

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES Cuautitlán

*ESTUDIO DEL GRADO DE HINCHAMIENTO DE PELICULAS DE
QUITOSAN COMPUESTAS PARA SU APLICACION EN ALIMENTOS*

T E S I S
PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:

KARLA AGUILAR LARA

ASESORAS: DRA. SUSANA PATRICIA MIRANDA CASTRO
DRA. ALMA VIRGINIA LARA SAGAHON

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO 2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

A mi mamá que siempre me ayudó y fue mi impulso para alcanzar esta meta.

A mi tía Viqui y a Slava, por todo el apoyo académico, mi más sincero agradecimiento y admiración.

A la Dra. Susana Patricia Mirada Castro, por su asesoría en este trabajo, además de su amistad.

A la familia Ramírez Robles por su generosa hospitalidad, y por haberme brindado su invaluable amistad.

A la familia Rosales Gutiérrez por su agradable compañía en las buenas y en las malas.

A todos mis amigos que estuvieron conmigo durante mis estudios. En especial a Priscila, a Oscar y a Zarina.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS.....	II
ÍNDICE DE FIGURAS.....	III
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	3
OBJETIVOS.....	6
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES.....	7
1.1 Quitina y Quitosán.....	8
1.1.1 <i>Obtención</i>	8
1.1.2 <i>Propiedades</i>	11
1.1.3 <i>Aplicaciones</i>	12
1.1.4 <i>Aspectos Económicos</i>	15
1.2 Películas Comestibles y Biodegradables.....	16
1.2.1 <i>Historia</i>	16
1.2.2 <i>Importancia de los Biopolímeros</i>	17
1.2.3 <i>Definiciones</i>	18
1.2.4 <i>Formulación</i>	19
1.2.5 <i>Plastificante</i>	20
1.2.6 <i>Propiedades de las Películas</i>	21
1.2.7 <i>Aplicaciones en Alimentos</i>	22
1.2.8 <i>Teoría del Hinchamiento</i>	23
CAPÍTULO II. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	32
Cuadro Metodológico.....	33
Actividades Preliminares.....	34
Pruebas de Hinchamiento.....	36
CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	43
CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES.....	52
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1</i>	<i>Aplicaciones Actuales de Quitina y Quitosán</i>
<i>Tabla 2</i>	<i>Reactivos adicionados a cada mezcla de quitosán</i>
<i>Tabla 3</i>	<i>Solución Amortiguadora de Fosfatos pH 7.2</i>
<i>Tabla 4</i>	<i>Diseño experimental utilizado en el Experimento 2</i>
<i>Tabla 5</i>	<i>Análisis de Varianza (Todos los efectos)</i>
<i>Tabla 6</i>	<i>Comparación del % de hinchamiento en diferentes películas compuestas de quitosán (peso molecular 232620 g/mol)</i>
<i>Tabla 7</i>	<i>Comparación del % de hinchamiento en diferentes películas compuestas de quitosán (peso molecular 57500 g/mol)</i>

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1* *Estructura Química del Quitosán*
Figura 2 *Estructura Química de la Quitina*
Figura 3 *Diagrama de Bloques para la Obtención de Quitina y Quitosán*
Figura 4 *Clasificación de los Hidrogeles*
Figura 5 *Estructura de los Enlaces Cruzados en un Hidrogel*
Figura 6 *Curvas de Hinchamiento de Películas Simples de Quitosán*
Figura 7 *Linealización de la Curva de Hinchamiento de la Película de Quitosán*
(Peso Molecular 57500 g/mol)
Figura 8 *Linealización de la Curva de Hinchamiento de la Película de Quitosán*
(Peso Molecular 232620 g/mol)
Figura 9 *Efecto de la Interacción del Peso Molecular y la Formulación en el*
Grado de Hinchamiento. Gráfica de Promedios de 2 Repeticiones

RESUMEN

Los exoesqueletos de camarones y cangrejos revisten gran importancia por su abundancia como desperdicio de la industria pesquera (González González y col., 2002). De los exoesqueletos de los crustáceos se obtiene un biopolímero denominado quitosán. El quitosán ha sido ampliamente utilizado en la industria y es un buen material para la preparación de geles y películas (Li y col., 1997).

Las películas comestibles han sido usadas para proteger fármacos y mejorar la vida de anaquel de productos alimenticios (Gontard y col., 1993). La mayoría de las películas no se aplican para productos de alta humedad porque se hinchan, disuelven, o desintegran al contacto con el agua (Guilbert y col., 1996). El hinchamiento puede causar cambios de conformación en la microestructura de la película que no sólo puede incrementar la absorción de humedad, sino que también modifica la estructura del polímero llevando a un incremento de la permeabilidad al vapor de agua (Garnica Martínez, 2001).

El objetivo de este estudio fue comparar el efecto que tiene el peso molecular del quitosán, y la formulación en las películas compuestas de dicho polímero en el grado de hinchamiento de las mismas; sumergiéndolas en agua destilada, solución amortiguadora y solución fisiológica; para prever su comportamiento al aplicarlas en alimentos con alto contenido de humedad.

Las películas de quitosán absorbieron agua hasta alcanzar un estado estacionario, donde el hinchamiento llegaba a un máximo; tal comportamiento es congruente con la teoría de hinchamiento.

Así mismo, se encontró que las películas de quitosán de peso molecular alto (232620 g/mol) alcanzan mayor hinchamiento que las películas de quitosán de peso molecular bajo (57500 g/mol).

Por otro lado, se encontró que no hay un efecto significativo del solvente utilizado en el hinchamiento. En cambio la interacción de la formulación con el peso molecular sí afecta el hinchamiento de las películas.

Finalmente se sugiere que las películas de quitosán de peso molecular bajo podrían aplicarse en alimentos con alto contenido de humedad debido a que presentan menor grado de hinchamiento. No obstante, es recomendable tomar en cuenta otras propiedades de las

películas antes de considerar una aplicación, y realizar un estudio fisicoquímico más completo del fenómeno de hinchamiento.

INTRODUCCIÓN

Los polímeros sintéticos están siendo gradualmente reemplazados por materiales biodegradables, especialmente aquellos derivados de fuentes renovables y naturales (Tharanathan, 2003). En estas fuentes naturales, los exoesqueletos de camarones y cangrejos revisten gran importancia por su abundancia como desperdicio de la industria pesquera (González, González, 2002). De los exoesqueletos de los crustáceos se obtiene un biopolímero denominado quitina, y un derivado de la quitina conocido como quitosán. La producción industrial y el uso del quitosán, han aumentado constantemente desde la década de 1970. El polímero tiene muchas aplicaciones potenciales en la agricultura porque se encuentra en la naturaleza y es biodegradable, además de que no podría causar problemas de contaminación. El quitosán ha sido ampliamente utilizado en la industria de alimentos y es un buen material para la preparación de geles y películas (Li y col., 1997).

Por otro lado, la tendencia actual en alimentos siempre apunta a la preferencia de los consumidores por productos frescos con el menor tratamiento posible de aditivos y conservadores (García, 2002). El mejoramiento de la calidad y seguridad de alimentos procesados al mínimo, es de gran interés tanto para el consumidor como para la industria (Guilbert y col., 1996). El empaque en la tecnología de alimentos se preocupa por la preservación y protección de todos los productos y sus materias primas, así como de la descomposición oxidativa y microbiana. Los alimentos, en su forma procesada o como materia prima, dependiendo de su actividad de agua y temperatura de almacenamiento, pueden ser altamente perecederos y necesitan una cuidadosa intervención tecnológica para conservarlos más tiempo (Tharanathan, 2003). Cada alimento sufre al menos un problema de transferencia de masa, ya sea migración de humedad, intrusión de oxígeno, pérdida o ganancia de aroma, o migración de aceite. El principal propósito del empaque es proteger el producto de los alrededores (Petersen y col., 1999).

Las películas y cubiertas comestibles presentan numerosas ventajas sobre los empaques poliméricos no comestibles convencionales. Éstas han sido usadas para proteger fármacos y mejorar la vida de anaquel de productos alimenticios (Gontard y col., 1993). Las películas y cubiertas biodegradables pueden funcionar como barreras a la humedad, al oxígeno, al sabor, al aroma, y/o proteger la calidad del alimento y otros productos del

medio ambiente. Las películas elaboradas con materiales biodegradables también pueden ser empleadas para generar una atmósfera modificada alrededor del producto empacado y pueden reemplazar los plásticos no biodegradables usados hoy en día en atmósferas modificadas (Guilbert y col., 1996).

El bioempaque constituye un lugar en el mercado y ese será nuestro futuro (Tharanathan, 2003). Cualquier reemplazo exitoso de películas sintéticas convencionales con alternativas biodegradables reduce el uso de fuentes no renovables y reduce los desechos a través del reciclaje biológico (Krochta, 2002).

Los alimentos al ser cubiertos o empacados difieren en muchos aspectos bioquímicos y físicos (contenido de humedad, pH, polaridad, etc.). Es por ello que las películas comestibles y biodegradables deben reunir algunos requisitos funcionales específicos (barrera a la humedad, barrera a un soluto o un gas, solubilidad en agua o en lípidos, color y apariencia, características mecánicas y reológicas, toxicidad nula, etc.). Estas propiedades dependen del tipo de material usado, su formación y aplicación. También pueden adicionarse plastificantes, agentes de entrecruzamiento, antimicrobianos, antioxidantes, agentes de textura, además de otros; para mejorar las propiedades funcionales de la película. La mayoría de las películas no se aplican para productos de alta humedad porque se hinchan, disuelven, o desintegran al contacto con el agua (Guilbert y col., 1996).

El hinchamiento puede causar cambios de conformación en la microestructura de la película que no sólo puede incrementar la absorción de humedad, sino que también modifica la estructura del polímero llevando a un incremento de la velocidad de transferencia de humedad, y por consiguiente en la permeabilidad al vapor de agua (Garnica Martínez, 2001). Por otro lado, las mediciones de hinchamiento son un método simple y de bajo costo para la determinación del grado de enlaces cruzados de la red que forma la película, que además puede relacionarse con sus propiedades reológicas (Domenek y col., 2004). Predecir el grado de hinchamiento es importante en el diseño, evaluación y utilización de estos materiales para aplicaciones específicas (Şen y Güven, 2000). Es por eso que el estudio de hinchamiento de las películas nos ayuda para saber si funcionarán adecuadamente al aplicarlas en alimentos con alto contenido de humedad.

En el presente trabajo se estudiará el grado de hinchamiento de películas de quitosán compuestas, ya que la formulación de las películas influye en sus propiedades funcionales. También se comparará esta propiedad en películas elaboradas con quitosán de diferentes pesos moleculares, porque se sabe que el tamaño de la cadena del polímero puede afectar el hinchamiento. Las pruebas de hinchamiento se realizaron sumergiendo las películas en diferentes solventes, para evaluar el comportamiento de las películas de quitosán compuesto frente a ambientes acuosos con electrolitos, y de esta manera, darnos una idea de cuáles de estas películas funcionan mejor cuando sean aplicadas en ciertos alimentos.

OBJETIVOS

General

Comparar el efecto que tiene el peso molecular del quitosán, y la formulación de películas compuestas de este polímero en el grado de hinchamiento de las mismas; sumergiéndolas en agua destilada, solución buffer y solución fisiológica; para prever su comportamiento al aplicarlas en alimentos con alto contenido de humedad.

Particular 1

Determinar la influencia del tiempo en el grado de hinchamiento de las películas de quitosán a dos pesos moleculares (57500 y 232620), sumergiendo las películas en agua destilada.

Particular 2

Determinar la influencia del peso molecular del polímero (57500 g/mol y 232620 g/mol), la formulación de las películas, y el solvente (agua destilada, solución amortiguadora de fosfatos y solución fisiológica); en el grado de hinchamiento de películas de quitosán compuestas (con glicerol, ácido oleico ácido linoleico y tween 60), aplicando un diseño experimental con estructura factorial completamente aleatorio.

CAPÍTULO I.

ANTECEDENTES

1.1 Quitina y Quitosán

Cualquier molécula de cadena larga formada por sub-unidades moleculares repetidas es un polímero. Por otro lado, los biopolímeros son simplemente polímeros producidos por el mundo natural (Barrientos Ramírez, 1999).

El quitosán (Fig. 1) [(1-4)-2-amino-deoxi-β-D-glucano], es un biopolímero usualmente preparado por desacetilación de la quitina (Figura 2) [2-acetamido-2-deoxi-D-glucosa-(N-acetilglucosamina)] (Li y col., 1997, Quezada Gallo y col., 2000). La quitina es el componente mayoritario en las cutículas de los crustáceos, insectos, y moluscos, y en las paredes celulares de algunos microorganismos. Estos polisacáridos están ahora comercialmente disponibles a escala industrial (Hirano, 1997).

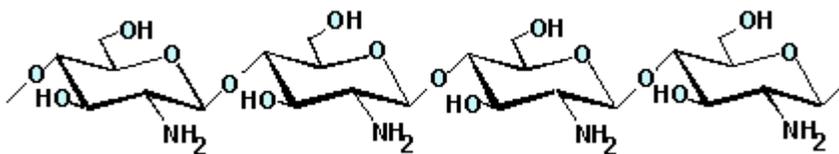


Figura 1. Estructura Química del Quitosán

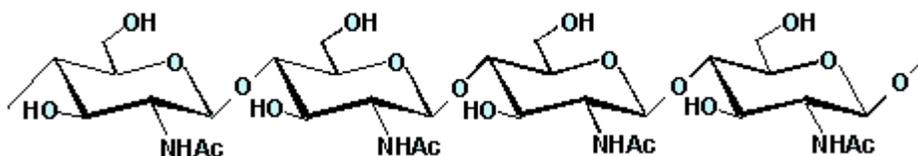


Figura 2. Estructura Química de la Quitina

1.1.1 Obtención

La quitina es el segundo polímero natural más abundante después de la celulosa, y uno de los componentes principales del exoesqueleto de los artrópodos (arañas, cucarachas...) y crustáceos (jaibas, langostas y, principalmente, camarones) (Fernández, 2005).

