

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades



Elaboración de bioplástico a base de quitosano extraído del exoesqueleto de camarón *Litopenaeus vannamei*.

Trabajo de graduación en modalidad de tesis presentado por
Kristhal Janice Guerra Esquivel
para optar por el grado académico de Licenciada en Química

Guatemala
2022

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades



Elaboración de bioplástico a base de quitosano extraído del exoesqueleto de camarón *Litopenaeus vannamei*.

Trabajo de graduación en modalidad de tesis presentado por
Kristhal Janice Guerra Esquivel
para optar por el grado académico de Licenciada en Química

Guatemala
2022

Hoja de aprobación

Vo. Bo.

(f) 
M.A. Irma Patricia Orellana Catalán

Tribunal Examinador:

(f) 
M.A. Irma Patricia Orellana Catalán

(f) 
Lic. Angel Ramirez

(f) 
Lic. Saúl Loaiza

Fecha de aprobación: Guatemala, 06 de diciembre de 2022

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por haberme guiado a lo largo de mi vida, por ser mi apoyo y mi luz.

A la Universidad del Valle por permitirme convertirme en una profesional en lo que tanto me apasiona.

A Acuamaya, específicamente a Gabriel Biguria, por creer en mí y en la ciencia.

A Irma Orellana, por su pasión por la química y la docencia. Por su apoyo, asesoría, su paciencia y sus consejos.

A Alejandra Zamora y Julio Matute por su ayuda continua durante el proyecto.

A Global Quality, por su colaboración y disposición en brindar ayuda para las pruebas de permeabilidad.

A Ximena Contreras por su amistad, honestidad y entrega durante todos los años de carrera.

A mi familia por ser mi motor y motivación. Por estar a mi lado en los días y noches más difíciles durante mis horas de estudio.

A Diego Lafuente por tu apoyo incondicional y amor.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	v
LISTADO DE FIGURAS	viii
LISTADO DE CUADROS	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	2
III. JUSTIFICACIÓN	3
IV. HIPÓTESIS	4
V. MARCO TEÓRICO	5
5.1 Biopolímero	5
5.1.1 Definición	5
5.1.3 Antecedentes	5
5.2 Quitina	5
5.2.1 Estructura química	6
5.2.2 Crustáceos como fuente de quitina	6
5.2.3 Extracción de quitina	6
5.2.3.1 Desmineralización	6
5.2.3.2 Desproteínización	7
5.2.3.3 Decoloración	7
5.3 Quitosano	7
5.3.1 Definición	7
5.3.2 Estructura química	7
5.3.3 Desacetilación	7
5.3.4 Propiedades fisicoquímicas y biológicas	8
5.3.5 Ventajas y desventajas	8
5.3.6 Producción	8
5.3.7 Aplicaciones	8
5.3.8 Proceso de plastificación	9
5.4 Empaques	10
5.4.1 Definición y función	10
5.4.2 Clasificación	10
5.4.3 Empaque activo	10
5.4.3.1 Propiedades de empaques plásticos activos	11
5.4.3.1.1 Grosor	11
5.4.3.1.2 Densidad	11
5.4.3.1.3 Contenido de humedad	11

5.2.3.1.4 Permeabilidad	11
5.2.3.1.5 Actividad antimicrobiana	11
VI. METODOLOGÍA	12
6.1 Caracterización del quitosano extraído	12
6.2 Elaboración de bioplástico	12
6.3 Prueba antibacteriana	13
6.4 Pruebas de propiedades físicas: Grosor, Densidad y Contenido de Humedad	13
6.5 Prueba de permeabilidad	14
6.6 Análisis estadístico	14
VII. RESULTADOS	15
VIII. DISCUSIÓN	18
IX. CONCLUSIONES	22
X. RECOMENDACIONES	23
XI. BIBLIOGRAFÍA	24
XII. ANEXOS	28

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1: Estructura química de la quitina	4
Figura 2: Estructura química quitosano	5
Figura 3: Reacción de activación de quitosano con ácido	7
Figura 4: Reacción del quitosano con el glicerol como plastificante	8
Figura 5: Resultados distintas formulaciones de bioplásticos realizadas	14
Figura 6: Resultados de las pruebas antibacterianas para <i>K. pneumoniae</i>	14
Figura 7: Resultados descartados pruebas antibacterianas para <i>S. aureus</i>	15
Figura 8: Espectro FTIR realizado a bioplástico AA 14 con los principales picos identificados con su respectivo grupo funcional identificado	15

LISTADO DE CUADROS

Cuadro No. 1: Ejemplos de funciones de empaques activos y sus propiedades	8
Cuadro No. 2: Matriz de pruebas bioplástico utilizando ácido acético como agente de unión y glicerol como plastificante	9
Cuadro No. 3: Matriz de pruebas bioplástico utilizando ácido cítrico como agente de unión y glicerol como plastificante	10
Cuadro No. 4: Resultados de pruebas físicas de grosor, densidad y contenido de humedad de todas las formulaciones de bioplástico expuestas en el Cuadro No. 2 y 3.	13
Cuadro No. 5: Resultados zona de inhibición promedio para las bacterias <i>K. pneumoniae</i> y <i>S. aureus</i> utilizando el bioplástico nombrado como AA 13 y su comparación con el plástico convencional LDPE	14
Cuadro No. 6: Resultados transmisión y permeabilidad de vapor de agua utilizando el bioplástico nombrado como AA 14 y su comparación con el plástico convencional LDPE	15

