29	8.43

Los resultados mostraron que, a partir de  $a_w > 0.43$  (9,9% contenido de humedad), la transmitancia de las muestras en las tres regiones del espectro UV disminuyó con el aumento de  $a_w$ . En esta región ( $a_w > 0.43$ ), la presencia de moléculas de agua disminuyó la transmitancia de 25.08 a 16.86%, de 13.56 a 4.88% y de 4.50 a 1.22% en las regiones UV-A, UV-B y UV-C, respectivamente. El aumento de la actividad del agua mejoró las propiedades de barrera UV de la película. Probablemente, debido a las modificaciones estructurales por el efecto plastificante del agua. También puede asociarse con un cambio en el espesor de la película y las propiedades ópticas del agua (Bertuzzi et al., 2007; Litjens et al., 1999; Quickenden & Irvin, 1980).

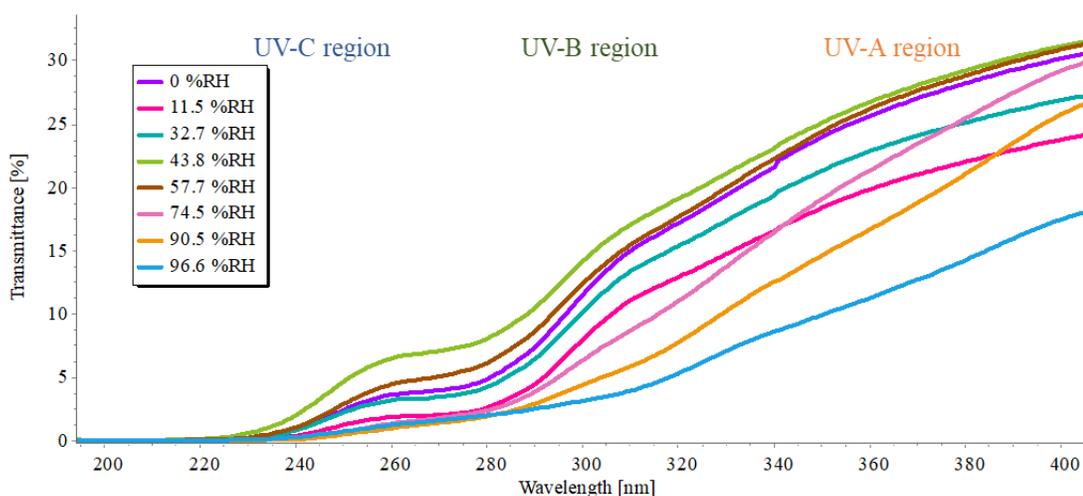


Figura 50. Espectros en la región UV de las películas de celulosa bacteriana, quitosano y alcohol polivinílico a 30°C en función de la humedad relativa (RH).

Los resultados obtenidos para el color ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) y los valores de transparencia y opacidad se muestran en la Tabla 16.

No se observaron cambios significativos en los valores de transparencia y opacidad en función de la  $HR_{eq}$ . Independientemente del color, se observó una tendencia a aumentar la luminosidad (valor  $L^*$ ) y a disminuir el color rojo (valor  $a^*$ ) de las muestras con el aumento de la actividad del agua. Las moléculas de agua produjeron un ligero

aumento del parámetro amarillo (valor  $b^*$ ) a condiciones de  $a_w > 0.43$ . Valores similares fueron reportados en estudios previos de películas de quitosano (Thakhiew et al., 2010). Los resultados mostraron que las películas desarrolladas presentaban propiedades ópticas óptimas a diferentes valores  $a_w$ .

## **5. Conclusiones**

Se desarrollaron películas biodegradables con propiedades funcionales mejoradas mediante la combinación de celulosa vegetal (CV) (3-5% p/p) o bacteriana (CB) con alcohol polivinílico (PVOH) (0-4% p/p) y quitosano (0-1% p/p). Las películas mostraron valores de resistencia a la rotura similares a los publicados para las películas de polímeros sintéticos, con propiedades de elasticidad, dureza, resistencia a la punción y elasticidad de punción mejoradas. Las películas de CB mostraron valores de resistencia a la rotura menores a los valores de las películas de celulosa regenerada, a pesar de que CB tiene mayor grado de cristalinidad. Probablemente, esta diferencia se debió principalmente a la variación de espesor entre las películas, siendo menor el espesor de CB, que puede implicar una menor interacción entre las fibras de celulosa, y por otro lado la disposición de las fibras de celulosa en la estructura de la película, teniendo la CB una estructura menos compacta que la celulosa regenerada.

Tanto en la celulosa regenerada como en la CB, el PVOH y el quitosano mostraron un efecto plastificante y de refuerzo sobre las películas de celulosa que se tradujo en la mejora de las propiedades mecánicas. La estructura abierta y porosa de las películas de CB facilitaron la difusión del PVOH y el quitosano dentro de la matriz polimérica, observando un mayor efecto reforzante de la estructura comparada con las películas de celulosa regenerada, observando importantes incrementos en las propiedades mecánicas de las muestras, principalmente en las correspondientes a la elasticidad del polímero compuesto. En ambos casos, las propiedades mecánicas mejoradas permitieron obtener películas a base de celulosa más fáciles de manipular que las películas obtenidas a partir de celulosa pura, al obtener películas con mayor elasticidad y resistencia a la rotura. Películas a base de celulosa más elásticas y resistentes suponen una posibilidad de incrementar las potenciales aplicaciones de este material. Los modelos poliméricos obtenidos que describen las variables de estudio, permiten determinar la formulación más adecuada de la película compuesta en función de su finalidad o aplicación.

Los análisis FT-IR y DSC indicaron una interacción física entre los componentes de las películas, observando el incremento de la estabilidad térmica. Sin embargo, la

humedad relativa del ambiente circundante afectó al comportamiento mecánico y de permeabilidad de las muestras, generalmente manifestando un aumento de la elasticidad y permeabilidad de las películas, acompañada de una disminución de la resistencia a la rotura, debido al aumento de los valores de humedad relativa del ambiente en el que se acondicionan las películas que se tradujo en un aumento de la adsorción de agua en la matriz de las muestras, aumentando su contenido de humedad. Debido a la naturaleza hidrofílica de los materiales, las moléculas de agua manifestaron un efecto plastificante en las mezclas compuestas, modificando la organización estructural de las fibras poliméricas traduciéndose en un cambio en el comportamiento mecánico de las muestras en función de las condiciones ambientales de humedad. La evaluación de las películas a diferentes humedades relativas permite predecir el comportamiento de las propiedades mecánicas y la idoneidad de las películas en función de las condiciones ambientales.

Las películas compuestas mostraron valores de WVP menores que los de las películas de PVOH puro y quitosano. PVOH y quitosano son componentes con carácter hidrofílico con grupos activos libres que interactúan con las moléculas de agua. En el caso de la celulosa, debido a las fuertes interacciones entre sus moléculas, limitan el número de sitios activos en los que pueda interactuar el agua para iniciar el proceso de permeancia. Los resultados obtenidos para las películas compuestas de celulosa-quitosano-PVOH mostraron la interacción física entre los componentes, lo que se pudo traducir en una disminución de los sitios activos libres para la interacción con las moléculas de agua, observando menores valores de permeabilidad en las películas compuestas comparadas con los valores de permeabilidad de los polímeros puros. La permeabilidad de las películas dependió de la actividad del agua, aumentando la permeabilidad a medida que aumentaba la actividad del agua. El efecto plastificante de las moléculas de agua dio lugar a una reorganización de la estructura de las películas, lo que facilitó la difusión de las moléculas de agua a través de la matriz de la película, lo que conllevó a un aumento de la permeabilidad de las películas al aumentar el contenido de humedad.

En las películas de celulosa regenerada, el porcentaje de agua adsorbida aumentó

hasta el 143.55% cuando las películas de celulosa se reforzaron con PVOH y quitosano. Las mezclas compuestas pueden tener potenciales aplicaciones como almohadillas adsorbentes en bandejas de alimentos con propiedades antimicrobianas.