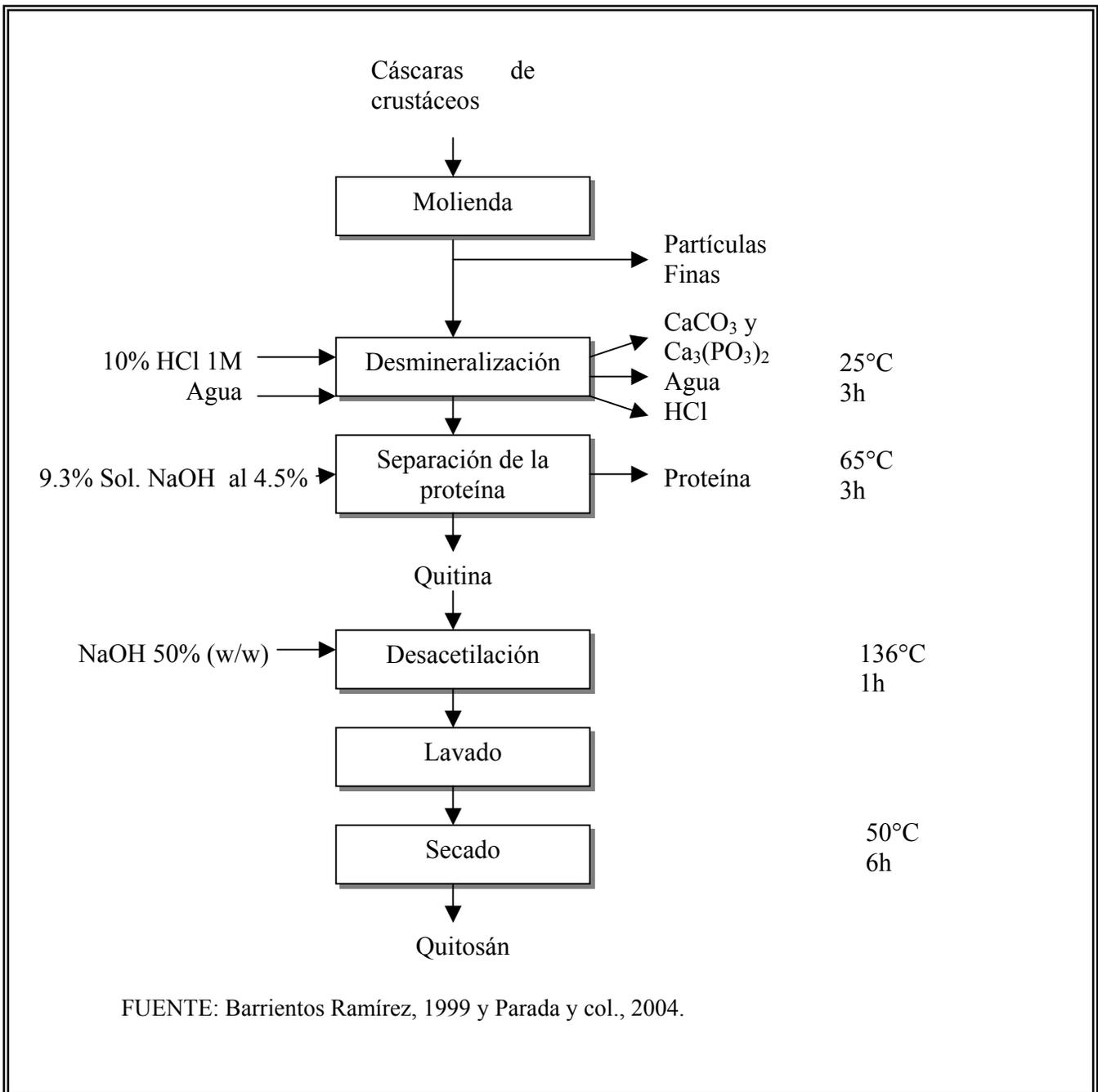
El proceso para la extracción de la quitina a partir de residuos de mariscos fue desarrollado hace varias décadas y algunas versiones de este proceso se utilizan todavía, como se ilustra en la Figura 3 (Barrientos Ramírez, 1999).

La materia prima es homogeneizada y triturada. La cáscara molida se agita sobre un tamiz para remover las partículas finas, posteriormente se hace un tratamiento con ácido para eliminar carbonato de calcio y fosfato de calcio; después de mezclar por varias horas, el material se enjuaga para remover el ácido, y entonces se transfiere a un recipiente donde se calienta durante pocas horas con hidróxido de sodio u otro álcali, para despegar la proteína de la quitina. Después se enjuaga y se seca, de esta manera se obtiene la quitina en forma de polvo blanco. El quitosán es preparado por tratamiento de la quitina con una base fuerte para eliminar el grupo acetilo, dejando una amina libre; para ello se utiliza NaOH al 50% (w/w) a 136°C durante una hora (Hirano, 1997).

El grupo de investigación sobre la quitina y el quitosán de la Universidad de Liège, Bélgica, está desarrollando un proceso alternativo para la producción de quitosán el cual consiste en un proceso biotecnológico basado en la bioconversión enzimática de quitina utilizando quitina desacetilasa. El proceso presenta diversas ventajas: no es degenerativo, es controlable y puede generar derivados a la medida con características químicas bien definidas (Barrientos Ramírez, 1999).

El hongo cultivado capaz de sintetizar solamente quitina, o asociada con quitosán asumirá el papel principal como fuente de quitina y quitosán. Se ha desarrollado un método para la producción y aislamiento, a escala laboratorio, de quitosán a partir de pared de hifas de *Mucor rouxii*. También se ha utilizado *M. rouxii* y *Phycomyces blakesleeanus* para producir quitosán, y se reportó que estas dos cepas pueden convertir la quitina comercial y quitina del desecho del micelio de *Aspergillus niger* en quitosán. Se han dirigido muchas investigaciones para la producción de quitosán por fermentación utilizando diferentes cepas como *Absidia coerulea*, *Absidia fusca*, *Absidia glauca*, *Absidia repens*, *M. rouxii*, *P. Blakesleeanus* y *Absidia blakesleeanus*. Incluso, se ha desarrollado recientemente un método rápido para la extracción de quitosán de alta calidad, el cual no destruye las células fúngicas (Hu y col, 2004).

Figura 3. Diagrama de bloques para la obtención de quitina y quitosán.



1.1.2 Propiedades

El quitosán es:

- Un amino-polisacárido catiónico que se encuentra en la naturaleza.
- Biodegradable.
- Biocompatible con órganos, tejidos, y células de animales y plantas.
- Poco tóxico en administraciones orales e implantes.
- Capaz de ser procesado en muchos productos; incluyendo hojuelas, polvos finos, membranas, esponjas, algodones, fibras y geles.
- Imparte propiedades funcionales como alta viscosidad, humidificación, quelación de metales, formación de poli-electrolitos, y afinidad para formar enlaces.
- Biológicamente compatible en la biosfera, estratosfera, atmósfera e hidrosfera.
- Definido en su estructura química.
- Modificable química y enzimáticamente (Hirano, 1997).

Además, el derivado de la quitina, tiene la distribución regular de los grupos amino en la cadena; por lo tanto es un polímero quelante de primer orden de metales de transición (Ogawa y Oka, 1984). El quitosán es conocido como el mejor polímero adsorbente de metales pesados. El quitosán fúngico presenta una habilidad de acumulación todavía más grande que el quitosán de crustáceos (Hu y col., 2004).

El quitosán es metabolizado por ciertas enzimas humanas, por ejemplo lisozima, y puede ser considerado biodegradable. Debido a sus cargas positivas en pH fisiológico, el quitosán es también bioadhesivo, lo cual incrementa la retención en el sitio de aplicación. El quitosán también promueve la curación de heridas y tiene efectos bacteriostáticos (Berger y col., 2004).

Los principales parámetros que influyen las características del quitosán son su peso molecular, cristalinidad y morfología, su grado de desacetilación el cual representa la proporción de unidades desacetiladas, y el modo de distribución de los monómeros (acetilados y desacetilados). Dichos parámetros influyen propiedades importantes como la solubilidad y la viscosidad (Berger y col., 2005).

Estos parámetros están determinados por las condiciones seleccionadas durante la preparación pero pueden ser modificadas en una etapa posterior. Por ejemplo, el grado de desacetilación puede disminuirse por reacetilación y el peso molecular puede disminuirse por despolimerización ácida (Berger y col., 2004). Por otro lado, las modificaciones del grado de desacetilación y del modo de distribución de los monómeros de quitosán (unidades acetiladas y desacetiladas) es una forma común de modular las propiedades de los hidrogeles de quitosán. Idealmente, estas modificaciones deben ser fáciles de realizar sin la adición de reactantes tóxicos, para evitar un decremento de la biocompatibilidad intrínseca del quitosán. Además, el quitosán no debe degradarse y el proceso debe ser reproducible y eficiente. El grado de desacetilación del quitosán comercial (generalmente 80%) puede incrementarse con una mayor desacetilación usando soluciones concentradas de hidróxido de sodio a temperaturas mayores a 100°C. De cualquier manera este proceso generalmente induce degradación que disminuye el peso molecular del quitosán. Para evitar la degradación, se han sugerido los métodos enzimáticos. Más común es la modificación del grado de desacetilación por reacetilación, el cual da como resultado un menor grado de desacetilación. La reacetilación es llevada a cabo generalmente mediante la adición de anhídrido acético. Consecuentemente, la razón de monómeros acetilados y monómeros desacetilados se incrementa, lo cual favorece la hidrofobicidad de las cadenas poliméricas y contribuye a la formación de interacciones entre cadenas, permitiendo la gelificación.

1.1.3 Aplicaciones

La quitina y el quitosán ya han encontrado aplicaciones en diversos productos que han alcanzado el mercado. La producción industrial y uso de la quitina y el quitosán han aumentado de manera constante desde la década de 1970. En aquel tiempo, las principales aplicaciones del quitosán fueron centradas en desecación de lodos, procesamiento de alimentos y quelación de metales iónicos. La tendencia actual, en aplicaciones industriales, se ha expandido hacia la elaboración de productos de alto valor, como cosméticos, transportadores de fármacos, aditivos de alimentos, membranas

semipermeables, y fármacos (Meron Biopolymers, 2006). En la Tabla 1 se presentan las aplicaciones que se han encontrado para la quitina y el quitosán.

Tabla 1. Aplicaciones Actuales de Quitina y Quitosán

Campo de Aplicación	Producto
Médico	Vendas y Esponjas Vasos Artificiales de Sangre Control de Colesterol en la Sangre Tratamiento para Control de Peso Inhibición de Tumores Membranas Inhibición de la Placa Dental Quemaduras de la Piel/ Piel Artificial Lentes de Contacto Liberación controlada de Drogas Tratamiento de Enfermedades de los Huesos
Cosméticos y Artículos de Tocador	Polvo de Maquillaje Esmalte para Uñas Humectantes Loción para Baño Cremas para Cara, Manos y Cuerpo Pasta de Dientes
Tratamiento de Agua	Eliminación de Iones Metálicos Coagulante
Alimentos	Eliminación de Colorantes, Sólidos, Ácidos Conservadores Estabilización de Color Aditivo en Alimentación Animal Cubiertas Biodegradables en Frutos
Agricultura	Cubierta para Semillas Cubierta para Hojas Fertilizante / Hidropónicos Liberación Controlada de Agroquímicos
Biotecnología	Inmovilización de Enzimas Separación de Proteínas Cromatografía Recuperación Celular Inmovilización Celular Electrodo de Glucosa
Pulpa y Papel	Tratamiento de la Superficie Papel Fotográfico Papel para Copias Fotostáticas
Membranas	Osmosis Inversa Control de Permeabilidad Separación por Solventes

FUENTE: (Meron Biopolymers, 2006)

La diferencia en valor entre los productos terminados desarrollados recientemente y los polímeros de bajo costo que dominaron la industria en el pasado, es una de las fuerzas principales que nos llevan a estudios en nuevas aplicaciones de estos polisacáridos. Es por ello que la biotecnología actualmente está atendiendo la producción a gran escala de productos biológicos de alto valor (Meron Biopolymers, 2006).

El quitosán es conocido por su biocompatibilidad que permite su uso en varias **aplicaciones médicas**. En tales casos el polímero es utilizado como componente en hidrogeles (Berger y col., 2004).

Por ejemplo se puede crear una cubierta de quitosán directamente en el sitio de una herida, aplicando una solución de acetato de quitosán. Se cree que el quitosán de bajo peso molecular es el más efectivo para esta aplicación (Meron Biopolymers, 2006).

Por otro lado, el biopolímero ha demostrado tener múltiples efectos en **sistemas alimenticios**: como fibra dietética, ingrediente funcional, antimicrobiano, adsorbente de lípidos, y emulsificante; formación de películas biodegradables; recuperación de material de desecho y secuestrador de colorantes. La United States Food and Drug Administration (USFDA) aprobó el quitosán como un aditivo alimenticio en 1983. El quitosán es usado en ciertos países como EU, Japón y Alemania, en la industria de alimentos para realzar la calidad; Japón produce galletas dietéticas, papas fritas y tallarines enriquecidos con quitosán. Además, los productos de vinagre que contienen quitosán son manufacturados en Japón debido a su habilidad de disminuir el colesterol (Rodríguez y col., 2003).

El quitosán ha sido utilizado en la eliminación de metales peligrosos e isótopos radioactivos de **aguas contaminadas**. También ha sido utilizado por 30 años en plantas purificadoras de agua donde se rocía sobre la superficie del agua para absorber aceite y otras sustancias tóxicas. El biopolímero “chupa” estas sustancias peligrosas y después es eliminado fácilmente. Este biopolímero también es utilizado como soporte para cromatografía, en química analítica, para separar los restos metálicos; y en la industria metalúrgica para separar y purificar metales (Hu y col., 2004).