RESUMEN

El objetivo principal del presente trabajo de investigación era optimizar la reacción de plastificación para elaborar un bioplástico funcional a partir del quitosano extraído del exoesqueleto de camarón por medio de microondas, estableciendo el tiempo de reacción, proporción de reactivos y proceso de secado óptimo para obtener un bioplástico con una consistencia ideal. Para posteriormente, evaluar la permeabilidad de vapor de agua, actividad antimicrobiana y propiedades físicas del bioplástico fabricado. Para esto, se definió el tiempo de reacción mediante una prueba utilizando la proporción de reactivos comúnmente utilizada en la literatura, dejándolo reaccionar durante 7 horas y tomando una muestra después de cada hora. Luego, se procedió a realizar las pruebas utilizando distintas proporciones de quitosano, ácido acético y glicerol, siguiendo una matriz. Por último se realizaron las pruebas de proceso de secado, probando con distintas temperaturas en el horno (50°C , 60°C y 80°C) y recipientes de acero inoxidable, vidrio y plástico. Se seleccionó el plástico con mejor consistencia y mayor facilidad de despegar del envase, a este se le realizaron pruebas de permeabilidad utilizando el método de copa seca en una cámara de humedad a 40°C y 75% HR. También se realizó una prueba antibacteriana Kirby- Bauer para medir la zona de inhibición de *K. pneumoniae* y *S. aureus*. Las pruebas anteriores se realizaron igualmente a el plástico convencional LDPE utilizado por la empresa acuamaya en sus empaques. Se logró optimizar la reacción de plastificación, elaborando un bioplástico a partir de quitosano con grosor de 0.1 ± 0.05 cm, una densidad de 0.181g/cm^3 , y un contenido de humedad de 7.12%.. En las pruebas antibacterianas, se obtuvo una zona de inhibición promedio de 7.92 ± 0.05 mm con una desviación estándar de 0.63 mm. La principal fuente de error para esta prueba fue la esterilización con horno UV ya que el mismo puede causar cambios en la superficie de la película. Para futuras referencias, se recomienda evaluar la calidad del quitosano previo a realizar la fabricación del bioplástico así como procurar lavarlo de forma minuciosa luego de cada paso de su extracción.

ABSTRACT

The main objective of this research work was to optimize the plasticization reaction to elaborate a functional bioplastic from the chitosan extracted from the shrimp exoskeleton using microwaves, to use the reaction time, proportion of reagents and optimal drying process to obtain a bioplastic with an ideal consistency. To subsequently evaluate the water vapor permeability, antimicrobial activity and physical properties of the manufactured bioplastic. For this, the reaction time was defined by a test using the proportion of reagents used in the literature, leaving it to react for 7 hours and taking a sample after every hour. Then, the tests were carried out using different proportions of chitosan, acetic acid and glycerol, following a matrix. Finally, the drying process tests were carried out, testing with different temperatures in the oven (50°C, 60°C and 80°C) and stainless steel, glass and plastic containers. The plastic with the best consistency and ease of detachment from the container was selected. Permeability tests were carried out using the dry cup method in a humidity chamber at 40°C and 75% RH. A Kirby-Bauer antibacterial test was also performed to measure the zone of inhibition of *K. pneumoniae* and *S. aureus*. The previous tests were also carried out on the conventional LDPE plastic used by the company Acuamaya in its packaging. The plasticization reaction was improved, producing a bioplastic from chitosan with a thickness of 0.1 ± 0.05 cm, a density of 0.181 g/cm^3 , and a moisture content of 7.12%. In the antibacterial tests, an average zone of inhibition of 7.92 ± 0.05 mm with a standard deviation of 0.63 mm was obtained. The main source of error for this test was UV oven sterilization as UV oven sterilization can cause changes to the film surface. For future references, it is recommended to evaluate the quality of the chitosan prior to manufacturing the bioplastic, as well as to wash it thoroughly after each step of its extraction.

I. INTRODUCCIÓN

La finalidad del presente trabajo es elaborar un bioplástico a partir del quitosano extraído del exoesqueleto del camarón *Litopenaeus vannamei*. Se pretende optimizar la plastificación del mismo, este proceso consta de tres variables principales: proporción de los reactivos, tiempo de reacción y proceso de secado.

El quitosano es un biopolímero que se encuentra en el exoesqueleto de distintos crustáceos y algunos insectos. La mayoría de las propiedades características del quitosano están relacionadas con su peso molecular y su alto contenido de residuos de glucosamina que contienen grupos amino primarios. La presencia de los grupos amino (NH₂) mejora la reactividad del polímero y ha facilitado la producción de sus derivados funcionales del quitosano mediante modificaciones químicas, reacciones de injerto e interacciones iónicas. Además, se ha observado que la naturaleza catiónica del quitosano facilita las interacciones electrostáticas con glicosaminoglicanos y proteoglicanos aniónicos.

Una de las aplicaciones más interesantes del quitosano es su capacidad de plastificar. Este bioplástico producido es completamente biodegradable y comestible. Normalmente, un empaque solamente era una barrera pasiva que evitaba daños a los productos, sin embargo la mejora continua en la tecnología provoca una tendencia en la industria del empaque, llamado el empaque activo. Este es un empaque que puede interactuar de forma positiva con su entorno o contenido. El bioplástico de quitosano tiene actividad antibacteriana que evita los daños a los contenidos.

El proceso de plastificación se da en dos pasos: reticulación o activación y plastificación. Las porciones de varias cadenas poliméricas, se mantienen unidas debido a la formación de enlaces covalentes. Durante este proceso se utiliza un agente de unión, el cual activa la amina secundaria y la convierte en amoniaco. Esto hace que las moléculas de quitosano se unan entre sí con la carga positiva del amoniaco y la negativa de los grupos alcohol. Como agentes de unión se utilizan normalmente ácidos débiles como el tánico, cítrico o acético; pero también se puede utilizar genipín o alginato. Un plastificante es un aditivo que se agrega a los polímeros para mejorar su flexibilidad o para ayudar a unir completamente las moléculas. Para esto se puede utilizar: alcoholes de azúcar (glicerol, sorbitol, xilitol, maltitol), triacetato de glicerilo, ácido láctico o plastificantes de éster entre otros.

Para lograr optimizar la reacción, como primer paso se definió el tiempo de reacción mediante una prueba utilizando la proporción de reactivos comúnmente utilizada en la literatura, dejándolo reaccionar durante 7 horas y tomando una muestra después de cada hora. Luego, se procedió a realizar las pruebas utilizando distintas proporciones de quitosano, ácido acético y glicerol. Por último se realizaron las pruebas de proceso de secado, probando con distintas temperaturas en el horno y recipientes de acero inoxidable, vidrio y plástico.