La baja transmitancia en la región de luz UV de las películas desarrolladas abrió un campo de aplicaciones futuras de esta mezcla de polímeros como películas protectoras contra la luz ultravioleta, para retardar procesos de deterioro, como la oxidación de lípidos, proteínas, pérdida de color o textura en los alimentos. La presencia de quitosano mejoró las propiedades de barrera a la radiación UV, mientras que el PVOH mejoró el aspecto visual, obteniendo películas con mejores valores de transparencia que las películas de celulosa pura. El aumento de la actividad del agua en las películas disminuyó los valores de transmitancia de las muestras. Estas películas podrían emplearse como películas para recubrir alimentos susceptibles de oxidaciones por acción de la luz UV. En caso de alimentos con forma sinuosa o que sea importante que se pueda ver con facilidad bajo el recubrimiento, para apreciar la buena apariencia visual del alimento y su calidad, películas con mayores concentraciones de PVOH se adaptarían mejor a la finalidad, ya que tendrían una mayor flexibilidad mecánica que le permita adaptarse a la superficie del alimento, y presentan mejor apariencia visual.

Los resultados obtenidos permiten ampliar el conocimiento de las películas a base de celulosa bacteriana y vegetal y una alternativa sencilla para mejorar sus propiedades y obtener materiales con posibles aplicaciones como embalaje activo. Los modelos polinómicos obtenidos permiten determinar la formulación más adecuada en función de las necesidades o finalidad de la película (mayor elasticidad, menor o mayor permeabilidad, resistencia a la rotura, etc). Además, la caracterización de las propiedades en función de la actividad del agua de las muestras permitió conocer las limitaciones o la idoneidad de estas películas en función de la aplicación o las condiciones de almacenamiento.

## **Referencias**

- Abugoch, L. E., Tapia, C., Villamán, M. C., Yazdani-Pedram, M., & Díaz-Dosque, M. (2011). Characterization of quinoa protein-chitosan blend edible films. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 879–886. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.08.008>
- Aguirre-Loredo, R. Y., Rodríguez-Hernández, A. I., Morales-Sánchez, E., Gómez-Aldapa, C. A., & Velazquez, G. (2016). Effect of equilibrium moisture content on barrier, mechanical and thermal properties of chitosan films. *Food Chemistry*, 196, 560–566. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2015.09.065>
- Aider, M. (2010). Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. *LWT - Food Science and Technology*, 43(6), 837–842. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.01.021>
- AlMaadeed, M. A., Nógellová, Z., Mičušík, M., Novák, I., & Krupa, I. (2014). Mechanical, sorption and adhesive properties of composites based on low density polyethylene filled with date palm wood powder. *Materials & Design*, 53, 29–37. <https://doi.org/10.1016/J.MATDES.2013.05.093>
- Alves, P. M. A., Carvalho, R. A., Moraes, I. C. F., Luciano, C. G., Bittante, A. M. Q. B., & Sobral, P. J. A. (2011). Development of films based on blends of gelatin and poly(vinyl alcohol) cross linked with glutaraldehyde. *Food Hydrocolloids*, 25(7), 1751–1757. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.03.018>
- Andrady, A. L. (2011). Microplastics in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 62(8), 1596–1605. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2011.05.030>
- Antoniou, J., Liu, F., Majeed, H., & Zhong, F. (2015). Characterization of tara gum edible films incorporated with bulk chitosan and chitosan nanoparticles: A comparative study. *Food Hydrocolloids*, 44, 309–319. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.09.023>
- ASTM D882 Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, ASTM International. (2018). *ASTM D882-18, Standard Test Method for Tensile Properties*

- of Thin Plastic Sheeting*, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2018, *Www.Astm.Org*, 1–12. <https://doi.org/10.1520/D0882-18>
- Bahrami, S. B., Kordestani, S. S., Mirzadeh, H., & Mansoori, P. (2003). Poly (vinyl alcohol) - Chitosan Blends: Preparation, Mechanical and Physical Properties. *Iranian Polymer Journal*, 12(2), 139–146.
- Baker, M. I., Walsh, S. P., Schwartz, Z., & Boyan, B. D. (2012). A review of polyvinyl alcohol and its uses in cartilage and orthopedic applications. In *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials: Vol. 100 B* (Issue 5, pp. 1451–1457). <https://doi.org/10.1002/jbm.b.32694>
- Baldwin, E. A., Nisperos-Carriedo, M. O., & Baker, R. A. (1995). Edible Coatings for Lightly Processed Fruits and Vegetables. *HortScience*, 30(1), 35–38. <https://pdfs.semanticscholar.org/fce8/74da7f953dc61935e895c54b9927c65d0b7e.pdf>
- Bedane, A. H., Eić, M., Farmahini-Farahani, M., & Xiao, H. (2015). Water vapor transport properties of regenerated cellulose and nanofibrillated cellulose films. *Journal of Membrane Science*, 493, 46–57. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2015.06.009>
- Bedane, A. H., Xiao, H., Eić, M., & Farmahini-Farahani, M. (2015). Structural and thermodynamic characterization of modified cellulose fiber-based materials and related interactions with water vapor. *Applied Surface Science*, 351, 725–737. <https://doi.org/10.1016/J.APSUSC.2015.06.022>
- Benedict, C. V., Cook, W. J., Jarrett, P., Cameron, J. A., Huang, S. J., & Bell, J. P. (1983). Fungal degradation of polycaprolactones. *Journal of Applied Polymer Science*, 28(1), 327–334. <https://doi.org/10.1002/app.1983.070280128>
- Bertuzzi, M. A., Castro Vidaurre, E. F., Armada, M., & Gottifredi, J. C. (2007). Water vapor permeability of edible starch based films. *Journal of Food Engineering*, 80(3), 972–978. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.07.016>
- Blahovec, J. (2004). Sorption isotherms in materials of biological origin mathematical and physical approach. *Journal of Food Engineering*, 65(4), 489–495.

<https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2004.02.012>

- Bof, M. J., Bordagaray, V. C., Locaso, D. E., & García, M. A. (2015). Chitosan molecular weight effect on starch-composite film properties. *Food Hydrocolloids*, *51*, 281–294. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2015.05.018>
- Boldt, R., Gohs, U., Wagenknecht, U., & Stamm, M. (2016). Effect of electron-induced reactive processing on morphology and structural properties of high-density polyethylene. *Polymer*, *95*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/J.POLYMER.2016.04.044>
- Bonilla, J., Atarés, L., Vargas, M., & 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. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.08.005>
- Bonilla, J., Fortunati, E., Atarés, L., Chiralt, A., & Kenny, J. M. (2014). Physical, structural and antimicrobial properties of poly vinyl alcohol-chitosan biodegradable films. *Food Hydrocolloids*, *35*, 463–470. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.07.002>
- Bourtoom. (2008). Edible films and coatings: Characteristics and properties. *International Food Research Journal*, *15*(3), 237–248.
- Box, G. E. P., & Behnken, D. W. (1960). Some New Three Level Designs for the Study of Quantitative Variables. *Technometrics*, *2*(4), 455. <https://doi.org/10.2307/1266454>
- Broek Van Den, L. A. M., Knoop, R. J. I., Kappen, F. H. J., & Boeriu, C. G. (2015). Chitosan films and blends for packaging material. *Carbohydrate Polymers*, *116*, 237–242. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.07.039>
- Cacicedo, M. L., Castro, M. C., Servetas, I., Bosnea, L., Boura, K., Tsafrakidou, P., Dima, A., Terpou, A., Koutinas, A., & Castro, G. R. (2016). Progress in bacterial cellulose matrices for biotechnological applications. *Bioresource Technology*, *213*, 172–180. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.02.071>
- Cai, Z., & Kim, J. (2010). Bacterial cellulose/poly(ethylene glycol) composite: Characterization and first evaluation of biocompatibility. *Cellulose*, *17*(1), 83–91. <https://doi.org/10.1007/s10570-009-9362-5>

- Campos, C. A., Gerschenson, L. N., & Flores, S. K. (2011). Development of Edible Films and Coatings with Antimicrobial Activity. *Food and Bioprocess Technology*, 4(6), 849–875. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0434-1>
- Carvalho, R. A., Maria, T. M. C., Moraes, I. C. F., Bergo, P. V. A., Kamimura, E. S., Habitante, A. M. Q. B., & Sobral, P. J. A. (2009). Study of some physical properties of biodegradable films based on blends of gelatin and poly(vinyl alcohol) using a response-surface methodology. *Materials Science and Engineering: C*, 29(2), 485–491. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2008.08.030>
- Cazon, P., Velazquez, G., Ramírez, J. A., & Vázquez, M. (2017). Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. *Food Hydrocolloids*, 68, 136–148. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.09.009>
- Chang, Y. P., Abd Karim, A., & Seow, C. C. (2006). Interactive plasticizing-antiplasticizing effects of water and glycerol on the tensile properties of tapioca starch films. *Food Hydrocolloids*, 20(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2005.02.004>
- Chen, J., Guan, Y., Wang, K., Zhang, X., Xu, F., & Sun, R. (2015). Combined effects of raw materials and solvent systems on the preparation and properties of regenerated cellulose fibers. *Carbohydrate Polymers*, 128, 147–153. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.04.027>
- Chen, X., Chen, J., You, T., Wang, K., & Xu, F. (2015). Effects of polymorphs on dissolution of cellulose in NaOH/urea aqueous solution. *Carbohydrate Polymers*, 125, 85–91. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2015.02.054>
- Chen, X. G., Zheng, L., Wang, Z., Lee, C. Y., & Park, H. J. (2002). Molecular affinity and permeability of different molecular weight chitosan membranes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 5915–5918. <https://doi.org/10.1021/jf020151g>
- Chenite, A., Buschmann, M., Wang, D., Chaput, C., & Kandani, N. (2001). Rheological characterisation of thermogelling chitosan/glycerol-phosphate solutions. *Carbohydrate Polymers*, 46(1), 39–47. <https://doi.org/10.1016/S0144->