1.1.4 Aspectos Económicos

El quitosán es abundante en la naturaleza y su producción es de bajo costo (Berger y col., 2004). La producción de quitina y quitosán se basa en el descascamiento de los crustáceos por las industrias de conservas de los Estados Unidos y Japón, y por varias flotas pesqueras en el Antártico. Varios países poseen grandes recursos pesqueros aún sin explotar; por ejemplo: Noruega, México y Chile. A lo largo de las costas de América del Norte, muchas grandes compañías envasan carne congelada de cangrejos de mar, camarones y jaibas; donde se desechan como residuos cantidades considerables de caparazones de estos crustáceos. Se calcula que estos desechos contienen 25% de quitina. La producción de quitosán a partir de la cáscara de crustáceos, como residuo de la industria de alimentos, es económicamente factible, especialmente si esta incluye la recuperación de los carotenoides (Barrientos Ramírez, 1999).

Los carotenoides (astaxantina) presentes en el camarón ($0.735 \pm 0.07 \text{mg}/100\text{g}$), se utilizan principalmente para conferir color a muchas especies acuícolas como truchas arco iris y salmones, aumentando así su valor comercial. El origen natural de la astaxantina ha llamado la atención, estando sujeto a numerosas investigaciones con el fin de elevar su aprovechamiento (Carranco, 2003).

Los productos marinos constituyen uno de los rubros económicos de mayor importancia para países como México, que poseen un amplio litoral. Entre aquellos productos, el camarón destaca por ser uno de los de mayor demanda en el mercado nacional e internacional, debido principalmente a su excelente valor nutritivo y a sus propiedades sensoriales. Sólo el 50% del animal es comestible y el restante 50% está constituido por el cefalotórax, mejor conocido como cabeza, que no es comestible y representa en México cerca de 35000 toneladas anuales de desperdicios que, de no ser aprovechados, son contaminantes (Carranco, 2003).

En nuestro país, la cáscara de camarón se produce en abundancia, principalmente a lo largo de la costa del Pacífico y también en la zona costera del golfo de México y el mar Caribe. En la península de Yucatán destaca la zona de Lerma en el estado de Campeche. A pesar de ello, en México este material todavía es considerado y manejado en su mayoría como un desecho y tan solo una cantidad es usada en la preparación de alimentos para consumo animal (Rivera Muñoz, 2004).

Aunque en la República Mexicana no existe la producción industrial de quitosán, algunas compañías pesqueras ya están considerando la producción de quitina en colaboración con la Universidad Nacional Autónoma de México (Rojas, 2006).

1.2 Películas comestibles y biodegradables

1.2.1 Historia

El uso de recubrimientos para frutas y hortalizas es una práctica antigua que se desarrolló para imitar las cubiertas naturales de los productos vegetales comestibles. Las películas de proteína de soya han sido producidas en China desde hace 2000 años. Existen reportes que datan de los siglos XII y XIII en los que se menciona que en China se realizaba la inmersión de naranjas y limas en cera para retardar la pérdida de agua. Durante el siglo XVI se practicaba en Inglaterra el “mantecado”, esto es, el recubrimiento con grasa de productos alimenticios para prevenir también la pérdida de humedad de éstos. En el siglo XIX se emplearon películas de gelatina para la conservación de carne y otros alimentos. En el siglo XX ya se encontraban comercialmente disponibles ceras parafínicas que se derretían con calor para el recubrimiento de cítricos, y a mediados de ese siglo se desarrollaron emulsiones aceite-agua con cera de carnauba para el recubrimiento de frutas y hortalizas frescas (Chen, 1995).

Las patentes en películas comestibles para extender la vida de anaquel de alimentos datan de los 1950, comprendiendo películas para carne congelada, aves, y productos del mar; usando alginatos, grasas, gomas y almidones. Desde entonces la investigación se está orientando hacia el desarrollo de recubrimientos específicos para determinado tipo de alimento (Guilbert y col., 1996).

1.2.2 Importancia de los biopolímeros

Lo que concierne a la preservación de nuestra biosfera, nunca había sido tan ampliamente considerado como hoy (Bosques y col., 2000). 20% de 100 millones de toneladas métricas de basura que se manejan anualmente en Estados Unidos, se refiere a empaques sintéticos los cuales pueden ser reemplazados con polímeros biodegradables (Budi Santosa y Padua Wild, 1999). Los materiales biodegradables tienen potencial para reducir la contaminación ambiental disminuyendo los depósitos de desechos sólidos, y reduciendo la necesidad de incineración (Garnica Martínez, 2001).

Se sabe que mercancías agrícolas de bajo costo y productos del mar, comúnmente encontradas en países desarrollados, producen grandes cantidades de excedentes y desechos que son fuentes subutilizadas de biopolímeros. La investigación en usos alternativos y reprocesamiento de estos biopolímeros, añadirá valor comercial y reactivará economías agotadas, también reducirá los problemas de contaminación (García y col., 2004).

Las películas elaboradas de materiales biodegradables pueden emplearse como materiales de empaque para generar una atmósfera modificada conveniente alrededor de un producto empacado, y pueden reemplazar plásticos no biodegradables usados actualmente en el almacenamiento (Guilbert y col., 1996, Chick y Hernández, 2002).

Hoy la incineración es el método más común para tratar polifenoles, pero esto lleva desafortunadamente a altas emisiones de dióxido de carbono. La biodegradación de polímeros renovables, recicla dióxido de carbono a la atmósfera más que incrementarlo.

La consideración de películas de biopolímeros para empaques y otras aplicaciones, tiene más sentido cuando la recuperación de empaques de plástico sintéticos convencionales es difícil. El esfuerzo en el desarrollo de polímeros biodegradables, para empaques de alimentos, ha sido especialmente urgente para la Marina; en donde el desecho de vasos no biodegradables es prohibido legalmente (Krochta y De Mulder-Jhonston, 1997).

La manufactura de empaques con biopolímeros es considerablemente más costosa que la producción de empaques tradicionales, pero los consumidores probablemente lleguen a pagar más por productos amigables con el medio ambiente (Garnica Martínez, 2001). Ahora bien, desde el punto de vista de protección del ambiente, los plásticos

biodegradables se conciben como menos costosos que los plásticos sintéticos pues su uso con éste propósito reduciría significativamente la basura del envasado (Bosques y col., 2000).

1.2.3 Definiciones

Con frecuencia, los términos película, recubrimiento o cubierta se emplean como sinónimos, aunque existen algunas diferencias.

Las películas son estructuras del polímero que se forman independientemente y que permanecen separadas de cualquier intención de uso. Estas películas también se utilizan como estructura de prueba para la determinación de propiedades de barrera, mecánicas, solubilidad, y otras proporcionadas por un cierto material de película.

Las cubiertas involucran la formación de una estructura del polímero, directamente en la superficie del objeto que se pretende proteger o mejorar de alguna manera. En este sentido, las cubiertas llegan a ser parte del producto y permanecen en el mismo durante su uso y consumo (Krochta, 2002).

Las películas y cubiertas pueden ser de dos tipos: comestibles, o simplemente biodegradables, como se explica a continuación:

Cubiertas y Películas Comestibles: Son capas delgadas preparadas a partir de material comestible que actúan como una barrera a los elementos externos (factores como humedad, aceite, vapor), y de esta manera, protegen al producto y prolongan su vida de anaquel.

Ejemplos de algunas cubiertas son cera para frutas frescas y vegetales, cubiertas de laca en dulces y nueces, envolturas naturales en productos cárnicos, y cápsulas de grenetina para fármacos. El principal beneficio de las cubiertas comestibles es que pueden consumirse con el alimento, proveer de nutrientes adicionales, mejorar las características sensoriales e incluir antimicrobianos que elevan la calidad. Debido a que

pueden consumirse, la composición de las películas o cubiertas comestibles debe ajustarse a las regulaciones que se aplican en alimentos (Guilbert y col., 1996).

Las películas y cubiertas biodegradables pueden funcionar como barreras a la humedad, al oxígeno, al sabor, al aroma, y/o proteger del medio ambiente la calidad del alimento y otros productos. En contraste con las películas y cubiertas comestibles, la intención de una película o cubierta biodegradable, generalmente es reemplazar totalmente el empaque u otro producto sintético convencional. Puede ser que una película o cubierta biodegradable necesite proveer algún mecanismo de protección para un alimento, una droga, u otro producto (Krochta, 2002).

1.2.4 Formulación

Las películas comestibles son formadas generalmente a partir de componentes hidrofílicos tales como proteínas o polisacáridos (Bosques y col., 2000). La formación de películas flexibles a partir de hidrocoloides requiere dos ingredientes esenciales: un material polimérico formador de la película que provee la matriz estructural y un plastificante, como un poliol de peso molecular bajo, el cual imparte flexibilidad. Las películas basadas en proteínas tienen pobres propiedades de barrera al vapor de agua pero son más resistentes a la transferencia de oxígeno que las películas que son preparadas a partir de polisacáridos (Cuq y col., 1995).

Las películas comestibles a base de polisacáridos incluyen las que son a base de celulosa y sus derivados, quitosán, almidones, dextrinas, alginatos, carragenina y pectina. Debido a su relativa insolubilidad, en estado natural, la celulosa y la quitina son químicamente tratadas para incrementar su solubilidad en agua (Butler y col., 1996, García y col., 2004). El mecanismo principal en la formación de las películas de polisacáridos es la disgregación de segmentos del polímero y la reformación de la cadena dentro de la matriz o gel de la película (Butler y col., 1996).

En películas comestibles los lípidos que han sido usados incluyen cera de candelilla, cera de carnauba, parafina, monoglicéridos acetilados, ácido esteárico, ácido oleico, ácido láurico, o ésteres de ácidos grasos, ácido palmítico, capríónico o behénico

(Bosques y col., 2000). Los lípidos son los más eficientes como barreras a la humedad debido a su carácter hidrofóbico (Chang y col, 2000).

El quitosán es de interés potencial como base de películas biodegradables porque tiene excelentes propiedades de barrera al oxígeno y contra los mohos (García y col., 2004). Las películas de quitosán son quebradizas debido a las extensas fuerzas intermoleculares, pero dicha desventaja se puede superar con la adición de un plastificante en la formulación, aunque es bien sabido que estos materiales alteran la permeabilidad al vapor de agua de películas hidrofílicas. Los puentes de hidrógeno presentes en el quitosán lo hacen sensible al agua. Por ello la necesidad de aumentar la resistencia al agua sin perder su propiedad de biodegradarse, por lo que se adicionan ácidos grasos integrados en surfactantes a las películas para mejorar sus propiedades de barrera (Garnica Martínez, 2001).

Las películas compuestas pueden diseñarse para tomar ventajas de los componentes puros. Como para los polímeros sintéticos, las propiedades mecánicas y de barrera de películas biológicas compuestas dependen fuertemente de las características de los polímeros que las constituyen y su compatibilidad.

1.2.5 Plastificantes

El plastificante reduce las fuerzas intermoleculares a lo largo de la cadena polimérica. Sus grupos polares (-OH) desarrollan puentes de hidrógeno a lo largo de la cadena polimérica reemplazando las interacciones polímero-polímero. La configuración y número total de grupos funcionales hidroxilos del plastificante, así como también su compatibilidad con el polímero, pueden afectar las interacciones entre el plastificante y el polímero dando como resultado un incremento en la movilidad de las cadenas y por consiguiente películas más flexibles. En la ausencia de cantidades suficientes de plastificante, se forma una película quebradiza e inflexible que es difícil separar de la superficie donde se forma (Chen, 1995).

Sin embargo, los plastificantes no sólo proveen de propiedades mecánicas a la película, sino también incrementan la permeabilidad de la misma dado que la movilidad

de la cadena aumenta, los coeficientes de difusión también se acrecientan, además de que crece la sorción de moléculas polares tales como el agua, resultando en altas permeabilidades al vapor de agua (Garnica Martínez, 2001).

Los plastificantes cubren una amplia gama de compuestos químicos incluyendo ésteres, hidrocarburos, agua, alcoholes, glicoles, fenoles (Budi Santosa y Padua Wild, 1999); y en películas biopoliméricas los más ampliamente usados son los polioles, mono, di u oligosacáridos, lípidos y derivados.

Los compuestos tales como el glicerol, sorbitol y polietilenglicol son ampliamente usados. El sorbitol y glicerol son humectantes, y parte de su acción de plastificación se debe a su habilidad para detener agua, dichas moléculas de agua actúan como plastificante, que es el más común y más difícil de regular en películas hidrofílicas (Chen, 1995). Durante la hidratación de la película, moléculas de agua nuevamente adicionadas pueden desarrollar enlaces hidrógeno con el polímero, reduciendo las interacciones y aumentando la movilidad de la cadena. El glicerol es el más ampliamente reportado en la literatura como el mejor plastificante, esto puede verse reflejado dado su hidrofiliidad y peso molecular respecto a los demás plastificantes. La hidrofiliidad de estos compuestos está en el siguiente orden: glicerol > sorbitol > polietilenglicol > glicerina (Garnica Martínez, 2001).

1.2.6 Propiedades de las Películas

Las características mecánicas de las películas deben ser suficientemente buenas para mantener la integridad a través de su producción y prácticas de manejo, dado que las fracturas pueden destruir las propiedades de barrera (Chen, 1995).

Las propiedades mecánicas, es decir la resistencia a esfuerzos mecánicos de tensión y compresión, dependen del tipo de material con el que se forma la película (Ozdemir y Floros, 2003).

La elongación es el porcentaje de cambio de la longitud original de la película al punto de fractura (Chang y col., 2000), se calcula dividiendo la elongación al momento de la ruptura entre la longitud inicial del espécimen y multiplicada por 100.

Fuerza de tensión, es una medida de la fuerza de la película, se refiere especialmente a la fuerza máxima de tensión (fuerza/área transversal) que el material puede sufrir antes de la fractura. Las unidades son: fuerza/área de sección transversal (Berger y col., 2004).