Se seleccionó el plástico con mejor consistencia y mayor facilidad de despegar del envase, a este se le realizaron pruebas de permeabilidad utilizando el método de copa seca en una cámara de humedad a 40°C y 75% HR. También se realizó una prueba antibacteriana Kirby-Bauer para medir la zona de inhibición de *K. pneumoniae* y *S. aureus*; el medio utilizado fue Mueller Hinton. Las pruebas anteriores se realizaron igualmente al plástico convencional LDPE utilizado por la empresa acuamaya en sus empaques.

Se logró optimizar la reacción de plastificación, elaborando un bioplástico a partir de quitosano con un tiempo de reacción óptimo total de 5 horas, bajo un calentamiento constante de aproximadamente 60°C esto es lo ideal para asegurar que la reacción se dé por completo. La proporción de reactivos determinada para la textura ideal del plástico es de quitosano:ácido acético:glicerol de 1:25:0.4.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general:

Optimizar la reacción de plastificación para elaborar un bioplástico funcional a partir del quitosano extraído del exoesqueleto de camarón por medio de microondas.

2.2 Objetivos específicos:

- Establecer el tiempo de reacción, proporción de reactivos y proceso de secado óptimo para obtener un bioplástico con una consistencia ideal.
- Evaluar la permeabilidad de vapor de agua, actividad antimicrobiana y propiedades físicas del bioplástico fabricado.
- Evaluar el uso de almidón como aditivo para contribuir al proceso de plastificación.

III. JUSTIFICACIÓN

La empresa Acuamaya es una empresa guatemalteca que actualmente exporta la mayor parte de su producción de camarón a Asia y Norteamérica. Sin embargo su alcance ha crecido hacia Europa, debido a la exigencia de este mercado se deben enviar los camarones sin la cáscara y esto produce un nuevo desecho que no está siendo aprovechado. Anualmente se generan entre seis y ocho millones de toneladas de desechos de crustáceos en todo el mundo, y entre el 45 y el 60 % de las cáscaras de los camarones se descartan como subproductos del procesamiento (Nanyang Technological University, 2020). A pesar que existen formas de utilizarlas, en Guatemala actualmente no se aplica ninguna forma de aprovechamiento. Uno de los tratamientos más comunes es la extracción de quitina y posterior conversión a quitosano de las cáscaras. En la Universidad del Valle se está trabajando una vía de extracción sostenible utilizando ondas de microondas.

Al exportar los camarones, se utilizan cajas de cartón y dentro una lámina de plástico que rodea a los camarones congelados. El plástico se utiliza para evitar el daño a la caja debido a la humedad, para aumentar la vida útil de los camarones y asegurarse que lleguen en el mejor estado a su destino. El problema del desperdicio de plástico y la contaminación que conlleva es un tema conocido alrededor del mundo.

Tomando en cuenta lo anterior, este estudio propone utilizar el quitosano extraído para formular un bioplástico que en el futuro se pueda colocar dentro de la caja que se utiliza para exportar los camarones. Además, se desea aplicar el concepto de economía circular la cual según Cerdá, es un modelo de producción y consumo que implica compartir, alquilar, reutilizar, reparar, renovar y reciclar materiales y productos existentes todas las veces que sea posible para crear un valor añadido (Cerdá, 2016). Al tener el bioplástico se estaría eliminando la necesidad de adquirir plástico derivado del petróleo, disminuyendo los costos de la empresa y la contaminación que generan. Así como, aprovechando los desechos y generando alternativas innovadoras en el mercado guatemalteco.

IV. HIPÓTESIS

El bioplástico a base de quitosano con las mismas características de: permeabilidad, actividad antimicrobiana y propiedades físicas que el plástico convencional LDPE puede ser obtenido al optimizar la proporción de los reactivos, tiempo de reacción y proceso de secado.

V. MARCO TEÓRICO

5.1 Biopolímero

5.1.1 Definición

Un polímero se define como una sustancia química cuyas moléculas son grandes y consisten de varias unidades pequeñas unidas entre sí por enlaces covalentes. A las unidades que conforman los polímeros se les llaman monómeros. Un polímero puede estar sintetizado de un solo tipo de monómeros o de varios distintos. El término biopolímero se acredita a los polímeros encontrados en la naturaleza, los mismos son sintetizados por organismos vivos (MacGregor, 2003).

5.1.2 Sustentabilidad

El término sustentabilidad significa satisfacer las necesidades propias sin comprometer la capacidad de otros organismos para satisfacer las suyas (McGill, 2013). La integridad ecológica se mantiene cuando todos los sistemas ambientales de la tierra están en equilibrio, mientras que los humanos consumen los recursos naturales dentro de ellos a un ritmo en el que pueden reponerse.

La búsqueda global de esta sustentabilidad lleva a la necesidad de encontrar materiales biodegradables con un menor impacto ecológico. Una de las industrias con mayor consumo de plástico derivado del petróleo es la industria de los empaques. La contaminación del plástico se ha convertido en uno de los problemas ambientales más urgentes, ya que el rápido aumento de la producción de productos plásticos desechables supera la capacidad del mundo para lidiar con ellos.

Cada año, alrededor de 8 millones de toneladas de desechos plásticos se van a los océanos desde las naciones costeras. Esto afecta la vida marina desde los peces, hasta las aves. La mayoría de las muertes de animales son causadas por enredos o asfixia. Incluso, se han encontrado microplásticos en más de 100 especies acuáticas, incluidos peces, camarones y mejillones (Parker, 2019). A pesar de los conocidos problemas, los plásticos convencionales tienen un amplio uso debido a su versatilidad y facilidad de uso.

5.1.3 Antecedentes

Por definición, los biopolímeros son biodegradables, es decir son capaces de romperse o descomponerse por acciones de bacterias u otros organismos (Fredí, 2021). Actualmente existen dos problemas principales que limitan el uso de bioplásticos. El primero, son las propiedades mecánicas, de barrera y fisicoquímicas inferiores en comparación con los plásticos derivados del petróleo. El otro, es el costo de producción. Los bioplásticos son más caros de fabricar que los plásticos convencionales (Fredí, 2021). Por lo tanto, la investigación actual se ha centrado en superar estos desafíos para hacer que los bioplásticos biodegradables sean más atractivos como alternativa a los plásticos convencionales a base de petróleo.