8617(00)00281-2

- Chien, P. J., Sheu, F., & Yang, F. H. (2007). Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. *Journal of Food Engineering*, 78(1), 225–229. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.09.022>
- Chinnan, M. S., & Park, H. J. (1995). Effect of plasticizer level and temperature on water vapor transmission of cellulose-based films. *Journal of Food Process Engineering*, 18(4), 417–429. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.1995.tb00375.x>
- Chivrac, F., Pollet, E., & Avérous, L. (2009). Progress in nano-biocomposites based on polysaccharides and nanoclays. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 67(1), 1–17. <https://doi.org/10.1016/J.MSER.2009.09.002>
- Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C., & Galloway, T. S. (2011). Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Marine Pollution Bulletin*, 62(12), 2588–2597. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2011.09.025>
- Coma, V., Martial-Gros, A., Garreau, S., Copinet, A., Salin, F., & Deschamps, A. (2002). Edible antimicrobial films based on chitosan matrix. *Journal of Food Science*, 67(3), 1162–1169. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb09470.x>
- Cook, R. D. (1977). Detection of Influential Observations in Linear Regression. *Technometrics*, 19(1), 15–18. <https://doi.org/10.2307/1268249>
- Costa-Júnior, E. S., Barbosa-Stancioli, E. F., Mansur, A. A. P., Vasconcelos, W. L., & Mansur, H. S. (2009). Preparation and characterization of chitosan/poly(vinyl alcohol) chemically crosslinked blends for biomedical applications. *Carbohydrate Polymers*, 76(3), 472–481. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2008.11.015>
- Cunningham, P., Ogale, A. A., Dawson, P. L., & Acton, J. C. (2000). Tensile Properties of Soy Protein Isolate Films Produced by a Thermal Compaction Technique. *Journal of Food Science*, 65(4), 668–671. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb16070.x>
- Cutter, C. N. (2006). Opportunities for bio-based packaging technologies to improve the quality and safety of fresh and further processed muscle foods. *Meat Science*, 74(1),

- 131–142. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.04.023>
- Da Silva E Silva, N., Pino Hernández, E. J. G., Da Silva Araújo, C., Peixoto Joele, M. R. S., & Lourenço, L. de F. H. (2018). Development and optimization of biodegradable fish gelatin composite film added with buriti oil. *CyTA - Journal of Food*, *16*(1), 340–349. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1406005>
- De Moura, M. R., Mattoso, L. H. C., & Zucolotto, V. (2012). Development of cellulose-based bactericidal nanocomposites containing silver nanoparticles and their use as active food packaging. *Journal of Food Engineering*, *109*(3), 520–524. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.10.030>
- Dhall, R. K. (2013). Advances in Edible Coatings for Fresh Fruits and Vegetables: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *53*(5), 435–450. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.541568>
- Dogan, N., & McHugh, T. H. (2007). Effects of microcrystalline cellulose on functional properties of hydroxy propyl methyl cellulose microcomposite films. *Journal of Food Science*, *72*(1). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00237.x>
- Dong, H., Cheng, L., Tan, J., Zheng, K., & Jiang, Y. (2004). Effects of chitosan coating on quality and shelf life of peeled litchi fruit. *Journal of Food Engineering*, *64*(3), 355–358. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2003.11.003>
- Dutta, P. K., Tripathi, S., Mehrotra, G. K., & Dutta, J. (2009). Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry*, *114*(4), 1173–1182. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.047>
- Elsabee, M. Z., & Abdou, E. S. (2013). Chitosan based edible films and coatings: A review. *Materials Science and Engineering C*, *33*(4), 1819–1841. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.01.010>
- Embuscado, M. E., & Kerry, C. H. (2009). *Edible Films and Coatings for Food Applications* (K. C. Huber & M. E. Embuscado (Eds.)). Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-92824-1>

- Erdohan, Z. O., & Turhan, K. N. (2005). Barrier and mechanical properties of methycellulose-whey protein films. *Packaging Technology and Science*, 18(6), 295–302. <https://doi.org/10.1002/pts.700>
- Esa, F., Tasirin, S. M., & Rahman, N. A. (2014). Overview of Bacterial Cellulose Production and Application. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2, 113–119. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2014.11.017>
- Espitia, P. J. P., Du, W.-X., Avena-Bustillos, R. de J., Soares, N. de F. F., & McHugh, T. H. (2014). Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties - A review. *Food Hydrocolloids*, 35, 287–296. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2013.06.005>
- Falguera, V., Quintero, J. P., Jiménez, A., Muñoz, J. A., & Ibarz, A. (2011). Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Science & Technology*, 22(6), 292–303. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2011.02.004>
- Fan, M., Dai, D., & Huang, B. (2012). Fourier Transform Infrared Spectroscopy for Natural Fibres. *Fourier Transform - Materials Analysis*. <https://doi.org/10.5772/35482>
- Fernandes, S. C. M., Freire, C. S. R., Silvestre, A. J. D., Pascoal Neto, C., Gandini, A., Berglund, L. A., & Salmén, L. (2010). Transparent chitosan films reinforced with a high content of nanofibrillated cellulose. *Carbohydrate Polymers*, 81(2), 394–401. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.02.037>
- Figura, L., & Teixeira, A. A. (2007). *Food physics: physical properties-measurement and applications*. Springer Science & Business Media.
- Galus, S., & Kadzińska, J. (2015). Food applications of emulsion-based edible films and coatings. *Trends in Food Science & Technology*, 45(2), 273–283. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2015.07.011>
- Garavand, F., Rouhi, M., Razavi, S. H., Cacciotti, I., & Mohammadi, R. (2017). Improving the integrity of natural biopolymer films used in food packaging by crosslinking approach: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 104, 687–707. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2017.06.093>

- García, M. A., Pinotti, A., Martino, M., & Zaritzky, N. (2009). Electrically treated composite FILMS based on chitosan and methylcellulose blends. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 722–728. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.06.008>
- García, María A., Pinotti, A., Martino, M. N., & Zaritzky, N. E. (2004). Characterization of composite hydrocolloid films. *Carbohydrate Polymers*, 56(3), 339–345. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.03.003>
- Gennadios, A., Weller, C. L., & Gooding, C. H. (1994). Measurement Errors in Water-Vapor Permeability of Highly Permeable, Hydrophilic Edible Films. *Journal of Food Engineering*, 21(4), 395–409. [https://doi.org/Doi 10.1016/0260-8774\(94\)90062-0](https://doi.org/Doi 10.1016/0260-8774(94)90062-0)
- George, J., & Siddaramaiah. (2012). High performance edible nanocomposite films containing bacterial cellulose nanocrystals. *Carbohydrate Polymers*, 87(3), 2031–2037. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.10.019>
- Goetz, L. A., Jalvo, B., Rosal, R., & Mathew, A. P. (2016). Superhydrophilic anti-fouling electrospun cellulose acetate membranes coated with chitin nanocrystals for water filtration. *Journal of Membrane Science*, 510, 238–248. <https://doi.org/10.1016/J.MEMSCI.2016.02.069>
- Gómez-Estaca, J., López de Lacey, A., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C., & Montero, P. (2010). Biodegradable gelatin-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *Food Microbiology*, 27(7), 889–896. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.05.012>
- Gómez-Estaca, J., Montero, P., Fernández-Martín, F., & Gómez-Guillén, M. C. (2009). Physico-chemical and film-forming properties of bovine-hide and tuna-skin gelatin: A comparative study. *Journal of Food Engineering*, 90(4), 480–486. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.07.022>
- Goodship, V., & Jacobs, D. (2008). *Polyvinyl alcohol: materials, processing and applications*. Smithers Rapra Technology. <http://wrap.warwick.ac.uk/44801/>
- Goudarzi, V., Shahabi-Ghahfarrokhi, I., & Babaei-Ghazvini, A. (2017). Preparation of ecofriendly UV-protective food packaging material by starch/TiO<sub>2</sub>bio-nanocomposite:

- Characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 95, 306–313. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.11.065>
- Guo, J., Ge, L., Li, X., Mu, C., & Li, D. (2014). Periodate oxidation of xanthan gum and its crosslinking effects on gelatin-based edible films. *Food Hydrocolloids*, 39, 243–250. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2014.01.026>
- Hajji, S., Chaker, A., Jridi, M., Maalej, H., Jellouli, K., Boufi, S., & Nasri, M. (2016). Structural analysis, and antioxidant and antibacterial properties of chitosan-poly (vinyl alcohol) biodegradable films. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(15), 15310–15320. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6699-9>
- Han, J. H. (2014). Edible Films and Coatings. In *Innovations in Food Packaging*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394601-0.00009-6>
- Han, J. H., & Floros, J. D. (1997). Casting Antimicrobial Packaging Films and Measuring Their Physical Properties and Antimicrobial Activity. *Journal of Plastic Film & Sheeting*, 13(4), 287–298. <https://doi.org/10.1177/875608799701300405>
- Hazaveh, P., Mohammadi Nafchi, A., & Abbaspour, H. (2015). The effects of sugars on moisture sorption isotherm and functional properties of cold water fish gelatin films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 79, 370–376. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2015.05.008>
- Helander, I. M., Nurmiaho-Lassila, E. L., Ahvenainen, R., Rhoades, J., & Roller, S. (2001). Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 71(2–3), 235–244. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00609-2](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00609-2)
- Henriksson, M., Berglund, L. A., Isaksson, P., Lindström, T., & Nishino, T. (2008). Cellulose Nanopaper Structures of High Toughness. *Biomacromolecules*, 9(6), 1579–1585. <https://doi.org/10.1021/bm800038n>
- Hosseini, S. F., Rezaei, M., Zandi, M., & Ghavi, F. F. (2013). Preparation and functional properties of fish gelatin–chitosan blend edible films. *Food Chemistry*, 136(3), 1490–1495. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.081>

- Hu, D., & Wang, L. (2016). Preparation and characterization of antibacterial films based on polyvinyl alcohol/quaternized cellulose. *Reactive and Functional Polymers*, 101, 90–98. <https://doi.org/10.1016/J.REACTFUNCTPOLYM.2016.02.012>
- Hu, Y., Catchmark, J. M., Zhu, Y., Abidi, N., Zhou, X., Wang, J., & Liang, N. (2014). Engineering of porous bacterial cellulose toward human fibroblasts ingrowth for tissue engineering. *Journal of Materials Research*, 29(22), 2682–2693. <https://doi.org/10.1557/jmr.2014.315>
- Ibrahim, M. M., El-Zawawy, W. K., & Nassar, M. A. (2010). Synthesis and characterization of polyvinyl alcohol/nanospherical cellulose particle films. *Carbohydrate Polymers*, 79(3), 694–699. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.09.030>
- Imran, M., El-Fahmy, S., Revol-Junelles, A.-M., & Desobry, S. (2010). Cellulose derivative based active coatings: Effects of nisin and plasticizer on physico-chemical and antimicrobial properties of hydroxypropyl methylcellulose films. *Carbohydrate Polymers*, 81(2), 219–225. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2010.02.021>
- Iñiguez, M. E., Conesa, J. A., & Fullana, A. (2017). Microplastics in Spanish Table Salt. *Scientific Reports*, 7(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09128-x>
- Isik, M., Sardon, H., & Mecerreyes, D. (2014). Ionic Liquids and Cellulose: Dissolution, Chemical Modification and Preparation of New Cellulosic Materials. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(7), 11922–11940. <https://doi.org/10.3390/ijms150711922>
- Jambeck, J. R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T. R., Perryman, M., Andrady, A., Narayan, R., & Law, K. L. (2015). Marine pollution. Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science (New York, N.Y.)*, 347(6223), 768–771. <https://doi.org/10.1126/science.1260352>
- Jiménez, A., Fabra, M. J., Talens, P., & Chiralt, A. (2012). Edible and Biodegradable Starch Films: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 5(6), 2058–2076. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0835-4>
- Jipa, I. M., Stroescu, M., Stoica-Guzun, A., Dobre, T., Jinga, S., & Zaharescu, T. (2012).

- Effect of gamma irradiation on biopolymer composite films of poly(vinyl alcohol) and bacterial cellulose. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 278, 82–87. <https://doi.org/10.1016/j.nimb.2012.02.024>
- Kalaycıoğlu, Z., Torlak, E., Akın-Evingür, G., Özen, İ., & Erim, F. B. (2017). Antimicrobial and physical properties of chitosan films incorporated with turmeric extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, 101, 882–888. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2017.03.174>
- Kanatt, S. R., Rao, M. S., Chawla, S. P., & Sharma, A. (2012). Active chitosan–polyvinyl alcohol films with natural extracts. *Food Hydrocolloids*, 29(2), 290–297. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2012.03.005>
- Kaur, S., & Dhillon, G. S. (2014). The versatile biopolymer chitosan: potential sources, evaluation of extraction methods and applications. *Critical Reviews in Microbiology*, 40(2), 155–175. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2013.770385>
- Kerch, G., & Korkhov, V. (2011). Effect of storage time and temperature on structure, mechanical and barrier properties of chitosan-based films. *European Food Research and Technology*, 232(1), 17–22. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1356-x>
- Kester, J., & Fennema, O. (1989). An edible film of lipids and cellulose ethers: barrier properties to moisture vapor transmission and structural evaluation. *Journal of Food Science*, 54(6). <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2621.1989.tb05118.x/full>
- Khan, A., Khan, R. A., Salmieri, S., Le Tien, C., Riedl, B., Bouchard, J., Chauve, G., Tan, V., Kamal, M. R., & Lacroix, M. (2012). Mechanical and barrier properties of nanocrystalline cellulose reinforced chitosan based nanocomposite films. *Carbohydrate Polymers*, 90(4), 1601–1608. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.07.037>
- Khan, R. A., Salmieri, S., Dussault, D., Uribe-Calderon, J., Kamal, M. R., Safrany, A., & Lacroix, M. (2010). Production and properties of nanocellulose-reinforced

- methylcellulose-based biodegradable films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(13), 7878–7885. <https://doi.org/10.1021/jf1006853>
- Kim, J., Cai, Z., Lee, H. S., Choi, G. S., Lee, D. H., & Jo, C. (2011). Preparation and characterization of a Bacterial cellulose/Chitosan composite for potential biomedical application. *Journal of Polymer Research*, 18(4), 739–744. <https://doi.org/10.1007/s10965-010-9470-9>
- Kim, K. M., Son, J. H., Kim, S.-K., Weller, C. L., & Hanna, M. A. (2006). Properties of Chitosan Films as a Function of pH and Solvent Type. *Journal of Food Science*, 71(3), E119–E124. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.tb15624.x>
- Klemm, D., Heublein, B., Fink, H.-P., & Bohn, A. (2005). Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material. *Angewandte Chemie International Edition*, 44(22), 3358–3393. <https://doi.org/10.1002/anie.200460587>
- Kronenthal, R. L. (1975). Biodegradable Polymers in Medicine and Surgery. In *Polymers in Medicine and Surgery* (pp. 119–137). Springer US. [https://doi.org/10.1007/978-1-4684-7744-3\\_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4684-7744-3_9)
- Leceta, I., Guerrero, P., & De La Caba, K. (2013). Functional properties of chitosan-based films. *Carbohydrate Polymers*, 93(1), 339–346. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.04.031>
- Lee, J. W., Son, S. M., & Hong, S. I. (2008). Characterization of protein-coated polypropylene films as a novel composite structure for active food packaging application. *Journal of Food Engineering*, 86(4), 484–493. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.10.025>
- Lewicki, P. P. (1997). The applicability of the GAB model to food water sorption isotherms. *International Journal of Food Science & Technology*, 32(6), 553–557. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1997.tb02131.x>
- Li, H., & Yu, T. (2001). Effect of chitosan on incidence of brown rot, quality and physiological attributes of postharvest peach fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(2), 269–274. <https://doi.org/10.1002/1097->