Con la finalidad de dar mejores propiedades mecánicas a películas comestibles se ha empleado en algunos estudios el secado de las películas con microondas, porque se cree que produce películas con altas fuerzas de tensión y valores de elongación en condiciones ambientales, en tanto que las características de permeabilidad al vapor no se ven afectadas (Garnica Martínez, 2001).

1.2.7 Aplicaciones en Alimentos

Las películas comestibles pueden mejorar las propiedades funcionales de los alimentos. Pueden utilizarse para proteger piezas pequeñas o porciones de alimentos, y dentro de alimentos pequeños para separar componentes. Las películas y cubiertas comestibles han mostrado ser barreras potenciales para transferencia a la humedad, oxígeno, dióxido de carbono, lípidos, aromas y compuestos de sabor en sistemas alimenticios (Chick y Hernández, 2002). También pueden usarse como transportes de antioxidantes, antimicrobianos, saborizantes y pigmentos; como material de cubierta para nueces y frutas; para prevenir la migración de humedad en alimentos multicomponentes tales como las pizzas, sándwich, pasteles de frutas, dulces (Bosques y col., 2000), pastas de humedad intermedia, pasta de aderezos, helado en cono, repostería con frutas, chocolate o dulces duros con centro líquido, queso y galletas (Garnica Martínez, 2001). Una película comestible que contenga conservador puede usarse como una película activa en superficies de alimentos y así protegerlos del ataque microbiano (Ozdemir y Floros, 2003).

Los usos de cubiertas comestibles también incluyen la aplicación en frutas y vegetales frescos; nueces, cereales y productos de cereales; dulces y productos heterogéneos (Vachón y col., 2003). La cera como barrera a la humedad se incluye en los cítricos, manzanas, peras, plátanos, chabacanos, nectarinas, melones, aguacates, nabos, zanahorias, pepinos, calabazas, papas, tomates, pimientos y berenjenas; que ordinariamente se almacenan en condiciones de temperatura y humedad relativa ambiente (Bosques y col., 2000).

En general, las películas comestibles fabricadas a partir de fuentes naturales, son mecánicamente más débiles que las fabricadas a partir de polímeros sintéticos como polietileno y polietilentereftalato (Chick, y Hernández, 2002).

1.2.8 Teoría del Hinchamiento

El agua es transferida a través de la película debido a la diferencia de potencial químico entre dos compartimientos, pero las moléculas de agua sorbidas afectan las propiedades de plastificación, hinchamiento, y solubilidad, que pueden modificar la eficiencia de la barrera de la misma (Chang y col., 2000).

El hinchamiento puede causar cambios de conformación en la microestructura de la película que no solo puede incrementar la absorción de humedad, sino que también abre la estructura del polímero llevando a un incremento en la permeabilidad al vapor de agua (Garnica Martínez, 2001).

Para estudiar el fenómeno de hinchamiento en las películas de quitosán, se tomará como modelo los hidrogeles.

Los geles hidrofílicos llamados hidrogeles son materiales de enlaces cruzados que absorben grandes cantidades de agua sin disolverse –más del 20% de su peso seco- (Melekaslan y col., 2004).

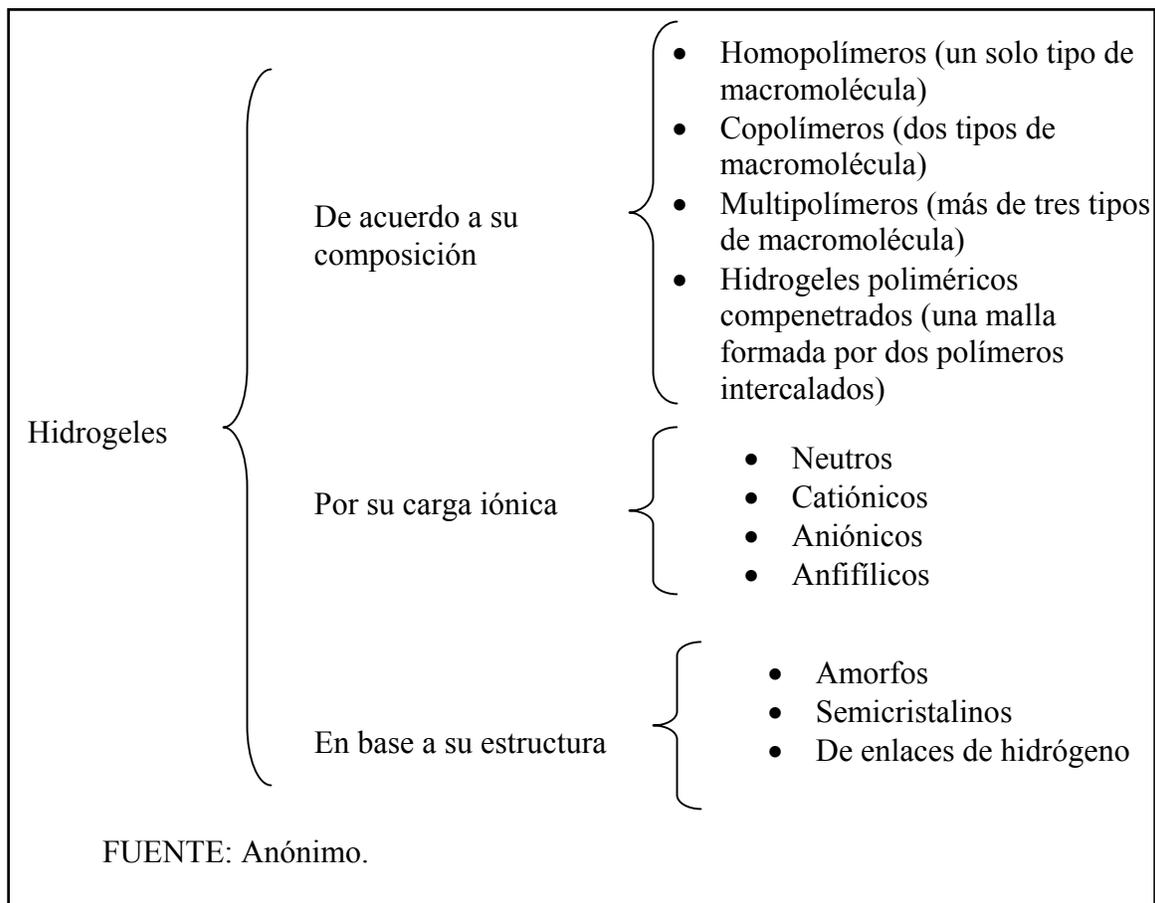
Debido a su contenido de agua relativamente alto, tienen muchas aplicaciones en los campos biomédico, farmacéutico, alimenticio y medioambiental. Su alto contenido de agua les imparte alta compatibilidad con seres vivos y son muy bien tolerados en implantes. Consecuentemente, son usados en una variedad de aplicaciones biomédicas

como sistemas de liberación de drogas, vendaje de heridas, lentes de contacto, sustitución de tejido suave, catéteres, etc. (Yong Lee y col., 1999).

Cuando el gel se somete a sequedad se obtiene una estructura cristalina denominado xerogel. Los hidrogeles poseen un carácter hidrófilo debido a la presencia en su estructura molecular de grupos afines al agua (-OH, -COOH, -CONH₂, -CONH, -SO₃H), la existencia de una red polimérica los hace insolubles en agua, y su suavidad y elasticidad se asocian con la hidrofiliidad de los monómeros y la densidad del entrecruzamiento (Pinzón y col., 2002).

Los hidrogeles pueden clasificarse de acuerdo a su composición, sus cargas iónicas o su estructura (Figura 4).

Figura 4. Clasificación de los hidrogeles.



Los hidrogeles son sistemas que incrementan su volumen hasta alcanzar el equilibrio fisicoquímico, en respuesta a diferentes tipos de estímulos como la luz, fuerza iónica, temperatura, pH, campo eléctrico o concentración del disolvente (Melekaslan y col., 2004).

Estos sistemas poseen las siguientes características estructurales (Anónimo):

1. Cadenas Hidrofilicas: Una cadena de polímero de unidades hidratables con una estructura química ramificada pero que forma fuertes enlaces de hidrógeno con agua.
2. Red Tridimensional: Cadenas hidrofilicas ligadas por múltiples enlaces de naturaleza física o covalente pero estables en presencia de agua.

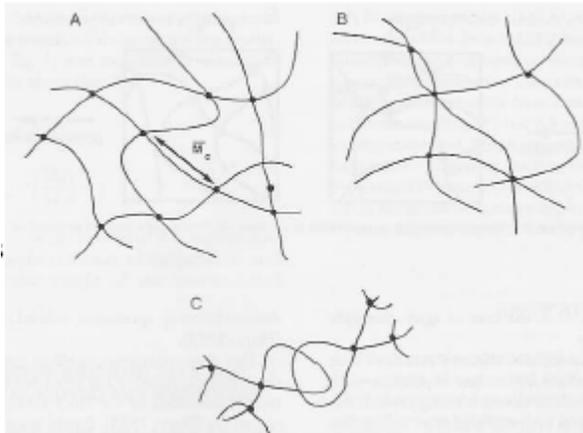
Las conexiones entre cadenas pueden ser:

- Enlaces entre átomos de carbono.
- Puentes químicos (por ejemplo, puentes disulfuro).
- Fuerzas de Van der Waals.
- Puentes de Hidrógeno.
- Enmarañamientos ocasionados por interacciones hidrófilas e hidrófobas

Las conexiones entre las cadenas se nombran enlaces cruzados o uniones. La estructura de los enlaces cruzados puede ser (Anónimo):

- A. Una red ideal con enlaces cruzados covalentes tetrafuncionales (muy poco común). (Figura 5)
- B. Uniones multifuncionales.
- C. Enmarañamientos moleculares.

Figura 5. Estructura de los enlaces cruzados en un hidrogel.



FUENTE: Anónimo

El hinchado de un polímero entrecruzado es el equivalente a la solvatación de un polímero lineal: el disolvente penetra en el polímero entrecruzado ocupando los espacios entre las cadenas de polímero, lo que produce un aumento de volumen. La energía libre del mezclado causará que el disolvente penetre y trate de diluir el polímero. Como las cadenas del polímero entrecruzadas empiezan a extenderse bajo la acción de hinchamiento del solvente, estas generan una fuerza retráctil elástica en oposición a esta deformación. El entrecruzamiento del polímero actúa como un anclaje que previene el movimiento excesivo de las cadenas de polímero necesario para disolverse. El hinchamiento volumétrico alcanza su estado estable (equilibrio de hinchamiento) cuando ambas fuerzas se balancean unas con otras (Sperling, 1995, Domenek, 2004).

Joseph y col., 2004; adoptaron el modelo de Flory-Rehner para analizar el comportamiento de una red polimérica. La descripción termodinámica de un gel polimérico en equilibrio con un diluyente está basada en la suposición de que la entalpía libre de un gel hinchado pueda ser considerada como la suma de la entalpía libre elástica que surge de la deformación de la red y la entalpía libre asociada con el mezclado de las cadenas del polímero y las moléculas del agente de hinchamiento.

Flory y Rehner han demostrado que si uno asume una red tetraédrica simple para un polímero de enlaces cruzados puede derivarse una expresión para la energía libre molar parcial del solvente en la red hinchada. En esta teoría, se asume que la red consiste

de cadenas enlazadas unas con otras en una estructura tetraédrica que se repite (Joseph y col., 2004).

Siguiendo a Flory y Rehner, la energía libre molar parcial del solvente se representa como la suma de términos para la energía libre de mezclado (dilución) y la energía libre de estiramiento elástico:

$$\Delta\bar{F}_0 = \Delta\bar{F}_{mix} + \Delta\bar{F}_{el} = \Delta\bar{F}_{mix} + \Delta\bar{H}_{el} - T\Delta\bar{S}_{el} \quad (1)$$

La energía libre de mezclado es la misma que desarrollaron Flory y Huggins para soluciones de polímero lineal, con la condición de que el peso molecular es infinito:

$$\Delta\bar{F}_{mix} = RT \ln(1 - V_r) + V_r + \chi V_r^2 \quad (2)$$

donde V_r representa la fracción volumen del polímero y χ es el parámetro de interacción polímero-solvente el cual está derivado de la entropía y el calor de mezclado. Flory y Rehner sugirieron la expresión de entropía elástica como:

$$\Delta S_{el} = \frac{RV_0 V_r^{1/3}}{V_C} = \frac{RV_r^{1/3}}{\bar{M}_c} \quad (5)$$

Donde V_C es el volumen molar promedio de las cadenas entre los enlaces cruzados. Joseph y col., 2004; usaron \bar{M}_c para la relación V_C/V_0 . El peso molecular entre enlaces cruzados M_C es por supuesto $V_C\rho_p$ donde ρ_p es la densidad del polímero. La contribución del calor de la deformación elástica es insignificante en comparación con otros términos:

$$\Delta\bar{H}_{el} = 0 \quad (6)$$

Combinando las Ecuaciones (1), (2), (3) y (5), se obtiene la ecuación de Flory-Rehner para el modelo de red tetraédrica:

$$\Delta \bar{F}_0 = RT \left[\ln(1 - V_r) + V_r + \chi V_r^2 + \frac{1}{M_c} V_r^{1/3} \right] \quad (7)$$