Hoy en día, se utilizan plásticos biodegradables a base de plantas o materiales reciclados. Los bioplásticos nuevos y existentes con producciones superiores a una tonelada deben cumplir con las normas de registro de productos químicos. Tales regulaciones existen en todo el mundo para reducir la liberación no controlada de sustancias tóxicas (Filiciotto, 2020). Uno de los bioplásticos más comunes es el ácido poliláctico (PLA), sus propiedades físicas lo hacen adecuado para la fabricación de películas de plástico, botellas y dispositivos médicos biodegradables, incluidos tornillos, pasadores, placas y varillas que están diseñados para degradarse en un plazo de 6 a 12 meses. También, se puede utilizar como material de envoltura retráctil, ya que se contrae con el calor (Serna, 2003).

5.2 Quitina

La quitina es el segundo polisacárido natural más importante, siendo celulosa el primero. Es uno de los materiales orgánicos más abundantes en el planeta. Ocurre naturalmente en animales, especialmente crustáceos, moluscos e insectos donde es el principal componente de sus exoesqueletos. También se puede encontrar en algunos hongos donde es el polímero principal fibroso en las paredes celulares.

La palabra "quitina" deriva de la palabra francesa *quitine* y la palabra griega *quitón*, que significan "recubrimiento" (Muzzarelli, 2013). Funcionalmente, la quitina se parece más a la proteína queratina, que se utiliza como componente estructural en muchos organismos.

5.2.1 Estructura química

La estructura de la quitina fue descrita por Albert Hoffman en 1929. La quitina es

poly[β -(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-2-desoxi-D-glucopiranos] y su estructura se muestra en la Figura 1. Sus monómeros se mantienen unidos por medio de enlaces glucosídicos formados a partir de la pérdida de agua y enlaces de los grupos alcohol y carbonilo. Los enlaces de hidrógeno entre los monómeros reducen su libertad de rotación, haciéndola muy fuerte y poco soluble en agua (Muzzarelli, 2013).

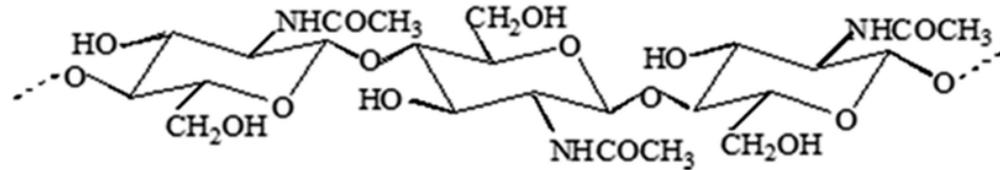


Figura 1: Estructura química de la quitina

5.2.2 Crustáceos como fuente de quitina

El exoesqueleto de un animal recubre, protege y soporta su cuerpo. Cumple las funciones de protección, respiración y mecánica proporcionando el soporte necesario para el funcionamiento de los músculos. El mismo, es secretado por la epidermis subyacente y está adherido a ella. Está constituido por tres capas: la epicutícula, la capa de cemento y la cutícula, siendo esta última compuesta principalmente por una matriz fibrosa de quitina (Gomez, 2018). Normalmente, se puede encontrar también carbonato de calcio en el exoesqueleto, el cual es utilizado para aportar dureza. Según reporta Tijani, el porcentaje de composición del exoesqueleto de los camarones es: 69.7% carbonato de calcio; 21.4% proteína y 8.9% quitina (Tijani, 2013).

Existe una amplia demanda de camarones en países alrededor del mundo, donde se utilizan en diversos platos y preparaciones culinarias. Durante 2012, en la Unión Europea se importaron más de 384,353 toneladas de camarones (MAGA, 2014). Durante ese mismo año, Guatemala registró exportaciones a la Unión Europea, por 1.755 Tm. y los principales países importadores fueron Francia, y España. Estos datos demuestran la importancia de la industria acuicultura en la economía del país.

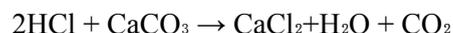
Al exportar a Europa, se tiene una mayor exigencia en los productos importados y se requiere que lleguen sin exoesqueleto o cabeza, generando un desecho aprovechable.

5.2.3 Extracción de quitina

El proceso de extracción estándar de la quitina consiste en tres etapas: desmineralización, desproteínización y decoloración. Previo a realizar los procesos químicos normalmente se trituran los exoesqueletos.

5.2.3.1 Desmineralización

El proceso de desmineralización básicamente se realiza para remover el carbonato de calcio presente en el exoesqueleto. Para esto se utiliza un ácido fuerte como HCl, HNO₃, H₂SO₄ o HCOOH. La desmineralización es realizada fácilmente ya que involucra la descomposición del carbonato de calcio en las sales de calcio solubles en agua, liberando dióxido de carbono, como se muestra en la siguiente ecuación:



La mayor parte de los minerales sigue una reacción similar dando sales solubles en presencia de un ácido. Luego estas sales se pueden separar fácilmente por filtración del resto de la materia prima. Los tratamientos de desmineralización varían según el grado de mineralización de cada capa, el tiempo de extracción, la temperatura, el tamaño de las partículas, la concentración de ácido y la relación soluto/disolvente. Este último depende de la concentración de ácido, ya que necesita dos moléculas de HCl para convertir una molécula de carbonato de calcio en cloruro de calcio. Para tener una reacción completa, la ingesta de ácido debe ser igual o mayor a la cantidad estequiométrica de minerales. El uso de una temperatura más alta acelera el tiempo de reacción ya que promueve la penetración del solvente a la matriz de quitina (Roberts, 1992).

5.2.3.2 Desproteínización

Como se mencionó anteriormente un gran porcentaje del exoesqueleto son proteínas, para

eliminar las mismas se utilizan bases fuertes principalmente NaOH. El paso de desproteinización es difícil debido a la ruptura de los enlaces químicos entre la quitina y las proteínas. Esto se realiza de forma heterogénea utilizando productos químicos que también despolimerizan el biopolímero. La eliminación completa de la proteína es especialmente importante para las aplicaciones biomédicas, ya que un porcentaje de la población humana es alérgica a los mariscos, siendo el principal culpable el componente proteico (Younes, 2015).