0010(20010115)81:2<269::AID-JSFA806>3.0.CO;2-F

- Li, J., Zivanovic, S., Davidson, P. M., & Kit, K. (2010). Characterization and comparison of chitosan/PVP and chitosan/PEO blend films. *Carbohydrate Polymers*, 79(3), 786–791. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2009.09.028>
- Lin, D., Lopez-Sanchez, P., Li, R., & Li, Z. (2014). Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* CGMCC 3917 using only waste beer yeast as nutrient source. *Bioresource Technology*, 151, 113–119. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.10.052>
- Lin, W.-C., Lien, C.-C., Yeh, H.-J., Yu, C.-M., & Hsu, S. (2013). Bacterial cellulose and bacterial cellulose–chitosan membranes for wound dressing applications. *Carbohydrate Polymers*, 94(1), 603–611. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2013.01.076>
- Lindman, B., Karlström, G., & Stigsson, L. (2010). On the mechanism of dissolution of cellulose. *Journal of Molecular Liquids*, 156(1), 76–81. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2010.04.016>
- Litjens, R. A. J., Quickenden, T. I., & Freeman, C. G. (1999). Visible and near-ultraviolet absorption spectrum of liquid water. *Appl. Opt.*, 38(7), 1216–1223. <https://doi.org/10.1364/AO.38.001216>
- Liu, L., Liang, H., Zhang, J., Zhang, P., Xu, Q., Lu, Q., & Zhang, C. (2018). Poly(vinyl alcohol)/Chitosan composites: Physically transient materials for sustainable and transient bioelectronics. *Journal of Cleaner Production*, 195, 786–795. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.05.216>
- Liu, Z., Wang, H., Li, Z., Lu, X., Zhang, X., Zhang, S., & Zhou, K. (2011). Characterization of the regenerated cellulose films in ionic liquids and rheological properties of the solutions. *Materials Chemistry and Physics*, 128(1–2), 220–227. <https://doi.org/10.1016/J.MATCHEMPHYS.2011.02.062>
- Lorevice, M. V., Otoni, C. G., de Moura, M. R., & Mattoso, L. H. C. (2016). Chitosan nanoparticles on the improvement of thermal, barrier, and mechanical properties of

- high- and low-methyl pectin films. *Food Hydrocolloids*, 52, 732–740. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.08.003>
- Lu, J., Wang, T., & Drzal, L. T. (2008). Preparation and properties of microfibrillated cellulose polyvinyl alcohol composite materials. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 39(5), 738–746. <https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2008.02.003>
- Ludwiczak, S., & Mucha, M. (2010). Modeling of water sorption isotherms of chitosan blends. *Carbohydrate Polymers*, 79(1), 34–39. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2009.07.014>
- Ma, Q., Hu, D., & Wang, L. (2016). Preparation and physical properties of tara gum film reinforced with cellulose nanocrystals. *International Journal of Biological Macromolecules*, 86, 606–612. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.104>
- Mahmoudian, S., Wahit, M. U., Ismail, A. F., & Yussuf, A. A. (2012). Preparation of regenerated cellulose/montmorillonite nanocomposite films via ionic liquids. *Carbohydrate Polymers*, 88(4), 1251–1257. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.01.088>
- Mali, S., Sakanaka, L. S., Yamashita, F., & 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. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2005.01.003>
- Marcos, B., Aymerich, T., Monfort, J. M., & Garriga, M. (2010). Physical Performance of Biodegradable Films Intended for Antimicrobial Food Packaging. *Journal of Food Science*, 75(8), E502–E507. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01785.x>
- Martins, I. M. G., Magina, S. P., Oliveira, L., Freire, C. S. R., Silvestre, A. J. D., Neto, C. P., & Gandini, A. (2009). New biocomposites based on thermoplastic starch and bacterial cellulose. *Composites Science and Technology*, 69(13), 2163–2168. <https://doi.org/10.1016/J.COMPSCITECH.2009.05.012>
- Martins, J. T., Cerqueira, M. A., & Vicente, A. A. (2012). Influence of  $\alpha$ -tocopherol on

- physicochemical properties of chitosan-based films. *Food Hydrocolloids*, 27(1), 220–227. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.06.011>
- Meriçer, Ç., Minelli, M., Giacinti Baschetti, M., & Lindström, T. (2017). Water sorption in microfibrillated cellulose (MFC): The effect of temperature and pretreatment. *Carbohydrate Polymers*, 174, 1201–1212. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2017.07.023>
- Mihaela Jipa, I., Dobre, L., Stroescu, M., Stoica-Guzun, A., Jinga, S., & Dobre, T. (2012). Preparation and characterization of bacterial cellulose-poly(vinyl alcohol) films with antimicrobial properties. *Materials Letters*, 66(1), 125–127. <https://doi.org/10.1016/J.MATLET.2011.08.047>
- Mohammadkazemi, F., Azin, M., & Ashori, A. (2015). Production of bacterial cellulose using different carbon sources and culture media. *Carbohydrate Polymers*, 117, 518–523. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.10.008>
- Mondal, S. (2017). Preparation, properties and applications of nanocellulosic materials. *Carbohydrate Polymers*, 163, 301–316. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.12.050>
- Morales, A., Andrés, M. Á., Labidi, J., & Gullón, P. (2019). UV–vis protective poly(vinyl alcohol)/bio-oil innovative films. *Industrial Crops and Products*, 131, 281–292. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2019.01.071>
- Moreira, M. del R., Roura, S. I., & Ponce, A. (2011). Effectiveness of chitosan edible coatings to improve microbiological and sensory quality of fresh cut broccoli. *LWT - Food Science and Technology*, 44(10), 2335–2341. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.04.009>
- Morgado, D. L., Frollini, E., Castellan, A., Rosa, D. S., & Coma, V. (2011). Biobased films prepared from NaOH/thiourea aqueous solution of chitosan and linter cellulose. *Cellulose*, 18(3), 699–712. <https://doi.org/10.1007/s10570-011-9516-0>
- Motedayen, A. A., Khodaiyan, F., & Salehi, E. A. (2013). Development and characterisation of composite films made of kefir and starch. *Food Chemistry*,

- 136(3–4), 1231–1238. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2012.08.073>
- Muppalla, S. R., Kanatt, S. R., Chawla, S. P., & Sharma, A. (2014). Carboxymethyl cellulose-polyvinyl alcohol films with clove oil for active packaging of ground chicken meat. *Food Packaging and Shelf Life*, 2(2), 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2014.07.002>
- Muscat, D., Adhikari, B., Adhikari, R., & Chaudhary, D. S. (2012). Comparative study of film forming behaviour of low and high amylose starches using glycerol and xylitol as plasticizers. *Journal of Food Engineering*, 109(2), 189–201. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.10.019>
- Nguyen, V. T., Gidley, M. J., & Dykes, G. A. (2008). Potential of a nisin-containing bacterial cellulose film to inhibit *Listeria monocytogenes* on processed meats. *Food Microbiology*, 25(3), 471–478. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2008.01.004>
- No, H. K., Meyers, S. P., Prinyawiwatkul, W., & Xu, Z. (2007). Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: A review. *Journal of Food Science*, 72(5), R87–R100. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00383.x>
- Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., & Hosseini, S. M. H. (2010). Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry*, 122(1), 161–166. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.033>
- Olivas, G. I., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2008). Alginate–calcium films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizer and relative humidity. *LWT - Food Science and Technology*, 41(2), 359–366. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2007.02.015>
- Pal, K., Banthia, A. K., & Majumdar, D. K. (2007). Preparation and characterization of polyvinyl alcohol-gelatin hydrogel membranes for biomedical applications. *AAPS PharmSciTech*, 8(1), E142--E146. <https://doi.org/10.1208/pt080121>
- Paralikar, S. A., Simonsen, J., & Lombardi, J. (2008). Poly(vinyl alcohol)/cellulose nanocrystal barrier membranes. *Journal of Membrane Science*, 320(1), 248–258.