Una red real difiere del concepto idealizado arriba, en las irregularidades de la estructura. Las irregularidades pueden deberse a la presencia de extremos que se balancean; el peso molecular finito del polímero antes del entrecruzamiento; la presencia de enmarañamientos que se acoplan, los cuales existieron en los polímeros lineales antes de la formación de red y llegaron a estar permanentemente atrapados durante el proceso de cruzamiento de enlaces; y la presencia de la fracción sol (especies moleculares no sujetas del todo a la red). Los extremos que se balancean, ‘dangling ends’, y la fracción sol no contribuyen al módulo de equilibrio porque no pueden almacenar energía elástica en equilibrio. El hinchamiento máximo de un polímero en un solvente particular ocurre cuando la densidad de energía cohesiva y el parámetro de solubilidad del solvente, llegan a ser iguales a las del polímero. Las características de solvatación pueden ser evaluadas por la aplicación de la ecuación de la energía libre de Gibbs. La función de trabajo ΔG en esta ecuación es una medida de la espontaneidad del proceso de la solución y está relacionada con la entropía de mezclado ΔS_m y la entalpía de mezclado ΔH_m en la expresión $\Delta G = \Delta H_m - T\Delta S_m$ para un polímero amorfo. La entropía de mezclado (ΔS_m) para un sistema polímero-solvente es siempre positiva. En un polímero sólido, las macromoléculas están enredadas y la moción molecular está limitada al segmento de movimiento Browniano. En solución, las macromoléculas están sin enredarse y las cadenas se cambian de posición entre ellas, pueden separarse unas de otras, y pueden poseer diferentes configuraciones. El número de grados de libertad se incrementa, con un aumento drástico de la entropía. La entalpía de mezclado (ΔH_m), también llamada calor de mezclado, para un sistema polímero-solvente, está dada por la ecuación de Hildebrand-Scatchard:

$$\Delta H_m = V_m \left[\left(\frac{\Delta E_1}{V_1} \right)^{1/2} - \left(\frac{\Delta E_2}{V_2} \right)^{1/2} \right]^2 V_1 V_2$$

En calorías por mol o joules por mol donde V_m es el volumen total de la mezcla, ΔE_1 y ΔE_2 son las energías de vaporización del solvente y el polímero, respectivamente. El término $(\Delta E/V)$ es llamado la densidad de energía cohesiva y es la energía de vaporización por mol. Es una medida de la cantidad de energía necesaria para superar todas las fuerzas intermoleculares en un mol del líquido. El parámetro de solubilidad es definido como la raíz cuadrada de la densidad de energía cohesiva (CED) y está representada con el símbolo δ .

$$\delta = \left(\frac{\Delta E}{V} \right)^{1/2} \text{ (cal/cm}^3\text{)}^{1/2} \text{ o (J/m}^3\text{)}^{1/2}$$

La CED y δ son proporcionales a la cohesión del material o la fuerza de atracción entre las moléculas que construyen el material. Los valores de CED y δ también dependen de la estructura química y los grupos constituyentes presentes en el polímero. El hinchamiento máximo de polímeros tendrá lugar en el solvente para el cual el parámetro de solubilidad sea igual al del polímero. Los parámetros de solubilidad de los solventes pueden calcularse por la ecuación:

$$\delta_{mix} = \frac{X_1 V_1 \delta_1 + X_2 V_2 \delta_2}{X_1 V_1 + X_2 V_2}$$

Donde X_1 y X_2 son las fracciones molares de los componentes 1 y 2, V_1 y V_2 son los volúmenes molares de los componente 1 y 2, y δ_1 y δ_2 son parámetros de solubilidad de los componentes 1 y 2. El hinchamiento es máximo en solventes polares (Joseph y col., 2004).

En el proceso de hinchamiento que sigue a la penetración de agua en la matriz, son propuestos los siguientes tres pasos: (paso 1) difusión de moléculas de agua en la red del polímero, (paso 2) relajación de las cadenas del polímero con hidratación, y (paso 3) expansión de la red del polímero dentro de un medio de agua alrededor, dependiendo de la relajación. Dependiendo del paso dominante, el mecanismo de transporte para la penetración del solvente puede clasificarse como Fickiano (Caso 1), transporte por

difusión, o transporte anómalo (no Fickiano, Caso II). Cuando no ocurren cambios estructurales de la red del polímero en el proceso completo, o cuando la velocidad de difusión o penetración es mucho menor que el proceso de relajación-hidratación del polímero; la penetración del solvente en el polímero está gobernada por la difusión molecular del solvente a través de la red del polímero (paso 1). En el caso extremo de que la velocidad de difusión del solvente sea mucho más rápida que la velocidad de relajación, el proceso de relajación llega a ser el paso que determina la velocidad (paso 2). Cuando el proceso de expansión domina, las cinéticas de hinchamiento son gobernadas por difusión colectiva (paso 3) (Kaneko y col., 1998).

El grado de hinchamiento puede ser cuantificado por:

- La relación de volumen de la muestra en el estado hinchado al volumen en el estado seco.
- El grado de hinchamiento en peso: relación del peso de la muestra hinchada con el peso de la muestra seca.

Se ha dedicado mucho interés en años recientes a la síntesis y desarrollo de hidrogeles que manifiestan cambios controlados de volumen en respuesta a cambios en condiciones medioambientales. Todos estos esfuerzos han permitido a los investigadores entender y controlar mejor el estímulo-respuesta de los hidrogeles y también predecir sus grados de equilibrio de hinchamiento bajo condiciones externas. El carácter previsible del grado de hinchamiento en equilibrio, es importante en el diseño, evaluación y utilización de estos materiales para aplicaciones específicas. Se han hecho muchos intentos para desarrollar modelos teóricos que expliquen el comportamiento de hinchamiento de los hidrogeles. La más ampliamente usada de estas teorías es la teoría clásica de hinchamiento desarrollada por Flory y Rehner (Şen y Güven, 2000):

$$-[1n(1 - v_2) + v_2 + \chi_1 v_2] = v_1 n \left[v_2^{1/3} - \frac{v_2^2}{2} \right]$$

Donde v_2 es la fracción volumen del polímero en la masa hinchada.

χ_1 es el Parámetro de Interacción de Flory-Huggins.

v_1 es el volumen molar el solvente.

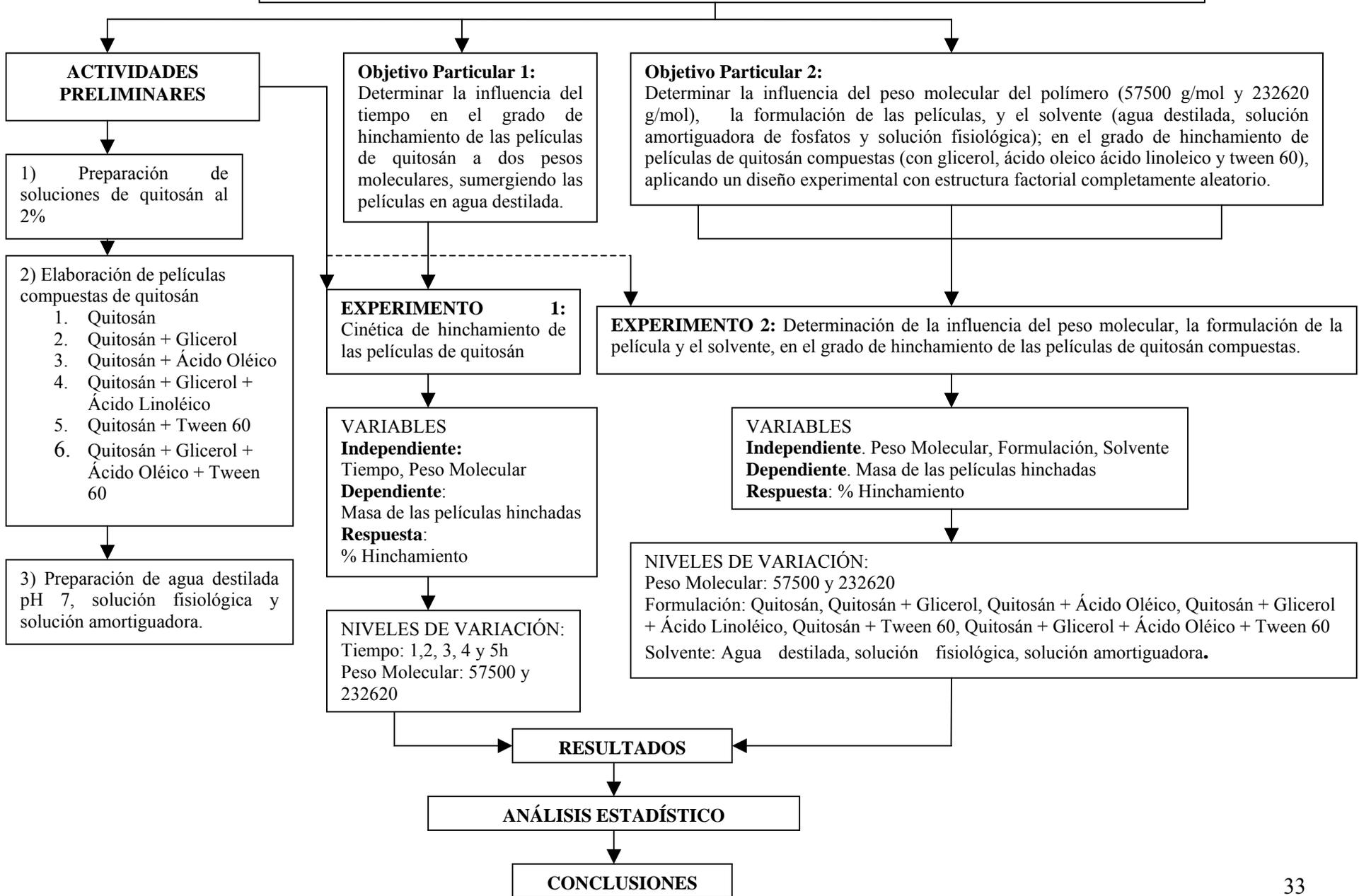
Es posible que el parámetro χ no sea constante y es común ajustar la función $\chi(v_2)$ para un polinomio (típicamente de grado 2) (Domenek y col., 2004).

Flory-Rehner considera las siguientes tres ideas:

1. El cambio de entropía causado por el mezclado del polímero y el solvente. Este cambio es positivo y favorece el hinchamiento.
2. El cambio de entropía causado por la reducción en el número de conformaciones de cadena posibles cuando la red del polímero se hincha. Este cambio de entropía es negativo e impide el hinchamiento.
3. El calor del mezclado del polímero y el solvente. Usualmente, pero no siempre, ligeramente positivo (Yong Lee y col., 1999).

CAPÍTULO II. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Objetivo General: Comparar el efecto que tiene el peso molecular del quitosán, y la formulación de películas compuestas de este polímero en el grado de hinchamiento de las mismas, sumergiéndolas en agua destilada, solución buffer y solución fisiológica; para prever su comportamiento al aplicarlas en alimentos con alto contenido de humedad.



Actividades Preeliminares

1) Preparación de soluciones de quitosán al 2%

Se utilizaron dos tipos de quitosán, los cuales fueron obtenidos en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Estudios Superiores-Cuautitlán (Patente en trámite, IMPI005444):

- Peso Molecular 57500, de langostino, 100% desacetilado, 0.84% cenizas, 7.6% nitrógeno.
- Quitosán, Peso Molecular 232620, de langostino, 100% desacetilado, 0.25% cenizas, 8.3% nitrógeno.

Se prepararon 10L de solución de ácido acético al 1% para disolver posteriormente el quitosán. En la balanza de dos platos (0.1g marca OHAUS mod. Harvard Trip) se pesaron 20g de quitosán de peso molecular 57500 sobre un plato de unicel. El polímero se disolvió en la solución de ácido acético al 1%, con un agitador magnético. Se adicionó el hidróxido de sodio al 12% necesario para ajustar el pH a 5.5. La medición de pH se realizó con el potenciómetro. La mezcla fue homogeneizada en un equipo homogeneizador - Brown Multiquick, 200W- para deshacer los grumos formados, sin controlar la velocidad y el tiempo.

Se repitió el procedimiento anterior para la preparación de la mezcla de Quitosán de peso molecular 232620. La mezcla de quitosán -peso molecular 57500- se filtró con algodón y gasa para eliminar las impurezas presentes. En cada frasco de vidrio color ámbar, fueron envasados 500 mL de la mezcla. La mezcla de quitosán -peso molecular 232620- también se filtró y se envasó en frascos de vidrio color ámbar.

2) Elaboración de películas compuestas de quitosán.

Se prepararon 12 mezclas diferentes para la elaboración de las películas, de las cuales 6 fueron seleccionadas arbitrariamente para las pruebas de hinchamiento*.

Cada 500 mL de solución de quitosán de peso molecular 57500 fueron mezclados con el homogeneizador (marca Brawn Multiquick) en un vaso de precipitados adicionando los reactivos que se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. *Reactivos adicionados a cada mezcla de quitosán.*

Mezcla	Reactivos adicionados
1*	-
2*	Glicerol
3*	Ácido Oleico
4	Ácido Linoléico
5	Tween 20
6*	Tween 60
7	Tween 80
8*	Glicerol Ácido Oleico
9	Glicerol Ácido Linoléico
10	Glicerol Ácido Oleico Tween 20
11*	Glicerol Ácido Oleico Tween 60
12	Glicerol Ácido Oleico Tween 80

* Mezclas seleccionadas para las pruebas de hinchamiento.

Las mezclas fueron envasadas. Después se almacenaron en refrigeración. Se repitió el procedimiento anterior para preparar 12 mezclas con la solución de quitosán de peso molecular 232620.

Una vez preparadas todas las mezclas se obtuvieron las películas de 30-40 μ m utilizando la técnica de “casting”, la cual consiste en vaciar la mezcla sobre una superficie plana y ponerla a secar a temperatura ambiente (Patente en trámite PA/a/2004/001347).

3) *Preparación de agua destilada pH 7, solución fisiológica y amortiguador de fosfatos pH 7*

Se calibró un potenciómetro marca Hanna Instruments modelo 9017 (0.01 unidades de pH). Una vez calibrado el instrumento se realizó la medición del pH del agua destilada. Para ajustar el pH del agua se agregó hidróxido de sodio para aumentarlo, o ácido acético para disminuirlo.

Para preparar la solución fisiológica, primero se ajustó el pH del agua destilada a 7, como se indicó anteriormente. Se pesaron 8.5 g de cloruro de sodio en una balanza de dos platos. Se midió 1 L de agua destilada pH 7 en una probeta y se vació en un vaso de precipitados. Se agregó el cloruro de sodio y se disolvió con un agitador de vidrio. La solución se vació en frascos de vidrio color ámbar.