5.2.3.3 Decoloración

El último paso de la extracción de la quitina, es la decoloración. Luego de realizar el proceso de extracción se obtiene un polvo color coral. La decoloración se lleva a cabo para eliminar el pigmento natural existente en la quitina. Esto a menudo se logra mediante la adición de acetona al residuo de quitina en condiciones de reflujo durante un período de tiempo o utilizando hipoclorito de sodio (Younes, 2015).

5.3 Quitosano

5.3.1 Definición

El principal derivado de la quitina es el quitosano, producido por una desacetilación alcalina. El quitosano puede ocurrir de forma natural en algunos hongos, pero su ocurrencia es mucho menos común que la quitina.

5.3.2 Estructura química

El quitosano es poly[β -(1 \rightarrow 4)-2-amino-2-desoxi-D-glucopiranos] y su estructura química se muestra en la Figura 2. Al igual que la quitina, sus enlaces hacen al quitosano fuerte y poco soluble en agua y otros disolventes ordinarios. Sin embargo, el quitosano es soluble en soluciones acuosas ácidas.

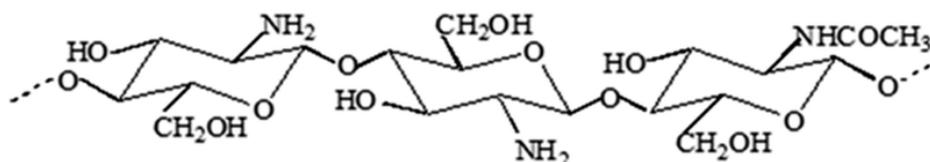


Figura 2: Estructura química quitosano

5.3.3 Desacetilación

La desacetilación consiste en remover un grupo acetilo CH_3CO . Se puede realizar de forma química o enzimática. Ciertas bacterias y hongos permiten la desacetilación enzimática de la quitina. Estas desacetilasas se han aislado de varios tipos de hongos: *Mucor rouxii*, *Aspergillus nidulans* y *Colletotrichum lindemuthianum*. Sin embargo, la actividad de estas desacetilasas está limitada por la insolubilidad del sustrato de quitina. Los métodos químicos son preferibles y se utilizan ampliamente para la síntesis comercial de quitosano debido a su bajo costo de producción y la capacidad de adaptarlo para la producción en masa. Se pueden usar ácidos o alcalinos para desacetilar la quitina; sin embargo, se ha reportado que el uso de ácido resulta en la destrucción de la cadena debido a la susceptibilidad de los enlaces glucosídicos al ácido, por lo tanto, el proceso de desacetilación alcalina a menudo es utilizado para obtener quitosano a partir de quitina (Thomas, 2020).

En general, los diferentes métodos de hidrólisis alcalina pueden clasificarse en dos categorías principales. Estos son: desacetilación heterogénea de quitina sólida y desacetilación homogénea de quitina pre hinchada bajo presión reducida en un medio acuoso. En ambos procesos, la reacción de desacetilación implica el uso de soluciones alcalinas concentradas y largos tiempos de procesamiento. Sin embargo, el método industrial preferido es la desacetilación heterogénea, que implica una reacción preferencial en las regiones amorfas del polímero dejando casi intactas las regiones cristalinas intratables en la quitina original. El grado de desacetilación (DD) en ambos procesos depende de la concentración del alcornoque, el tratamiento previo, el tamaño de las partículas y la densidad de la quitina (Thomas, 2020).

5.3.4 Propiedades fisicoquímicas y biológicas

Según Aranaz, 2021, la mayoría de las propiedades características del quitosano están relacionadas con su peso molecular promedio y su alto contenido de residuos de glucosamina que contienen grupos amino primarios. La presencia de los grupos amino (NH₂) mejora la reactividad del polímero y lo hace considerablemente más versátil que la celulosa. También ha facilitado la producción de sus derivados funcionales del quitosano mediante modificaciones químicas, reacciones de injerto e interacciones iónicas. Además, se ha observado que la naturaleza catiónica del quitosano facilita las interacciones electrostáticas con glicosaminoglicanos y proteoglicanos aniónicos.

La unión de metales por el quitosano tiene lugar en condiciones de pH ácido o casi neutro. Los grupos amino del quitosano y los grupos hidroxilo se protonan e interactúan con aniones metálicos por atracción electrostática.

Además de las diversas propiedades fisicoquímicas, se ha demostrado que el quitosano y sus derivados poseen diversas propiedades biológicas que están directamente relacionadas con sus propiedades fisicoquímicas. Los grupos amino e hidroxilo reactivos le añaden al quitosano importantes propiedades biológicas como: actividad antitumoral, antimicrobiana, antiinflamatoria, de regeneración ósea, hemostasia humana, antioxidante, hipocolesterolemia, antihipertensiva, probiótica y fijadora de iones. La mayoría de estas propiedades biológicas dependen del grado de acetilación, el peso molecular del quitosano, su polidispersidad, cristalinidad y la distribución de las unidades GlcNAc y GlcN a lo largo de la cadena polimérica (Kumari, 2017).

5.3.5 Ventajas y desventajas

El polímero de quitosano tiene la ventaja de no ser tóxico ni bioacumulable por lo que se puede utilizar en diversas aplicaciones. Además, es fácil de modificar químicamente y enlazar con otros productos. Algunas desventajas encontradas son: el quitosano por sí solo no tiene buenas propiedades mecánicas por lo que necesita un plastificante.

Las ventajas de la producción química de quitosano incluyen el corto tiempo de procesamiento y la aplicabilidad de esta metodología a escala industrial. Sin embargo, se encuentran algunas desventajas: este método es poco amigable con el medio ambiente, debido a la gran cantidad de desechos alcalinos y materia orgánica producidos (Ruiz, 2017).

5.3.6 Producción

Actualmente, el quitosano es producido solamente por la desacetilación de la quitina y es vendido comercialmente por empresas mundiales como Merck. No existe una ruta orgánica para obtener quitosano sintético debido a su complejidad y tamaño de molécula.