<https://doi.org/10.1016/j.memsci.2008.04.009>

- Park, S. Y., Marsh, K. S., & Rhim, J. W. (2002). Characteristics of Different Molecular Weight Chitosan Films Affected by the Type of Organic Solvents. *Journal of Food Science*, 67(1), 194–197. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb11382.x>
- Paunonen, S. (2013). Strength and barrier enhancements of cellophane and cellulose derivative films: A review. *BioResources*, 8(2), 3098–3121. <https://doi.org/10.15376/biores.8.2.3098-3121>
- Pavaloiu, R. D., Stoica-Guzun, A., Stroescu, M., Jinga, S. I., & Dobre, T. (2014). Composite films of poly(vinyl alcohol)–chitosan–bacterial cellulose for drug controlled release. *International Journal of Biological Macromolecules*, 68, 117–124. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2014.04.040>
- Pelissari, F. M., Yamashita, F., & Grossmann, M. V. E. (2011). Extrusion parameters related to starch/chitosan active films properties. *International Journal of Food Science and Technology*, 46(4), 702–710. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02533.x>
- Pereira, V. A., de Arruda, I. N. Q., & Stefani, R. (2015). Active chitosan/PVA films with anthocyanins from Brassica oleraceae (Red Cabbage) as Time–Temperature Indicators for application in intelligent food packaging. *Food Hydrocolloids*, 43, 180–188. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2014.05.014>
- Pérez-Alonso, C., Beristain, C. I., Lobato-Calleros, C., Rodríguez-Huezo, M. E., & Vernon-Carter, E. J. (2006). Thermodynamic analysis of the sorption isotherms of pure and blended carbohydrate polymers. *Journal of Food Engineering*, 77(4), 753–760. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.08.002>
- Pérez-Gago, M. B., & Rhim, J. W. (2013). Edible Coating and Film Materials: Lipid Bilayers and Lipid Emulsions. *Innovations in Food Packaging: Second Edition*, 325–350. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394601-0.00013-8>
- Persin, Z., Stana-Kleinschek, K., Foster, T. J., van Dam, J. E. G., Boeriu, C. G., & Navard, P. (2011). Challenges and opportunities in polysaccharides research and technology:

- The EPNOE views for the next decade in the areas of materials, food and health care. *Carbohydrate Polymers*, 84(1), 22–32. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2010.11.044>
- Phisalaphong, M., & Jatupaiboon, N. (2008). Biosynthesis and characterization of bacteria cellulose–chitosan film. *Carbohydrate Polymers*, 74(3), 482–488. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2008.04.004>
- Priyadarshi, R., Sauraj, Kumar, B., & Negi, Y. S. (2018). Chitosan films incorporated with citric acid and glycerol as an active packaging material for extension of green chilli shelf life. *Carbohydrate Polymers*, 195(December 2017), 329–338. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.04.089>
- Psomiadou, E., Arvanitoyannis, I., & Yamamoto, N. (1996). Edible films made from natural resources; microcrystalline cellulose (MCC), methylcellulose (MC) and corn starch and polyols—Part 2. *Carbohydrate Polymers*, 31(4), 193–204. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(96\)00077-X](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(96)00077-X)
- Quickenden, T. I., & Irvin, J. A. (1980). The ultraviolet absorption spectrum of liquid water. *The Journal of Chemical Physics*, 72(8), 4416–4428. <https://doi.org/10.1063/1.439733>
- Rhim, J.-W. (2004). Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films. *LWT - Food Science and Technology*, 37(3), 323–330. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2003.09.008>
- Rhim, J. W., Wang, L. F., & Hong, S. I. (2013). Preparation and characterization of agar/silver nanoparticles composite films with antimicrobial activity. *Food Hydrocolloids*, 33(2), 327–335. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.04.002>
- Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31(7), 603–632. <https://doi.org/10.1016/J.PROGPOLYMSCI.2006.06.001>
- Rivero, S., Damonte, L., Garcia, M. A., & Pinotti, A. (2016). An Insight into the Role of Glycerol in Chitosan Films. *Food Biophysics*, 11(2), 117–127. <https://doi.org/10.1007/s11483-015-9421-4>

- Roohani, M., Habibi, Y., Belgacem, N. M., Ebrahim, G., Karimi, A. N., & Dufresne, A. (2008). Cellulose whiskers reinforced polyvinyl alcohol copolymers nanocomposites. *European Polymer Journal*, 44(8), 2489–2498. <https://doi.org/10.1016/J.EURPOLYMJ.2008.05.024>
- Rouhi, M., Razavi, S. H., & Mousavi, S. M. (2017). Optimization of crosslinked poly(vinyl alcohol) nanocomposite films for mechanical properties. *Materials Science and Engineering: C*, 71, 1052–1063. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.11.135>
- Roy, S., Gennadios, A., Weller, C. L., & Testin, R. F. (2000). Water vapor transport parameters of a cast wheat gluten film. *Industrial Crops and Products*, 11(1), 43–50. [https://doi.org/10.1016/S0926-6690\(99\)00032-1](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(99)00032-1)
- Rozenberga, L., Skute, M., Belkova, L., Sable, I., Vikele, L., Semjonovs, P., Saka, M., Ruklisha, M., & Paegle, L. (2016). Characterisation of films and nanopaper obtained from cellulose synthesised by acetic acid bacteria. *Carbohydrate Polymers*, 144, 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.02.025>
- Rubilar, J. F., Zúñiga, R. N., Osorio, F., & Pedreschi, F. (2015). Physical properties of emulsion-based hydroxypropyl methylcellulose/whey protein isolate (HPMC/WPI) edible films. *Carbohydrate Polymers*, 123, 27–38. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.01.010>
- Sabaghi, M., Maghsoudlou, Y., & Habibi, P. (2015). Enhancing structural properties and antioxidant activity of kefiran films by chitosan addition. *Food Structure*, 5, 66–71. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2015.06.003>
- Saibuatong, O., & Phisalaphong, M. (2010). Novo aloe vera–bacterial cellulose composite film from biosynthesis. *Carbohydrate Polymers*, 79(2), 455–460. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2009.08.039>
- Sakia, R. M. (1992). The Box-Cox Transformation Technique: A Review. *The Statistician*, 41(2), 169. <https://doi.org/10.2307/2348250>
- Santacruz, S., Rivadeneira, C., & Castro, M. (2015). Edible films based on starch and chitosan. Effect of starch source and concentration, plasticizer, surfactant's

- hydrophobic tail and mechanical treatment. *Food Hydrocolloids*, 49, 89–94. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.03.019>
- Seligra, P. G., Medina Jaramillo, C., Famá, L., & Goyanes, S. (2016). Biodegradable and non-retrogradable eco-films based on starch-glycerol with citric acid as crosslinking agent. *Carbohydrate Polymers*, 138, 66–74. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.11.041>
- Sessini, V., Arrieta, M. P., Kenny, J. M., & Peponi, L. (2016). Processing of edible films based on nanoreinforced gelatinized starch. *Polymer Degradation and Stability*, 132, 157–168. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2016.02.026>
- Shen, Z., & Kamdem, D. P. (2015). Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils. *International Journal of Biological Macromolecules*, 74, 289–296. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.11.046>
- Shih, C. M., Shieh, Y. T., & Twu, Y. K. (2009). Preparation and characterization of cellulose/chitosan blend film. *Carbohydrate Polymers*, 78(1), 169–174. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.04.031>
- Shtarkman, B. P., & Razinskaya, I. N. (1983). Plasticization mechanism and structure of polymers. *Acta Polymerica*, 34(8), 514–520. <https://doi.org/10.1002/actp.1983.010340812>
- Silva, G. G. D., Sobral, P. J. A., Carvalho, R. A., Bergo, P. V. A., Mendieta-Taboada, O., & Habitante, A. M. Q. B. (2008). Biodegradable Films Based on Blends of Gelatin and Poly (Vinyl Alcohol): Effect of PVA Type or Concentration on Some Physical Properties of Films. *Journal of Polymers and the Environment*, 16(4), 276–285. <https://doi.org/10.1007/s10924-008-0112-9>
- Sothornvit, R., & Krochta, J. M. (2005). Plasticizers in edible films and coatings. *Innovations in Food Packaging*, 403–433. <https://doi.org/10.1016/B978-012311632-1/50055-3>
- Spoljaric, S., Salminen, A., Luong, N. D., & Seppälä, J. (2015). Ductile nanocellulose-based films with high stretchability and tear resistance. *European Polymer Journal*,