Para la preparación de la solución buffer de fosfatos pH 7 se utilizó la formulación de la Tabla 3. El pH del agua destilada se ajustó como se describió anteriormente. Los solutos se disolvieron en el agua destilada en un vaso de precipitados con un agitador de vidrio. La solución se vació en frascos de vidrio color ámbar.

Tabla 3. *Solución Amortiguadora de Fosfatos pH 7.2*

Reactivo	Molaridad (M)
Cloruro de sodio	0.1
Fosfato mono-ácido de potasio	7×10^{-3}
Fosfato diácido de potasio (KH_2PO_4)	2×10^{-3}

Pruebas de Hinchamiento

Primero se seleccionaron seis películas compuestas que representaran diferentes formulaciones (Tabla 2). De cada película se cortaron cuadros de 2 cm de lado (espesor de 30-40 μm).

Se realizó una prueba preeliminar para comprobar que las películas a estudiar se comportaban como hidrogeles, es decir, absorbían agua sin disolverse.

Cada muestra (cuadro) de las películas de cada peso molecular (6 x 2 = 12 películas) se sumergió por separado en 50 mL de agua destilada contenidos en un vaso de precipitados. Se observó si las películas se habían disuelto después de 24 horas. Todas las películas conservaron su forma después de ese tiempo.

Para cumplir con el Objetivo Particular 1 se realizó el experimento que se describe a continuación.

EXPERIMENTO 1: Cinética de hinchamiento de las películas de quitosán.

VARIABLES:

Variables Independientes: Tiempo, peso molecular.

Variable de Respuesta: % de Hinchamiento.

Variable de Dependiente: Peso de la película hinchada.

NIVELES DE VARIACIÓN:

Tiempo: 1,2, 3, 4 y 5h

Peso Molecular: 57500 y 232620

Las muestras de películas de quitosán se vaciaron en cajas Petri (una caja para cada peso molecular) y se pusieron a peso constante. Se tomó con unas pinzas una muestra de película de quitosán de peso molecular 232620 y se pesó en la balanza analítica. La muestra se sumergió en 50 mL de agua destilada a pH 7. Después de 1 hora se sacó la muestra con las pinzas, se retiró el exceso de agua empapando un papel absorbente, y se volvió a pesar. La medición se repitió cada hora. Se repitió la prueba para una muestra de película de quitosán de peso molecular 57500.

Para calcular el grado de hinchamiento se utilizó la siguiente ecuación:

$$\%W = \frac{W_w - W_0}{W_0} \times 100$$

Donde

W_w es el peso final, después de sumergir las películas,

W_0 es el peso inicial, de la película seca,

$\%W$ es el porcentaje de hinchamiento.

Se graficó el % hinchamiento en función del tiempo. Las curvas fueron analizadas como lo hicieron García y col., 2003, como se explica a continuación.

Se aplicó la siguiente ecuación, la cual es válida para cuando las películas mantienen el espesor constante:

$$\ln\left(\frac{M_t}{M_{m\acute{a}x}}\right) = \ln k + \ln t$$

Donde

M_t representa la cantidad de agua absorbida por el hidrogel en el tiempo t ,

$M_{m\acute{a}x}$ representa la máxima cantidad de agua absorbida por el gel

K es una característica del sistema

n es el exponente de difusión, que está determinado por el modo de transporte del agua.

Un valor de $n = 0.50$ indica un mecanismo de difusión fickiana, mientras que si se cumple que $0.50 < n < 1$ indica que la difusión es de tipo no fickiana o anómala. En el caso especial en que $n = 1$, el mecanismo de transporte es conocido con el nombre de tipo II. Cuando se representa $\ln(M_t/M_{m\acute{a}x})$ hasta valores menores e iguales a 0.60 debe observarse linealidad. De la pendiente se obtiene el valor de n y de la ordenada en el origen el valor de k . El ajuste de la aproximación es satisfactorio para las primeras etapas del hinchamiento.

Para tiempos mayores hay desviación de éste comportamiento, ya que a grandes hinchamientos el espesor de la película no permanece constante y el primer orden no es aplicable. Se ha demostrado que para el segundo orden cinético, el recíproco del promedio de hinchamiento (t/W_t) está relacionado con el tiempo de tratamiento según la ecuación lineal:

$$\frac{t}{W_t} = A + B_t$$

En esa ecuación, A y B son dos coeficientes con sentido físico, los cuales se interpretan de la siguiente manera:

- Para tiempos grandes de tratamiento $B_t > A$ y la pendiente B será el recíproco del hinchamiento en el equilibrio $B = 1/W_\infty$.
- Por el contrario a tiempos muy cortos de hinchamientos $A \gg B_t$ se puede despreciar B_t y en este caso A se iguala al recíproco de la velocidad inicial de hinchamiento:

$$\lim_{t \rightarrow 0} \left(\frac{dW}{dt} \right) = \frac{1}{A}$$

Por lo tanto, la ordenada en el origen (A) representa el recíproco del hinchamiento inicial.

EXPERIMENTO 2: Determinación de la influencia del peso molecular, la formulación de la película y el solvente, en el grado de hinchamiento de las películas de quitosán.

VARIABLES

Variables Independientes: Peso molecular, formulación, solvente.

Variable Dependiente: Peso de la película hinchada.

Variable de Respuesta: % Hinchamiento.

NIVELES DE VARIACIÓN:

Peso Molecular: 57500 y 232620.

Formulación: Quitosán, Quitosán + Glicerol, Quitosán + Ácido Oleico, Quitosán + Glicerol + Ácido Linoleico, Quitosán + Tween 60, Quitosán + Glicerol + Ácido Oleico + Tween 60.

Solvente: Agua destilada, solución fisiológica, amortiguador de fosfatos.

Las pruebas de hinchamiento se realizaron tomando una muestra de cada película. La muestra se pesó en una balanza analítica y se sumergió durante dos horas en el solvente. Se eligió un tiempo de dos horas para el Experimento 2 porque de acuerdo con los resultados obtenidos en el Experimento 1, se supuso que a partir de ese tiempo las películas de quitosán alcanzan el equilibrio. Aunque para las películas compuestas no se puede afirmar que a las dos horas se encuentran en equilibrio, se consideró que todas las películas deben seguir una misma tendencia durante su hinchamiento. Como es usual, los porcentajes de hinchamiento se incrementan en periodos cortos de tiempo y llegan a un máximo hinchamiento en periodos largos (Caykara, 2003). De acuerdo con (Caykara, 2003; Escobar y col., 2003; y García y col., 2003) un comportamiento exponencial se presenta cuando el agua penetra en la red y las películas mantienen un espesor constante, en las primeras etapas de hinchamiento. Si la medición de hinchamiento se realizara en esa etapa, antes de llegar al estado estacionario, de cualquier manera se apreciaría la diferencia en el comportamiento de las diferentes películas, aunque no se pueda estimar el grado de hinchamiento en el equilibrio.

Después de las dos horas, la película se sacó del solvente con unas pinzas y se colocó sobre un papel absorbente, retirando el exceso de humedad. La muestra se pesó nuevamente en la balanza analítica y se calculó el grado de hinchamiento con la ecuación:

$$W = \frac{W_w - W_0}{W_0}.$$

Los 36 diferentes tratamientos de este experimento con estructura factorial (2X3X6) y diseño completamente aleatorio se muestran en la Tabla 5, se realizaron 2 repeticiones del experimento completo. Los resultados se analizaron mediante un análisis de variancia y prueba de Tukey.

Tabla 4. *Diseño experimental utilizado en el Experimento 2*

No.	Peso Molecular	Solvente	Composición	% Hinchamiento
1	232620	Agua	Q	
2	232620	Agua	Q+G	
3	232620	Agua	Q+AO	
4	232620	Agua	Q+G+AL	
5	232620	Agua	Q+T	
6	232620	Agua	Q+G+AO+T	
7	232620	Buffer de fosfatos	Q	
8	232620	Buffer de fosfatos	Q+G	
9	232620	Buffer de fosfatos	Q+AO	
10	232620	Buffer de fosfatos	Q+G+AL	
11	232620	Buffer de fosfatos	Q+T	
12	232620	Buffer de fosfatos	Q+G+AO+T	
13	232620	Solución fisiológica	Q	
14	232620	Solución fisiológica	Q+G	
15	232620	Solución fisiológica	Q+AO	
16	232620	Solución fisiológica	Q+G+AL	
17	232620	Solución fisiológica	Q+T	
18	232620	Solución fisiológica	Q+G+AO+T	
19	57500	Agua	Q	
20	57500	Agua	Q+G	
21	57500	Agua	Q+AO	
22	57500	Agua	Q+G+AL	
23	57500	Agua	Q+T	
24	57500	Agua	Q+G+AO+T	
25	57500	Buffer de fosfatos	Q	
26	57500	Buffer de fosfatos	Q+G	
27	57500	Buffer de fosfatos	Q+AO	
28	57500	Buffer de fosfatos	Q+G+AL	
29	57500	Buffer de fosfatos	Q+T	
30	57500	Buffer de fosfatos	Q+G+AO+T	
31	57500	Solución fisiológica	Q	
32	57500	Solución fisiológica	Q+G	
33	57500	Solución fisiológica	Q+AO	
34	57500	Solución fisiológica	Q+G+AL	
35	57500	Solución fisiológica	Q+T	
36	57500	Solución fisiológica	Q+G+AO+T	

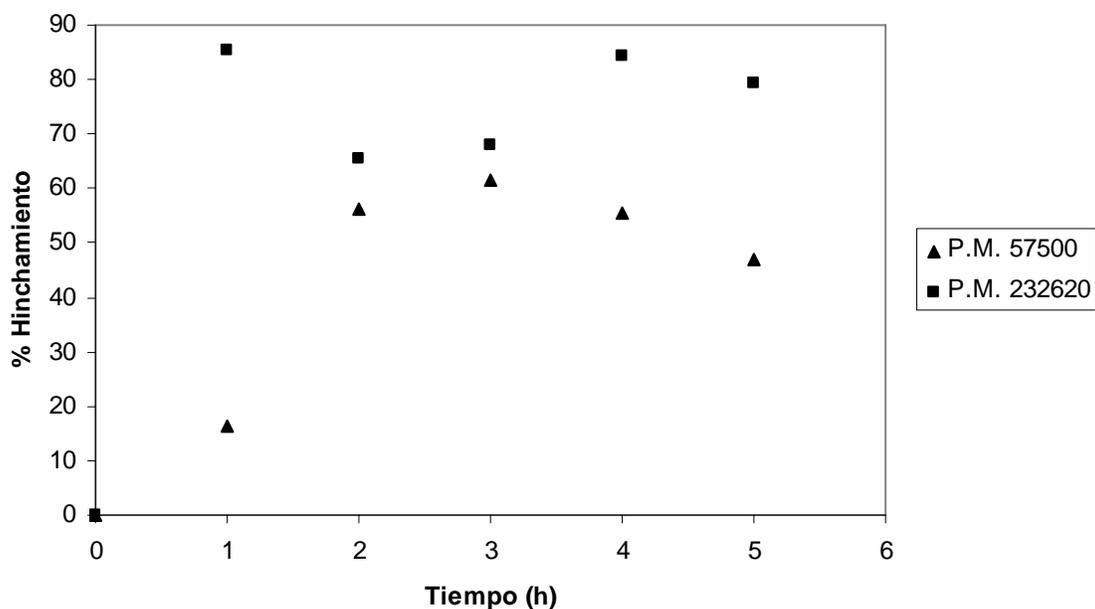
Q, quitosán; G, glicerol; AO, ácido oleico; AL, ácido linoléico; T, tween 60.

CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

EXPERIMENTO 1: Determinación de la cinética de hinchamiento de las películas de quitosán.

En las curvas construidas con los resultados del Experimento 1, se observa que el hinchamiento llega a un estado estacionario, donde el hinchamiento ya no aumenta con respecto al tiempo. También podemos notar una diferencia en el valor máximo de hinchamiento alcanzado en cada película (Figura 6).

Figura 6. Curvas de Hinchamiento de Películas Simples de Quitosán



En la película de peso molecular bajo se aprecia un aumento en el hinchamiento durante las primeras dos horas. De acuerdo con Caykara, 2004, es usual que los grados de hinchamiento de los hidrogeles aumenten en tiempos cortos y alcancen un hinchamiento máximo para tiempo largos. De igual manera, el hinchamiento de la película de quitosán – peso molecular bajo- aumenta inicialmente hasta alcanzar el equilibrio.

Para determinar el mecanismo de transporte que predomina en la fase inicial de hinchamiento, los datos pueden ajustarse a una ecuación exponencial:

$$F = kt^n$$

Donde F denota la fracción del solvente en un tiempo t , k es una constante característica del hidrogel, y n es un exponente característico del modo de transporte durante la penetración del solvente (García y col., 2003).

No fue posible hacer la regresión de la potencia debido a que no hay suficientes datos experimentales antes del equilibrio. Al realizar la regresión con todos los datos experimentales, existe una desviación del comportamiento exponencial. Es común que después de alcanzar el máximo hinchamiento, los datos no se ajusten al modelo descrito; pues cuando los valores de hinchamiento son grandes el espesor de la película no permanece constante (Escobar y col., 2003).