La región con la mayor producción de quitosano en el mundo es Asia Pacífico, en especial Vietnam. Asia tiene una gran producción de mariscos y moluscos, de los cuales aprovechan el exoesqueleto y obtienen quitosano para aplicaciones en su mayoría en cosméticos. De acuerdo con marketwatch, el mercado mundial de quitosano está valorado en 357,3 millones de dólares en 2020 y se espera que alcance los 455,8 millones de dólares a finales de 2026, creciendo a una CAGR del 3,5 % durante 2021-2026.

5.3.7 Aplicaciones

El quitosano se utiliza principalmente en la industria de cosméticos. Se puede aplicar en el cabello, la piel y dientes (Aranaz, 2018). El quitosano y sus derivados se han incluido en una variedad de productos para el cabello, como shampoos, enjuagues, permanentes, colorantes para el cabello, lociones para peinar, geles y tónicos debido a que tienen la capacidad de interactuar con la queratina formando películas transparentes y elásticas sobre las fibras capilares. Estas películas aumentan la suavidad, la fuerza y evitan el daño del cabello (Sionkowska, 2017). También, se aplica en los productos de la piel debido a sus propiedades humectantes, protectoras, antimicrobianas, antioxidantes y de limpieza. Los espectros UV del quitosano revelan una absorción por debajo de 400 nm y, por lo tanto, también puede usarse como protector solar (Gomaa, 2010). Por último, es importante mencionar su importante aplicación en productos de higiene bucal, debido a su baja toxicidad y propiedades antimicrobianas (Wieckiewicz, 2017).

El quitosano es un buen floculante para el tratamiento del agua debido a sus propiedades,

como una tasa de deposición más rápida y una mayor eficiencia de eliminación de materia orgánica, sólidos suspendidos e iones metálicos (Kangama, 2018). Se puede utilizar como filtro de agua de grifo o para tratamiento de aguas residuales.

De acuerdo con la empresa EZ-Gro, el quitosano mejora la capacidad de las plantas para sobrevivir en épocas de estrés por calor o frío y sequía. Puede dar a las plantas la capacidad de crecer con menos agua y puede acelerar el crecimiento y la germinación, y mejorar la calidad de las flores y frutos. Por lo que es una nueva tendencia en la industria de los fertilizantes.

Además, el quitosano y sus nanopartículas derivadas se pueden usar como materiales portadores para los sistemas de nano administración y tienen muchas aplicaciones biomédicas, como la administración de medicamentos, la administración de vacunas, el agente antibacteriano y la cicatrización de heridas (Zhao, 2018).

En la industria alimenticia, principalmente se utiliza como aditivo para extender la vida útil de los alimentos. Sin embargo, también está disponible como suplemento dietético, que pretende disminuir el peso corporal y los lípidos séricos a través de la unión de grasas gastrointestinales. Aunque ha sido evaluado en una serie de ensayos, su eficacia sigue siendo objeto de controversia (Mhurchu, 2004).

5.3.8 Proceso de plastificación

El proceso de plastificación se da en dos pasos: reticulación y plastificación. La formación de enlaces covalentes que mantienen unidas porciones de varias cadenas poliméricas se denomina reticulación. La reticulación se puede lograr químicamente o por irradiación. La reticulación química se logra mediante una reacción inducida por calor entre los polímeros y un agente de reticulación o unión, este último activa la amina secundaria y la convierte en amoniaco. Esto hace que las moléculas de quitosano se unan entre sí con la carga positiva del amoniaco y la negativa de los grupos alcohol. Como agentes de unión se utilizan normalmente ácidos débiles como el tánico, cítrico o acético; pero también se puede utilizar genipin o alginato. La reacción que se da durante la reticulación se puede observar en la Figura 3.

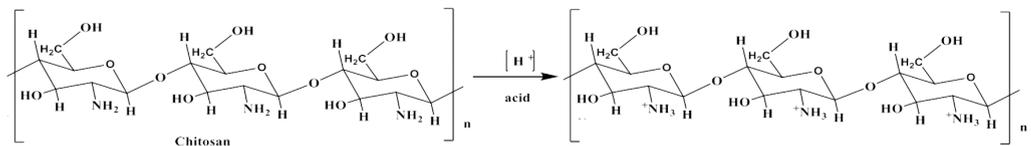


Figura 3: Reacción de activación de quitosano con ácido

No todos los materiales se pueden entrecruzar, pero para aquellos que pueden, los resultados son importantes. En general, se mejoran las características mecánicas, especialmente a temperaturas más altas. Da como resultado una mejor resistencia al agrietamiento por tensión y una mejor resistencia a los fluidos.

Los polímeros también se pueden reticular mediante irradiación de electrones. Durante el proceso de irradiación, los electrones de alta energía bombardean el sistema de aislamiento. La energía de la irradiación expulsa un átomo de hidrógeno que luego elimina un átomo de hidrógeno vecino, formando gas de hidrógeno molecular (H₂). Los sitios vacantes en la cadena de polímero adyacente luego se combinan para crear un enlace cruzado (Burkert, 2007).

Un plastificante es un aditivo que se agrega a los polímeros para mejorar su flexibilidad o para ayudar a unir completamente las moléculas. Para esto se puede utilizar: alcoholes de azúcar (glicerol, sorbitol, xilitol, maltitol), triacetato de glicerilo, ácido láctico o plastificantes de éster entre otros. La reacción de plastificación del quitosano con el glicerol se puede ver en la Figura 4. El quitosano actúa como una unión extra entre cada molécula de quitosano.

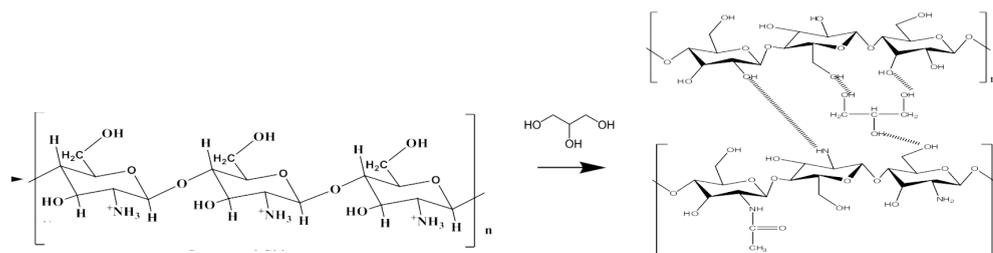


Figura 4: Reacción del quitosano con el glicerol como plastificante

5.4 Empaques

5.4.1 Definición y función

Un empaque es una barrera pasiva que retrasa el efecto adverso del ambiente sobre los productos. Se utiliza para contener, guardar, manipular y distribuir los productos y que los mismos conserven sus características ideales hasta llegar al consumidor. Normalmente están hechos de vidrio, aluminio, papel, cartón o plástico.