- 69, 328–340. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2015.06.019>
- Spotti, M. L., Cecchini, J. P., Spotti, M. J., & Carrara, C. R. (2016). Brea Gum (from *Cercidium praecox*) as a structural support for emulsion-based edible films. *LWT - Food Science and Technology*, 68, 127–134. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.12.018>
- Srinivasa, P., Baskaran, R., Ramesh, M., Harish Prashanth, K., & Tharanathan, R. (2002). Storage studies of mango packed using biodegradable chitosan film. *European Food Research and Technology*, 215(6), 504–508. <https://doi.org/10.1007/s00217-002-0591-1>
- Srinivasa, P. C., Ramesh, M. N., Kumar, K. R., & Tharanathan, R. N. (2003). Properties and sorption studies of chitosan-polyvinyl alcohol blend films. *Carbohydrate Polymers*, 53(4), 431–438. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(03\)00105-X](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(03)00105-X)
- Srinivasa, P. C., Ramesh, M. N., & Tharanathan, R. N. (2007). Effect of plasticizers and fatty acids on mechanical and permeability characteristics of chitosan films. *Food Hydrocolloids*, 21(7), 1113–1122. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.08.005>
- Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials*. (n.d.). [https://doi.org/10.1520/E0096\\_E0096M-16](https://doi.org/10.1520/E0096_E0096M-16)
- Su, J. F., Huang, Z., Zhao, Y. H., Yuan, X. Y., Wang, X. Y., & Li, M. (2010). Moisture sorption and water vapor permeability of soy protein isolate/poly(vinyl alcohol)/glycerol blend films. *Industrial Crops and Products*, 31(2), 266–276. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.11.010>
- Su, J., & Zhang, J. (2016). Comparison of rheological, mechanical, electrical properties of HDPE filled with BaTiO<sub>3</sub> with different polar surface tension. *Applied Surface Science*, 388, 531–538. <https://doi.org/10.1016/J.APSUSC.2015.10.156>
- Sun, S., Mitchell, J. R., MacNaughtan, W., Foster, T. J., Harabagiu, V., Yihu Song, A., & Zheng, Q. (2010). Comparison of the mechanical properties of cellulose and starch films. *Biomacromolecules*, 11(1), 126–132. <https://doi.org/10.1021/bm900981t>

- Suyatma, N. E., Tighzert, L., Copinet, A., & Coma, V. (2005). Effects of hydrophilic plasticizers on mechanical, thermal, and surface properties of chitosan films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 3950–3957. <https://doi.org/10.1021/jf048790+>
- Szymańska-Chargot, M., Chylińska, M., Cybulska, J., Koziół, A., Pieczywek, P. M., & Zdunek, A. (2017). Simultaneous influence of pectin and xyloglucan on structure and mechanical properties of bacterial cellulose composites. *Carbohydrate Polymers*, 174, 970–979. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2017.07.004>
- Takara, E. A., Marchese, J., & Ochoa, N. A. (2015). NaOH treatment of chitosan films: Impact on macromolecular structure and film properties. *Carbohydrate Polymers*, 132, 25–30. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.05.077>
- Tang, S., Zou, P., Xiong, H., & Tang, H. (2008). Effect of nano-SiO<sub>2</sub> on the performance of starch/polyvinyl alcohol blend films. *Carbohydrate Polymers*, 72(3), 521–526. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2007.09.019>
- Tantala, J., Rachtanapun, C., Tongdeesoontorn, W., Jantanasakulwong, K., & Rachtanapun, P. (2019). Moisture Sorption Isotherms and Prediction Models of Carboxymethyl Chitosan Films from Different Sources with Various Plasticizers. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2019(4082439), 1–18. <https://doi.org/10.1155/2019/4082439>
- Tashiro, K., & Kobayashi, M. (1985). Calculation of crystallite modulus of native cellulose. *Polymer Bulletin*, 14(3–4), 213–218. <https://doi.org/10.1007/BF00254940>
- Thakhiew, W., Devahastin, S., & Soponronnarit, S. (2010). Effects of drying methods and plasticizer concentration on some physical and mechanical properties of edible chitosan films. *Journal of Food Engineering*, 99(2), 216–224. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.02.025>
- Tian, H., Tang, Z., Zhuang, X., Chen, X., & Jing, X. (2012). Biodegradable synthetic polymers: Preparation, functionalization and biomedical application. *Progress in Polymer Science*, 37(2), 237–280.

<https://doi.org/10.1016/J.PROGPOLYMSCI.2011.06.004>

- Timmermann, E. O., Chirife, J., & Iglesias, H. A. (2001). Water sorption isotherms of foods and foodstuffs: BET or GAB parameters? *Journal of Food Engineering*, 48(1), 19–31. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(00\)00139-4](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(00)00139-4)
- Trinetta, V. (2016). Biodegradable Packaging. In *Reference Module in Food Science*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03351-5>
- Tripathi, S., Mehrotra, G. K., & Dutta, P. K. (2011). Chitosan–silver oxide nanocomposite film: Preparation and antimicrobial activity. *Bulletin of Materials Science*, 34(1), 29–35. <https://doi.org/10.1007/s12034-011-0032-5>
- Turhan, K. N., & Şahbaz, F. (2004). Water vapor permeability, tensile properties and solubility of methylcellulose-based edible films. *Journal of Food Engineering*, 61(3), 459–466. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00155-9](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00155-9)
- Ul-Islam, M., Shah, N., Ha, J. H., & Park, J. K. (2011). Effect of chitosan penetration on physico-chemical and mechanical properties of bacterial cellulose. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 28(8), 1736–1743. <https://doi.org/10.1007/s11814-011-0042-4>
- Varela, P., & Fiszman, S. M. (2011). Hydrocolloids in fried foods. A review. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1801–1812. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.01.016>
- Vargas, M., Albors, A., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2009). Characterization of chitosan-oleic acid composite films. *Food Hydrocolloids*, 23(2), 536–547. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.02.009>
- Vargas, M., Chiralt, A., Albors, A., & González-Martínez, C. (2009). Effect of chitosan-based edible coatings applied by vacuum impregnation on quality preservation of fresh-cut carrot. *Postharvest Biology and Technology*, 51(2), 263–271. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.07.019>
- Vargas, M., & Gonzalez-Martinez, C. (2010). Recent Patents on Food Applications of Chitosan. *Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture*, 2(2), 121–128.

<https://doi.org/10.2174/1876142911002020121>

- Vartiainen, J., Motion, R., Kulonen, H., Rättö, M., Skyttä, E., & Ahvenainen, R. (2004). Chitosan-coated paper: Effects of nisin and different acids on the antimicrobial activity. *Journal of Applied Polymer Science*, 94(3), 986–993. <https://doi.org/10.1002/app.20701>
- Vásconez, M. B., Flores, S. K., Campos, C. A., Alvarado, J., & Gerschenson, L. N. (2009). Antimicrobial activity and physical properties of chitosan-tapioca starch based edible films and coatings. *Food Research International*, 42(7), 762–769. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.02.026>
- Vieira, M. G. A., Da Silva, M. A., Dos Santos, L. O., & Beppu, M. M. (2011). Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. *European Polymer Journal*, 47(3), 254–263. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2010.12.011>
- Vilela, C., Pinto, R. J. B., Coelho, J., Domingues, M. R. M., Daina, S., Sadocco, P., Santos, S. A. O., & Freire, C. S. R. (2017). Bioactive chitosan/ellagic acid films with UV-light protection for active food packaging. *Food Hydrocolloids*, 73, 120–128. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.06.037>
- Villalobos, R., Chanona, J., Hernández, P., Gutiérrez, G., & Chiralt, A. (2005). Gloss and transparency of hydroxypropyl methylcellulose films containing surfactants as affected by their microstructure. *Food Hydrocolloids*, 19(1), 53–61. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2004.04.014>
- Wahyuningsih, K., Iriani, E. S., & Fahma, F. (2016). Utilization of cellulose from pineapple leaf fibers as nanofiller in polyvinyl alcohol-based film. *Indonesian Journal of Chemistry*, 16(2). <https://doi.org/10.14499/ijc-v16i2p181-189>
- Wang, S., Lu, A., & Zhang, L. (2016). Recent advances in regenerated cellulose materials. *Progress in Polymer Science*, 53, 169–206. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2015.07.003>
- Wexler, A. (1976). Vapor Pressure Equation for Water in Range 3 To 100 Degrees C. *Journal of Research of the National Bureau of Standards - A. Physics and Chemistry*,