Después de dos horas podemos suponer que el hinchamiento de la película se encuentra en estado estacionario. Para comprobarlo, se ajustaron los datos al modelo de Schott, propuesto para tiempos posteriores, cuando el espesor de la película cambia y el hinchamiento está controlado por la difusión (García y col., 2003). El tratamiento consiste en graficar t/W vs. t , y al realizar la regresión lineal se debe obtener una ecuación como la siguiente:

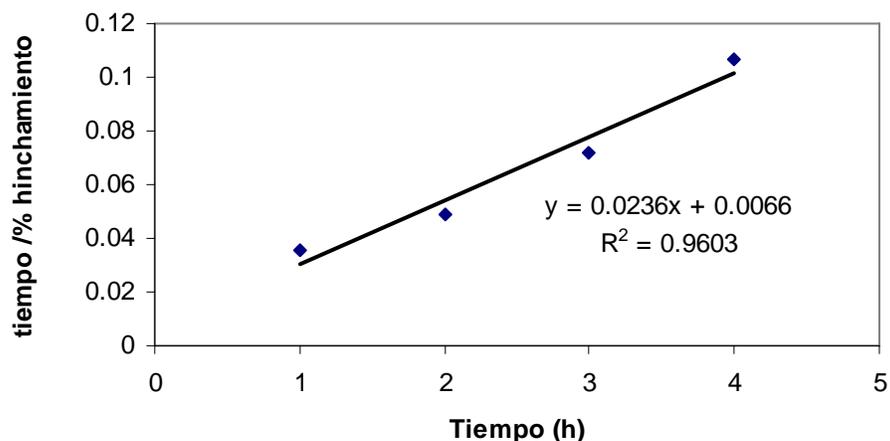
$$t/W = A + Bt$$

Los resultados se presentan en la Figura 7. El índice de correlación cercano a 1 nos indica que los resultados se ajustan al modelo. Como el valor de la pendiente es mayor que el de la intersección, el valor de la pendiente (B) es el inverso del valor de hinchamiento en el equilibrio (Escobar y col., 2003):

$$B = 1/W_{\infty}$$

Por lo tanto el equilibrio de hinchamiento es igual al $1/B = 1/0.0236 = 42.4\%$ para la película de peso molecular bajo.

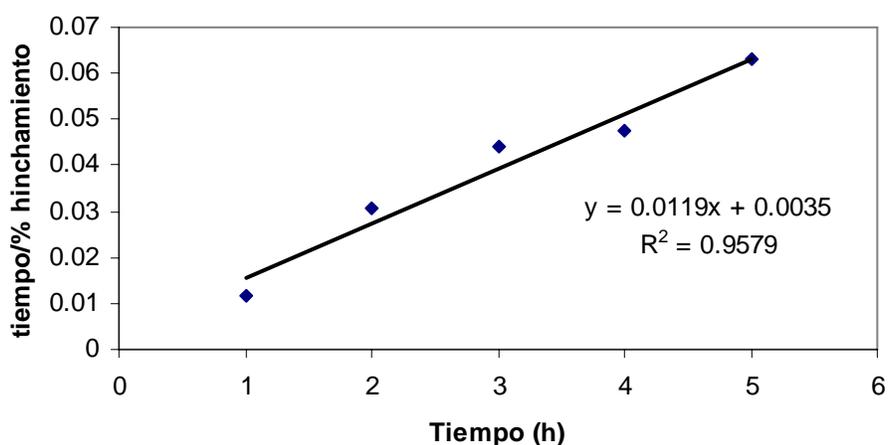
Figura 7. Linealización de la curva de hinchamiento para la película de quitosán (Peso Molecular 57500 g/mol.)



En la película de quitosán –peso molecular alto- observamos la misma tendencia de hinchamiento en los hidrogeles: un aumento inicial hasta llegar al estado estacionario. En la Figura 6 podemos apreciar que al realizar la primera medición de hinchamiento de la película, ya se había alcanzado el equilibrio.

Los cinco datos experimentales se ajustaron al modelo de Schott (García y col. , 2003). Los resultados se presentan en la Figura 8.

Figura 8. Linealización de la Curva de Hinchamiento de la Película de Quitosán (Peso Molecular 232620 g/mol).



También se obtuvo un alto índice de correlación para la película de alto peso molecular, lo que quiere decir que también se ajusta al modelo de Schott (Escobar y col.,

2003). Como el valor de la pendiente es mayor al de la intersección, el valor del hinchamiento en el equilibrio es igual al inverso de la pendiente (García y col., 2003). Por lo tanto, el equilibrio de hinchamiento es igual a $1/B = 1/0.0119 = 84\%$.

La cinética de hinchamiento de las películas de quitosán, puede explicarse si estudiamos la teoría de hinchamiento desarrollada en el CAPÍTULO II. La energía libre de mezclado causará que el disolvente penetre y trate de diluir al polímero (Domenek y col., 2004). El cambio de entropía causado por el mezclado es positivo y favorece el hinchamiento (Yong Lee y col., 1999). En esta fase inicial, el hinchamiento aumenta. El cambio de entropía causado por la reducción en el número de conformaciones posibles cuando la red del polímero se hincha, es negativo e impide el hinchamiento (Yong Lee y col., 1999). Como las cadenas entrecruzadas empiezan a extenderse bajo la acción del solvente, éstas generan una fuerza retráctil elástica en oposición a esta deformación. El entrecruzamiento del polímero actúa como un anclaje que previene el movimiento excesivo de las cadenas necesario para disolver el polímero. El hinchamiento alcanza su equilibrio cuando ambas fuerzas se balancean unas con otras (Domenek y col., 2004). Este mecanismo se presenta en la segunda fase, cuando se ha alcanzado el estado estacionario.

En cuanto a los porcentajes de hinchamiento en el equilibrio, el valor calculado para la película de quitosán –peso molecular alto- fue mayor (84%) que el de la película de peso molecular bajo (42.4%). Este comportamiento puede explicarse si recordamos que el peso molecular afecta el parámetro de solubilidad (Berger y col., 2005) y que el hinchamiento máximo de un polímero en un solvente en particular ocurre cuando el parámetro de solubilidad del solvente es igual al del polímero (Joseph y col, 2004). Un hidrogel está conformado por cadenas hidrofílicas que forman fuertes enlaces de hidrógeno con agua. Al aumentar el tamaño de la cadena (peso molecular) se pueden formar más enlaces de hidrógeno con el agua y por consiguiente hincharse más. Otra explicación a este comportamiento puede ser que el quitosán de peso molecular bajo forma películas con un mayor grado de entrecruzamiento. El entrecruzamiento actúa como un anclaje que previene el movimiento excesivo de las cadenas del polímero necesario para el hinchamiento de la película. Podría decirse que las películas de quitosán de peso molecular bajo tienen mayor grado de entrecruzamiento y por lo tanto, menor hinchamiento.

EXPERIMENTO 2: Determinación de la influencia del peso molecular, la formulación de la película y el solvente, en el grado de hinchamiento de las películas de quitosán.

Al realizar el análisis de varianza de los resultados obtenidos en el Experimento 2 (Tabla 5), se encontró que el peso molecular y la interacción peso molecular-formulación, fueron significativos ($p < 0.05$). Dichos efectos se muestran en la Figura 9.

Tabla 6. Análisis de Varianza (Todos los efectos)

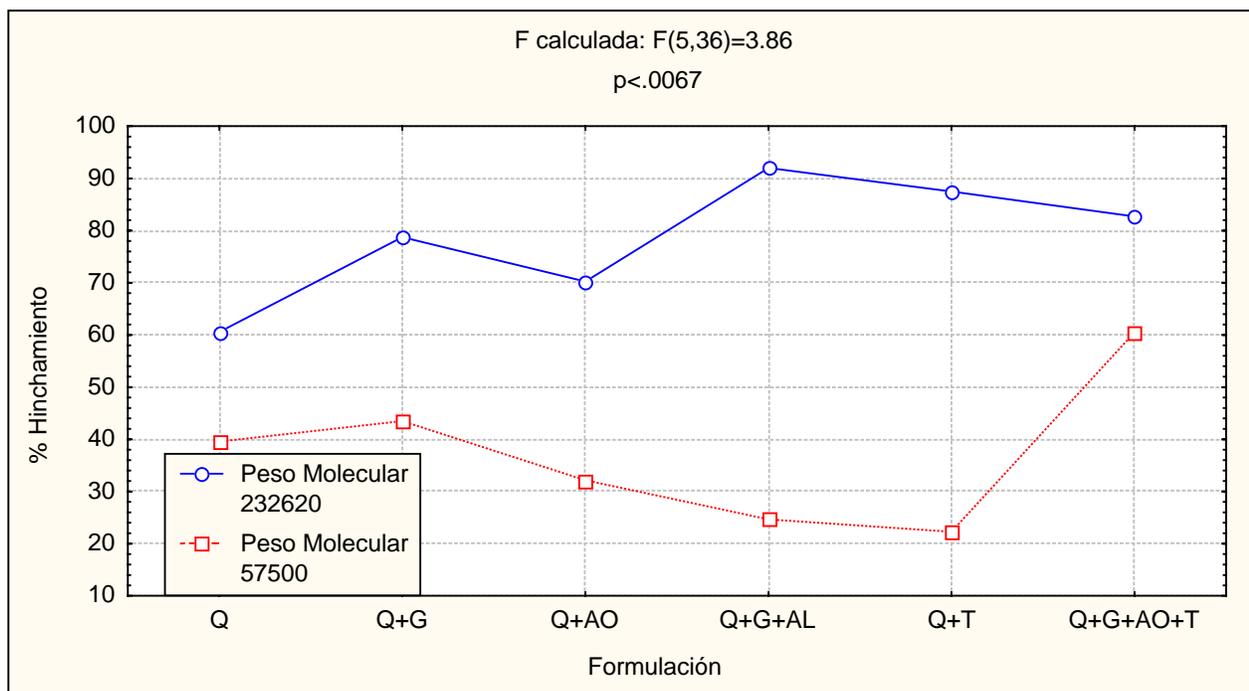
	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Grados de Libertad	Cuadrado Medio		
	Efecto	Efecto	Error	Error	F	P
Peso Molecular*	1	31021.2539	36	322.560699	96.171	1.043E-11
Solvente	2	444.470428	36	322.560699	1.3779	0.2650737
Formulación	5	753.524231	36	322.560699	2.3360	0.0617468
Peso Molecular-Solvente	2	98.6834717	36	322.560699	0.3059	0.7383282
Peso Molecular-Formulación*	5	1245.45984	36	322.560699	3.8611	0.0066526
Solvente-Formulación	10	241.660919	36	322.560699	0.7491	0.6745030
Peso Molecular-Solvente-Formulación	10	398.315308	36	322.560699	1.2348	0.3029637

* Efectos significativos: $p < 0.05$

El solvente no resultó significativo en el grado de hinchamiento, es decir, que no hay una diferencia al sumergir las películas en agua destilada, buffer de fosfatos, o solución fisiológica. La similitud en el grado de hinchamiento de las películas al sumergirlas en estos tres solventes, puede explicarse tomando en cuenta que los tres tienen el mismo pH (7); y que los hidrogeles son sistemas que incrementan su volumen hasta alcanzar el equilibrio fisicoquímico, en respuesta a diferentes tipos de estímulos como el pH. Otra explicación puede ser que el agua destilada, la solución fisiológica, y la solución amortiguadora de fosfatos (pH 7) tienen parámetros de solubilidad similares; lo que produce un hinchamiento similar de las películas. Como fue explicado en el CAPÍTULO II, el hinchamiento máximo de un polímero en un solvente particular ocurre cuando el parámetro de solubilidad del solvente es igual al del polímero (Joseph y col., 2005). Este resultado es interesante desde el punto de vista tecnológico, ya que podemos almacenar las películas en cualquiera de estos tres medios, sin que se disuelvan, pues el hinchamiento llegará al equilibrio; por otro lado, pueden aplicarse en diferentes superficies donde existan

estos líquidos sin que se vea afectado el hinchamiento; por ejemplo en frutos y tejidos vivos.

Figura 9. Efecto de la interacción del peso molecular y la formulación en el grado de hinchamiento. Gráfica de promedios de 2 repeticiones.



Q, quitosán; G, glicerol, AO, ácido oleico; AL, ácido linoléico; T, tween 60.

Otro resultado interesante fue la marcada diferencia entre el grado de hinchamiento de películas de quitosán con peso molecular alto y películas de quitosán con peso molecular bajo (Figura 9). Cabe señalar que la única diferencia entre los dos polímeros utilizados en la preparación de las películas, es el peso molecular. En general, se observa un mayor hinchamiento para las películas elaboradas con un quitosán de peso molecular mayor; estos resultados son congruentes con los obtenidos en el Experimento 1.

Se sabe que el hinchamiento causa un cambio en la microestructura de la película, abriendo la estructura del polímero e incrementando la permeabilidad al vapor de agua; por lo tanto, el aplicar una película de peso molecular alto en un alimento, podría causar problemas de transferencia de vapor de agua, lo cual no es deseable en productos con un alto contenido de humedad.

En los resultados del análisis de varianza la formulación no tiene un efecto significativo en el hinchamiento ($p = 0.06$), aunque el valor de p no es mucho mayor a 0.05;

probablemente se obtuvieron tales resultados porque sólo se realizaron dos repeticiones. Por otro lado, los resultados del análisis demuestran que la interacción del peso molecular y el hinchamiento, sí afecta el hinchamiento.

Ninguna de las películas de quitosán de peso molecular alto presentó variación en el hinchamiento (Tabla 6). En cambio, hay una diferencia significativa entre dos películas de quitosán de peso molecular bajo (Tabla 7). Esto quiere decir que en las películas de quitosán de peso molecular 57500 influye la adición de ciertos componentes como tween, glicerol y ácido oleico.

Tabla 6. Comparación del % de hinchamiento en diferentes películas compuestas de quitosán (peso molecular alto)

PROMEDIOS					
Quitosán	Quitosán + Ácido Oleico	Quitosán + Glicerol	Quitosán + Glicerol + Ácido Oleico + Tween 60	Quitosán + Tween 60	Quitosán + Glicerol + Ácido Linoléico
60.55	70.22	78.75	82.70	87.50	92.00

Tabla 7. Comparación del % de hinchamiento en diferentes películas compuestas de quitosán (peso molecular bajo)

PROMEDIOS					
Quitosán + Tween 60	Quitosán + Glicerol + Ácido Linoléico	Quitosán + Ácido Oleico	Quitosán	Quitosán + Glicerol	Quitosán + Glicerol + Ácido Oleico + Tween 60
22.67*	24.65	32.15	39.57	43.50	60.50*

NOTA: El asterisco indica una diferencia significativa ($p < 0.05$)

En este caso, es posible que la película más compuesta tenga un parámetro de solubilidad más cercano al del agua que la película que sólo está compuesta con quitosán y tween 60. Esto es posible ya que el glicerol es un componente hidrofílico, y el ácido oleico es más soluble en presencia de sales.