Los polímeros derivados del petróleo sobresalen como materiales empleados debido a su flexibilidad, transparencia, bajo peso y menor costo (Castillo, 2010).

5.4.2 Clasificación

El empaque se clasifica de acuerdo al nivel de protección que brinda al producto, y puede ser: primario, secundario o terciario.

El empaque primario es aquel que está en contacto directo con el producto y sirve para mantenerlo en condiciones óptimas. Este empaque se mantiene con el producto hasta su usuario final.

El empaque secundario es una agrupación de empaques primarios, añaden una protección mayor y facilitan la movilidad del producto a mayor escala. Normalmente este empaque se desecha al utilizar el producto.

Por último el empaque terciario es el agrupamiento de envases primarios o secundarios en un contenedor que los unifica y facilita la manipulación del producto a lo largo de la cadena comercial; es desechado en el momento de la comercialización (Saghir, 2004).

5.4.3 Empaque activo

Normalmente, un empaque solamente era una barrera pasiva que evitaba daños a los productos, sin embargo la mejora continua en la tecnología provoca una tendencia en la industria del empaque, llamado el empaque activo. Este es un empaque que puede interactuar de forma positiva con su entorno o contenido. El empaque activo cumple con funciones requeridas para aislar el producto e intenta minimizar el efecto del ambiente en su contenido (Dainelli, 2008). Los empaques activos se clasifican de acuerdo a la función que desempeñan, algunas de estas se pueden observar en el Cuadro 1.

Cuadro No. 1: Ejemplos de funciones de empaques activos y sus propiedades

Clasificación	Objetivo
Absorbentes/depuradoras	Eliminar sustancias no deseadas como oxígeno, dióxido de carbono, humedad, luz UV
Emisores	Aportar sustancias con propiedades antioxidantes, preservantes, etc. al producto
Aislantes	Controlar la temperatura con materiales aislantes, autocalentables y aeroenfriadores, sensibles a la temperatura
Tratamiento superficial	Control microbial y de calidad

5.4.3.1 Propiedades de empaques plásticos activos

5.4.3.1.1 Grosor

Generalmente, mientras un plástico sea más grueso, tiene una mayor fuerza. Su grosor se mide en "mil". Un mil es una medida que equivale a una milésima de pulgada o 0.001 pulgadas. El grosor ideal de los plásticos depende de los usos que se le va a dar. Por ejemplo el polietileno de Baja Densidad (LDPE), es flexible y se utiliza para fabricar productos como bolsas de la compra, bolsas de plástico, envases transparentes para alimentos, envases desechables, etc. Este se encuentra a menudo de 0.5 mil de espesor a aproximadamente 40 mil en formas de láminas flexibles (Abdel-Bary, 2003).

5.4.3.1.2 Densidad

La densidad de una muestra de plástico puede cambiar debido a cambios en la cristalinidad, pérdida de plastificantes, absorción de solvente, etc. Es importante señalar que la densidad varía con la temperatura (Fetters, 1994).

Un empaquetamiento más estrecho aumenta las fuerzas intermoleculares entre las cadenas, lo que da como resultado un material de mayor densidad que es notablemente más fuerte, más rígido y más resistente a la fluencia.

5.4.3.1.3 Contenido de humedad

El contenido de humedad es una magnitud que expresa la cantidad de agua en un material sólido. La presencia de humedad en polímeros da lugar a degradación, estos fenómenos de degradación se deben principalmente a la hidrólisis de las cadenas macromoleculares con una severa disminución del peso molecular. Además, la presencia de humedad modifica fuertemente las propiedades mecánicas del plástico (Titone, 2021).

5.2.3.1.4 Permeabilidad

La permeabilidad es la propiedad de un material para permitir que los fluidos (como el agua, el vapor de agua o el aceite) se difundan a través de él hacia otro medio sin verse afectados química o físicamente. La permeabilidad provoca el deterioro de la longevidad del material y la aceleración del proceso de corrosión (Hopfenberg, 1974).

Al ser un material de empaque, es ideal que no se tenga una gran permeabilidad para evitar los daños al contenido y la pérdida de calidad.

5.2.3.1.5 Actividad antimicrobiana

Como se mencionó anteriormente, un empaque activo interactúa con su contenido. Una de las propiedades más deseadas en la industria del empaque es la actividad antimicrobiana, ya que hasta el 40 % de los alimentos producidos en todo el mundo se desperdician debido al deterioro microbiano o la pérdida de calidad (Gustavsson, 2011). Esto no solamente sucede en alimentos, también en productos cosméticos y de uso personal, en especial al ser exportados o viajar largas distancias en ambientes no controlados.

VI. METODOLOGÍA

6.1 Caracterización del quitosano extraído

Con el fin de preparar una cantidad suficiente de quitosano para el moldeado de la película, se desproteinizaron, decoloraron y desmineralizaron 240 g de cáscaras de camarón, utilizando el método optimizado en el estudio paralelo de investigación de obtención de quitosano de la estudiante de la Licenciatura en Química en la Universidad del Valle; Ximena Contreras (ver ANEXO 1).

La muestra de quitosano se trituroó en un polvo fino en mortero cerámico y se analizó mediante titulación potenciométrica.