- 80A(3), 775–785. <https://doi.org/10.6028/jres.075A.022>
- Wiles, J. L., Vergano, P. J., Barron, F. H., Bunn, J. M., & Testin, R. F. (2000). Water Vapor Transmission Rates and Sorption Behavior of Chitosan Films. *Journal of Food Science*, 65(7), 1175–1179. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb10261.x>
- Wolf, W., Spiess, W. E. L., & Jung, G. (1985). Standardization of Isotherm Measurements (Cost-Project 90 and 90 BIS). In D. Simatos & J. L. Multon (Eds.), *Properties of Water in Foods: in Relation to Quality and Stability* (pp. 661–679). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-009-5103-7\\_40](https://doi.org/10.1007/978-94-009-5103-7_40)
- Xiao, C., Zhang, Z., Zhang, J., Lu, Y., & Zhang, L. (2003). Properties of regenerated cellulose films plasticized with  $\alpha$ -monoglycerides. *Journal of Applied Polymer Science*, 89(13), 3500–3505. <https://doi.org/10.1002/app.12509>
- Xu, Q., Chen, C., Rosswurm, K., Yao, T., & Janaswamy, S. (2016). A facile route to prepare cellulose-based films. *Carbohydrate Polymers*, 149, 274–281. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.114>
- Yamada, Y., Yukphan, P., Lan Vu, H. T., Muramatsu, Y., Ochaikul, D., Tanasupawat, S., & Nakagawa, Y. (2012). Description of *Komagataeibacter* gen. nov., with proposals of new combinations (Acetobacteraceae). *The Journal of General and Applied Microbiology*, 58(5), 397–404. <https://doi.org/10.2323/jgam.58.397>
- Yang, Q., Qin, X., & Zhang, L. (2011). Properties of cellulose films prepared from NaOH/urea/zincate aqueous solution at low temperature. *Cellulose*, 18(3), 681–688. <https://doi.org/10.1007/s10570-011-9514-2>
- Yasuda, K., Ping Gong, J., Katsuyama, Y., Nakayama, A., Tanabe, Y., Kondo, E., Ueno, M., & Osada, Y. (2005). Biomechanical properties of high-toughness double network hydrogels. *Biomaterials*, 26(21), 4468–4475. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMATERIALS.2004.11.021>
- Yeul, V. S., & Rayalu, S. S. (2013). Unprecedented Chitin and Chitosan: A Chemical Overview. *Journal of Polymers and the Environment*, 21(2), 606–614. <https://doi.org/10.1007/s10924-012-0458-x>

- Youssef, A. M., Abou-Yousef, H., El-Sayed, S. M., & Kamel, S. (2015). Mechanical and antibacterial properties of novel high performance chitosan/nanocomposite films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 76, 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.02.016>
- Zhang, L., Mao, Y., Zhou, J., & Cai, J. (2005). Effects of Coagulation Conditions on the Properties of Regenerated Cellulose Films Prepared in NaOH/Urea Aqueous Solution. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 44(3), 522–529. <https://doi.org/10.1021/ie0491802>
- Zhang, L. N., Ruan, D., & Zhou, J. P. (2001). Structure and properties of regenerated cellulose films prepared from cotton linters in NaOH/Urea aqueous solution. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 40(25), 5923–5928. <https://doi.org/10.1021/ie0010417>
- Zhang, L., Ruan, D., & Gao, S. (2002). Dissolution and regeneration of cellulose in NaOH/thiourea aqueous solution. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 40(14), 1521–1529. <https://doi.org/10.1002/polb.10215>
- Zhang, Sam, & Zhang, X. (2012). Toughness evaluation of hard coatings and thin films. *Thin Solid Films*, 520(7), 2375–2389. <https://doi.org/10.1016/J.TSF.2011.09.036>
- Zhang, Shuai, Li, F.-X., Yu, J., & Hsieh, Y.-L. (2010). Dissolution behaviour and solubility of cellulose in NaOH complex solution. *Carbohydrate Polymers*, 81(3), 668–674. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.03.029>
- Zhang, Y., & Han, J. H. (2008). Sorption isotherm and plasticization effect of moisture and plasticizers in pea starch film. *Journal of Food Science*, 73(7). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00867.x>
- Zhang, Y., Liu, Z., & Han, J. (2008). 5 - Starch-based edible films. In E. Chiellini (Ed.), *Environmentally Compatible Food Packaging* (pp. 108–136). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9781845694784.1.108>
- Zhao, Y., Teixeira, J. S., Gänzle, M. M., & Saldaña, M. D. A. (2018). Development of antimicrobial films based on cassava starch, chitosan and gallic acid using subcritical

- water technology. *The Journal of Supercritical Fluids*, 137, 101–110. <https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2018.03.010>
- Zhou, J., & Zhang, L. (2000). Solubility of Cellulose in NaOH/Urea Aqueous Solution. In *Polymer Journal* (Vol. 32, Issue 10, pp. 866–870). <https://doi.org/10.1295/polymj.32.866>
- Zhou, J., Zhang, L., & Cai, J. (2004). Behavior of cellulose in NaOH/Urea aqueous solution characterized by light scattering and viscometry. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 42(2), 347–353. <https://doi.org/10.1002/polb.10636>
- Zhuang, P. Y., Li, Y. L., Fan, L., Lin, J., & Hu, Q. L. (2012). Modification of chitosan membrane with poly(vinyl alcohol) and biocompatibility evaluation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50(3), 658–663. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.01.026>
- Zivanovic, S., Chi, S., & Draughon, A. F. (2005). Antimicrobial Activity of Chitosan Films Enriched with Essential Oils. *Science*, 70(1), 45–51. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb09045.x>
- Zografí, G., Kontny, M. J., Yang, A. Y. S., & Brenner, G. S. (1984). Surface area and water vapor sorption of macrocrystalline cellulose. *International Journal of Pharmaceutics*, 18(1–2), 99–116. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(84\)90111-X](https://doi.org/10.1016/0378-5173(84)90111-X)
- Zolfi, M., Khodaiyan, F., Mousavi, M., & Hashemi, M. (2014). The improvement of characteristics of biodegradable films made from kefiran-whey protein by nanoparticle incorporation. *Carbohydrate Polymers*, 109, 118–125. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.03.018>

**ANEXO**

## Artículos publicados

- Cazón, P., Velázquez, G., & Vázquez, M. (2019). **Characterization of bacterial cellulose films combined with chitosan and polyvinyl alcohol: Evaluation of mechanical and barrier properties.** Carbohydrate Polymers, 216, 72–85. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2019.03.093>
- Cazon, P., Vázquez, M., & Velazquez, G. (2019). **Composite Films with UV-Barrier Properties Based on Bacterial Cellulose Combined with Chitosan and Poly(vinyl alcohol): Study of Puncture and Water Interaction Properties.** Biomacromolecules, 20(5), 2084–2095. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.9b00317>
- Cazón, P., Vázquez, M., & Velazquez, G. (2018). **Composite films of regenerate cellulose with chitosan and polyvinyl alcohol: Evaluation of water adsorption, mechanical and optical properties.** International Journal of Biological Macromolecules, 117, 235–246. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.05.148>
- Cazón, P., Vázquez, M., & Velazquez, G. (2018). **Novel composite films based on cellulose reinforced with chitosan and polyvinyl alcohol: Effect on mechanical properties and water vapour permeability.** Polymer Testing, 69, 536–544. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2018.06.016>
- Cazon, P., Vázquez, M., & Velazquez, G. (2019). **Environmentally Friendly Films Combining Bacterial Cellulose, Chitosan, and Polyvinyl Alcohol: Effect of Water Activity on Barrier, Mechanical, and Optical Properties.** Biomacromolecules. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.9b01457>
- Cazón, P., Vázquez, M., & Velázquez, G. (2020). **Regenerated cellulose films with chitosan and polyvinyl alcohol: Effect of the moisture content on the barrier, mechanical and optical properties.** Carbohydrate Polymers, 236,

116031. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2020.116031>

## Congresos Internacionales

- Póster “***Biodegradable absorbent pad based on regenerated cellulose with chitosan and polyvinyl alcohol for packaged foods***”. Patricia Cazón, Gema Puertas, Gonzalo Velázquez, Manuel Vázquez. 40<sup>th</sup> International Conference on Environmental & Food Monitoring. Santiago de Compostela (España).
- Poster “***Evaluation of the UV-barrier properties and transparency of bacterial and vegetable regenerated cellulose films combined with polyvinyl alcohol and chitosan***”. Patricia Cazón, Gonzalo Velázquez, Manuel Vázquez. 20<sup>th</sup> Gums & Stabilisers for the Food Industry Conference. San Sebastián (España).
- Presentación oral “***Evaluation of the mechanical properties of films from cellulose combined with chitosan and polyvinyl alcohol***”. Patricia Cazón, Manuel Vázquez, Gonzalo Velázquez, Seockmo Ku, Tony V. Johnston. 129<sup>th</sup> Meeting Tennessee Academy of Science. Columbia, Tennessee (USA). Presentación reconocida con el premio “**Second Place in the Microbiology Student Oral Presentation Section**”.