Otra posible explicación a este fenómeno es que en la película más compuesta, el glicerol y el tween 60 combinados, actúan como plastificantes, incrementando la movilidad de la cadena y por lo tanto, la porción de moléculas polares como el agua. Tal comportamiento no ocurriría en la película de quitosán y tween 60, ya que la cantidad de plastificantes en la formulación es mucho menor.

Con los datos obtenidos, se pueden elegir las películas que se puedan ajustar más en la aplicación de alimentos con alto contenido de humedad. Recordemos que la absorción

de moléculas de agua y el hinchamiento, pueden aumentar la permeabilidad al vapor de agua, lo cual es indeseable en productos con alto contenido de humedad.

Las películas de peso molecular alto, aunque tienen una mejor apariencia y son menos quebradizas, no es recomendable aplicarlas en alimentos con alto contenido de humedad; por la razón de que absorben una mayor cantidad de agua, y aumentarían la permeabilidad al vapor de agua, afectando la eficiencia de barrera.

De las películas de quitosán bajo, la que presentó menor hinchamiento, fue la película de quitosán + tween 60; aunque se puede utilizar alguna otra película de peso molecular 57500, tomando en cuenta sus otras propiedades (propiedades de barrera, apariencia y propiedades mecánicas).

CAPÍTULO IV.

CONCLUSIONES

- Las seis películas compuestas de quitosán seleccionadas, pueden ser consideradas hidrogeles; debido a que absorbieron agua sin disolverse por un tiempo de 24h, en el cual se supone han alcanzado un estado de equilibrio. Cabe señalar que las películas tenían un pH de 5.5, en el cual se comportan de esta manera.
- Las películas de quitosán sumergidas en agua fueron aumentado su hinchamiento hasta alcanzar el equilibrio, aproximadamente después de dos horas; dicho comportamiento concuerda con la teoría de hinchamiento.
- En este trabajo observamos una tendencia de hinchamiento de cada una de las seis películas estudiadas. Sin embargo, se recomienda realizar un estudio fisicoquímico más completo del fenómeno, antes de aplicar cualquiera de las películas; para ello se sugiere aplicar la Calorimetría Diferencial de Barrido.
- Las películas se pueden almacenar en cualquiera de los solventes utilizados en este estudio -agua destilada, solución fisiológica, o solución buffer pH 7-, sin disolverse, pues se supone que alcanzarán el equilibrio de hinchamiento. Además, si las películas se aplican a una superficie donde exista cualquiera de estos líquidos, el hinchamiento no se verá afectado.
- En general, las películas de peso molecular alto, presentaron mayor hinchamiento que las películas de quitosán de peso molecular bajo; por lo tanto, no se recomienda el uso de las primeras en el cubrimiento de alimentos con alto contenido de humedad, ya que podrían aumentar de manera indeseable, la permeabilidad al vapor de la cubierta. Las películas de peso molecular bajo -57500 g/mol-, podrían utilizarse para cubrir alimentos de alto contenido de humedad; siempre y cuando se tomen en cuenta sus otras características, como propiedades de barrera, propiedades mecánicas y apariencia.
- Finalmente, se recomienda realizar un estudio completo de las propiedades de una película antes de ser aplicada.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Anónimo. Hydrogels: Specialty Plastics for Biomedical and Pharmaceutical Applications.
2. Barrientos Ramírez, S. (1999) Quitosán, Aplicaciones y Aspectos Económicos (Estudio Monográfico). TESIS. Químico. UNAM. FES-Cuautitlán. Estado de México.
3. Berger, J., Reist, M., Chenite, A., Felt-Baeyens, O., Mayer, J. M. & Gurny, R. (2005) Pseudo-Thermosetting Chitosan Hydrogels for Biomedical Application. *International Journal of Pharmaceutics*, **228**; 197-206.
4. Berger, J., Reist, M., Mayer, J. M., Felt, O. & Gurny, R. (2004) Structure and Interactions in Chitosan Hydrogels Formed by Complexation or Aggregation for Biomedical Applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **57**; 35-52.
5. Bosques, M. E., Vernon, C. J., Pérez, F. L., Guerrero, L. I. (2000) Películas y Cubiertas Comestibles para la Conservación en Fresco de Frutas y Hortalizas. *Industria Alimentaria*, **8**; 4-36.
6. Budi Santosa, F. X., Papua Wild, G. (1999) Tensile Properties and Water Absorption of Zein Sheets Plasticized with Oleic and Linoleic Acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **43** (47); 2070-2074.
7. Butler, B. L., Vergano, P. J., Testing, R. F., Bunn, J. M., Wiles, J. L. (1996) Mechanical and Barrier Properties of Edible Chitosan Films as Affected by Composition and Storage. *Journal of Food Science*, **61** (5): 953-955.
8. Carranco, M. E., Calvo, C., Arellano, L, Pérez-Gil, F., Ávila, E. y Fuente, B. (2003) Inclusión de la Harina de Cabezas de Camarón *Penaeus* sp. En Raciones para Gallinas Ponedoras. Efecto sobre la Concentración de Pigmento Rojo de Yema y Calidad de Huevo. *Interciencia*, **28**; 328-383.
9. Caykara, T. (2004) Effect of Maleic Acid Content on Network Structure and Swelling Properties of Poly(N-Isopropylacrylamide-Co-Maleic Acid) Polyelectrolyte Hydrogels. *Journal of Applied Polyme Science*, **92**; 763-769.
10. Cuq, B., Aymard, C., Cuq, J. L., Guilbert, S. (1995) Edible Packaging Films Based on Fish Myofibrillar Proteins : Formulation and Functional Properties. *Journal of Food Engineering*, **43**; 25-30.

11. Chang, Y. P., Gheah, P. B., Seow, C. C. (2000) Plasticizing-Antiplasticizing Effects of Water on Physical Properties of Tapioca Starch Films in the Glassy State. *Journal of Food Science*, **65** (3); 445-451.
12. Chen, H. (1995) Functional Properties and Applications of Edible Films Made of Milk Protein. *Journal Dairy Science*, **78**; 2563-2583.
13. Chick, J. & Hernández, R. J. (2002) Physical, Thermal, Barrier Characterization Casein-Wax-Based Edible Films. *Journal of Food Science*, **67** (3); 1073.
14. Domenek, S., Brendel, L., Morel, M. & Guilbert, S. (2004) Swelling Behavior and Structural Characteristics of Wheat Gluten Polypeptide Films. *Biomacromolecules*, **5**; 1002-1008.
15. Escobar, J. L., Agüero, L., Zaldivar, D., Rodríguez, E. y Ramírez, E. (2003) Estudios de Hinchamiento "In Vitro" y Evaluación Preliminar de la Biocompatibilidad de Hidrogeles de Poli(Archilamida-co-Ácido Metacrílico). *Revista Iberoamericana de Polímeros*, **3** (3); 1-25.
16. Fernández, M. E. (2005) Facultad de Ingeniería. Carpeta Informativa. Disponible en: <http://www.ingenieria.unam.mx/~fainge/carpeta131005.htm>
17. García, D. M., Escobar, J. L., Bocourt, M., Bada, N., Zaldivar, D. y Katime, I. (2003) Influencia del Agente Entrecruzante y la Composición en Hidrogeles de Poli(Ácido Itacónico-Co-Ácido Metacrílico). *Revista Iberoamericana de Polímeros*, **4** (1); 93-105.
18. García, M. A., Pinotti, A., Martino, M. N., Zaritzky, N. E. (2004) Characterization of Composite Hydrocolloid Films. *Carbohydrate Polymers*, **56**; 339-345.
19. García, N. (2002) Envases Biodegradables SoyEntrepreneur.com Disponible en: <http://www.soyentrepreneur.com/pagina.hts?N=13294&Ad=?>
20. Garnica Martínez, O. (2001) Permeabilidad al Vapor de Agua y Propiedades Mecánicas de Películas Modificadas de Quitosán. TESIS. Ingeniero en Alimentos. UNAM. FES-Cuautitlán.
21. Gontard, N., Guilbert, S., Cuq, J. (1993) Water and Glycerol as Plasticizers Affect Mechanical and Water Vapor Barrier Properties of an Edible Wheat Gluten Film. *Journal of Food Science*, **58** (1); 206-211.
22. González González, V. A., Guerrero Salazar, C. A., Ortiz Méndez, U. (2002) Estructura Química y Compatibilidad de Poliamidas con Quitina y Quitosán. *Ciencia UANL*, **V**; 1-6.

23. Guilbert, S., Gontard, N., & Gorris, L. G. M. (1996) Prolongation of the Shelf-Life of Perishable Food Products Using Biodegradable Films and Coatings. *Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technology*, **29**; 10-17.
24. Hirano, S. (1997) Applications of Chitin and Chitosan in the Ecological and Environmental Fields. En: Applications of Chitin and Chitosan, ed. Goosen, M. F. A. Technomic Publishing Co., Inc. USA p. 3-29.
25. Hu, K., Hu, J., Ho, K., & Yeung (2004) Screening of Fungi Chitosan Producers, and Copper Adsorption Capacity of Fungal Chitosan and Chitosanaceous Materials. *Carbohydrate Polymers*, **58**; 45-52.
26. Joseph, M., Mathew, T. S. D., Chen, Y., Kuriakose, S. (2004) Equilibrium Swelling and Solvation Studies on Cross linked Polyacrylamides. *Polymer International*, **53**; 794-801.
27. Krochta, J. M. (2002) Proteins as Raw Materials for Films and Coatings: Definitions, Current Status, and Opportunities. En: A. Protein-Based Films and Coatings, ed. Gennadios. CRC Press. USA.
28. Kaneko, Y., Sakai, K. & Okano, T. (1998) Temperature-Responsive Hydrogels as Intelligent Materials. En: Byorelated Polymers and Gels, ed. Okano, T., Academic Press. USA.
29. Krochta, J. J. & DeMulder-Jhonston, C. (1997) Edible Films Solve Problems. *Food Technology*, **51** (2); 60-74.
30. Li, Q., Dunn, T. G., Grandmaison, E. W., and Goosen, M. F. A. (1997) Applications and Properties of Chitosan. En: Applications of Chitin and Chitosan, ed. Goosen, M. F. A. Technomic Publishing, Co., Inc., USA, p. 3-29.
31. Melekaslan, D., Kasapoglu, F., Ito, K., Yagci, Y. & Okay, O. (2004) Swelling and Elasticity of Hydrogels Based on Poly (Ethylen Oxide) Macroinimer. *Polymer International*, **54**; 237-242.
32. Meron-Biopolymers. Consultada el 17 de Abril de 2006. Disponible en: <http://www.meronbiopolymers.com/html/mbi>
33. Ogawa, K., Oka, K. (1984) X-Ray Diffraction Study on Chitosan-Metal Complexes. En: Chitin, Chitosan, and Related Enzymes, ed. Zikakis, J. P., ACADEMIC PRESS, Inc., USA, p. 77-95.
34. Ozdemir, M., Floros, J. D. (2003) Film Composition Effects on Diffusion of Potassium Sorbate Through Whey Protein Films. *Journal of Food Science*, **68** (2); 511.

35. Parada, L. G., Crespín, G. D., Miranda, R., Katime, I. (2004) Caracterización de Quitosano por Viscosimetría Capilar y Valoración Potenciométrica. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, **5** (1).
36. Petersen, K., Nielsen, P. V., Bertelsen, G., Lawther, M., Olsen, M. B., Nillson, N. H. & Mortensen, G. (1999) Potential of Biobased Materials for Food Packaging. *Trends in Food Science & Technology*, **10**; 52-68.
37. Pinzón, N., Espinosa, A., Perilla, J., Hernáez, E., Katime, I. (2002) Modelamiento del Hinchamiento y Difusión de Solutos en Hidrogeles. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, **3** (2); 1-17.
38. Quezada Gallo, J. A., Debeaufort, F., Callegarin, F. & Voilley, A. (2000) Lipid Hydrophobicity, Physical State and Distribution Effects on the Properties of Emulsion-Based Edible Films. *Journal of Membrane Science*, **180**; 37-46.
39. Rivera Muñoz, G. (2004) Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Yucatán (CONCYTEY) Disponible en: www.cienciaytecnologia.yucatan.gob.mx/noticias/verarticulo.php?IdArticulo=37.
40. Rodríguez, M. S., Albertengo, L. A., Vitale, I., & Agulló, E. (2003). Relationship between Astringency Chitosan-Saliva Solutions Turbidity at Different pH. *Journal of Food Science*, **68** (2); 665-667.
41. Rojas, Y. Investigación y Desarrollo. Fecha de consulta: 18 de Abril de 2006. Disponible en: <http://www.invides.com.mx/forma01.cfm?id=872&publicant=May%2022005>.
42. Şen, M. & Güven, O. (2000) Prediction of the Swelling Behavior of Amphiphilic Hydrogels and the Determination of Average Molecular Weight Between Cross-Links. *Computational and Theoretical Polymer Science*, **11**; 475-482.
43. Sperling (1995) Disponible en: <http://web.umn.edu/~jstoffer/Solution/floreh.html>
44. Tharanathan, R.N. (2003) Biodegradable Films and Composite Coatings: Past, Present and Future. *Trends in Food Science & Technology*, **14**; 71-78.
45. Vachón, C., D'Aprano, G., Lacroix, M., & Letendre, M. (2003) Effect of Edible Coating Process & Irradiation Treatment Strawberry *Fragaria spp.* on Storage-Keeping Quality. *Journal of Food Science*, **68** (2); 608.
46. Yong Lee, K., Bouhadir, K. H., & Mooney, D. J. (1999) Degradation Behavior of Covalently Cross-Linked Poly(Aldehyde Guluronate) Hydrogels. *Macromolecules*, **33** (1); 97-101.