El grado de desacetilación (DDA) se calculó a partir de :

$$\% \text{NH}_2 = \frac{16.1 \times (\text{punto de inflexión mayor} - \text{punto de inflexión menor}) \times \text{Molaridad del NaOH}}{\text{Masa de quitosano}} \quad (\text{Ec. 1})$$

El porcentaje de grupos amino libres (%NH₂) es equivalente al grado de desacetilación

6.2 Elaboración de bioplástico

La elaboración del bioplástico se llevó a cabo siguiendo la metodología propuesta por Wang, 2014. Se utilizó para cada prueba 1 g de quitosano en un beaker de 50 mL. Se agregaron dos distintos ácidos a diferentes proporciones y se dejaron reaccionar en un calentamiento medio con agitación magnética durante tiempos determinados. Luego, se agregó una cantidad de glicerol como plastificante y se dejó calentar durante 3 horas. Por último se agregó un volumen de solución saturada de almidón utilizando como fuente maizena comercial. Las proporciones de reactivos fueron agregadas de acuerdo con la siguiente matriz, la cual se fue modificando de acuerdo a los resultados obtenidos:

Cuadro No. 2: Matriz de pruebas bioplástico utilizando ácido acético como agente de unión y glicerol como plastificante

Nombre prueba	Ácido acético 4% (mL)	Tiempo de reacción (hrs)	Glicerol (mL)	Solución saturada de almidón (mL)
AA 1	2	1	1	0
AA 2	2	1	2	0
AA 3	2	2	1	0
AA 4	2	2	2	0
AA 5	5	1	2	0
AA 6	5	2	2	0
AA 7	10	1	2	10
AA 8	10	1	2	0
AA 9	15	1	2	10
AA 10	15	1	2	5
AA 11	20	1	2	10

Nombre prueba	Ácido acético 4% (mL)	Tiempo de reacción (hrs)	Glicerol (mL)	Solución saturada de almidón (mL)
AA 12	20	1	2	5
AA 13	50	5	0.4	0
AA 14	25	5	0.4	0
AA 15	12	5	0.4	0
AA 16	12	5	0.4	5

Cuadro No. 3: Matriz de pruebas bioplástico utilizando ácido cítrico como agente de unión y glicerol como plastificante

Nombre prueba	Ácido cítrico 4% (mL)	Tiempo de reacción (hrs)	Glicerol (mL)	Solución saturada de almidón (mL)
AC 1	15	1	0	10
AC 2	15	1	2	10

El volumen total se vertió sobre un azafate de acero inoxidable y se secó a 60°C por aproximadamente 2 horas. Luego se realizaron pruebas de tratamiento durante 10 min a 80°C. Los plásticos se almacenaron en una desecadora hasta el momento de realizar las pruebas.

6.3 Prueba antibacteriana

Para realizar la prueba antibacteriana se seleccionó el bioplástico con mejores propiedades físicas así como consistencia y resistencia luego del secado y separación del azafate. Se realizó una prueba Kirby-Bauer para medir la zona de inhibición de *K. pneumoniae* y *S. aureus*. El medio utilizado fue Mueller Hinton, para inocular se tomó un hisopo estéril y se sumergió en el tubo de solución salina con las bacterias respectivas preparados anteriormente y se rayó la placa de manera homogénea. Se dejó reposar entre 3-5 minutos para que el medio absorbiera el inóculo. Se colocaron los discos del bioplástico, previamente esterilizados en el horno UV, en el medio inoculado con pinzas esterilizadas en triplicado. Como control positivo se utilizó optocina y tetraciclina. Además para comparación se utilizó el plástico convencional LDPE. Los medios se dejaron incubar durante 36 horas a 37°C. Pasado el tiempo de incubación, se midió con una regla el diámetro del halo de inhibición para cada disco.

6.4 Pruebas de propiedades físicas: grosor, densidad y contenido de humedad

Las propiedades físicas se midieron conforme al método propuesto por Wang, 2014 a todos los bioplásticos fabricados. El espesor del bioplástico se midió con un vernier Pretul, modelo VER-6P con un rango de 125 mm y una precisión de 0.1 mm. Se tomaron medidas en 4 posiciones diferentes y se informó el valor promedio.

Se cortó el plástico en un cuadrado con una longitud lateral media de 10.00 ± 0.05 mm. Se calculó la densidad en función del peso (M_1), la medición del espesor (d) y la longitud de los lados (a) con lo siguiente fórmula:

$$\delta = \frac{M_1}{da^2} \quad (\text{Ec. 3})$$

El cuadrado de bioplástico se dejó secar durante 4 h a 105 ± 3 °C y se calculó el contenido de humedad (MC) a partir del peso de los cuadrados de plástico con una longitud lateral promedio de 10 ± 0.05 mm (M1) en comparación con el peso después de secarse (M2):

$$MC = \frac{M1-M2}{M1} \times 100 \quad (\text{Ec. 4})$$

6.5 Prueba de permeabilidad

Para realizar las prueba de permeabilidad se seleccionó el bioplástico con mejores propiedades físicas así como consistencia y resistencia luego del secado y separación del azafate. El procedimiento de la prueba de permeabilidad utilizado es el propuesto por Delville, 2002. Se cortó el plástico en círculos y se midió el espesor en tres ubicaciones con un micrómetro. Se llenaron 3 botellas de vidrio con gel de sílice, hasta 1.5 a 2 cm por debajo de la abertura para proporcionar 0% de HR en el interior. Las botellas se sellaron con los círculos cortados de plásticos y se sellaron con parafina derretida de los lados. Tras la solidificación de la parafina, se inspeccionó la adherencia de las películas y se repararon todos los lugares de fijación incorrecta. Además, se preparó una muestra de control con plástico convencional.

Se registró el peso inicial de cada botella debidamente rotulada y se colocaron las botellas dentro de una cámara de 75 % de HR y se incubaron a 48°C durante 5 días. Cada 24 h, se registró el peso y se mezcló el gel de sílice suavemente sin alterar los plásticos. Para realizar los cálculos, se graficó la ganancia de peso frente al tiempo. Se usó la pendiente, que representa el aumento de peso por unidad de tiempo, para calcular TRVA (transmisión de vapor de agua) y PVA (Permeabilidad de vapor de agua):

$$TRVA = \frac{\text{Pendiente}}{A} \quad (\text{Ec. 5})$$

$$PVA = \frac{TRVA}{p \times (R_1 - R_2)} \quad (\text{Ec. 6})$$

Donde:

- A es el área del plástico en m²
- Pendiente para el aumento de peso por día en gramos
- p es la presión de vapor saturada a 48 °C
- R1 es la humedad relativa (HR) dentro de la cámara
- R2 es la humedad relativa (HR) dentro de las botellas de vidrio (0).

6.6 Análisis estadístico

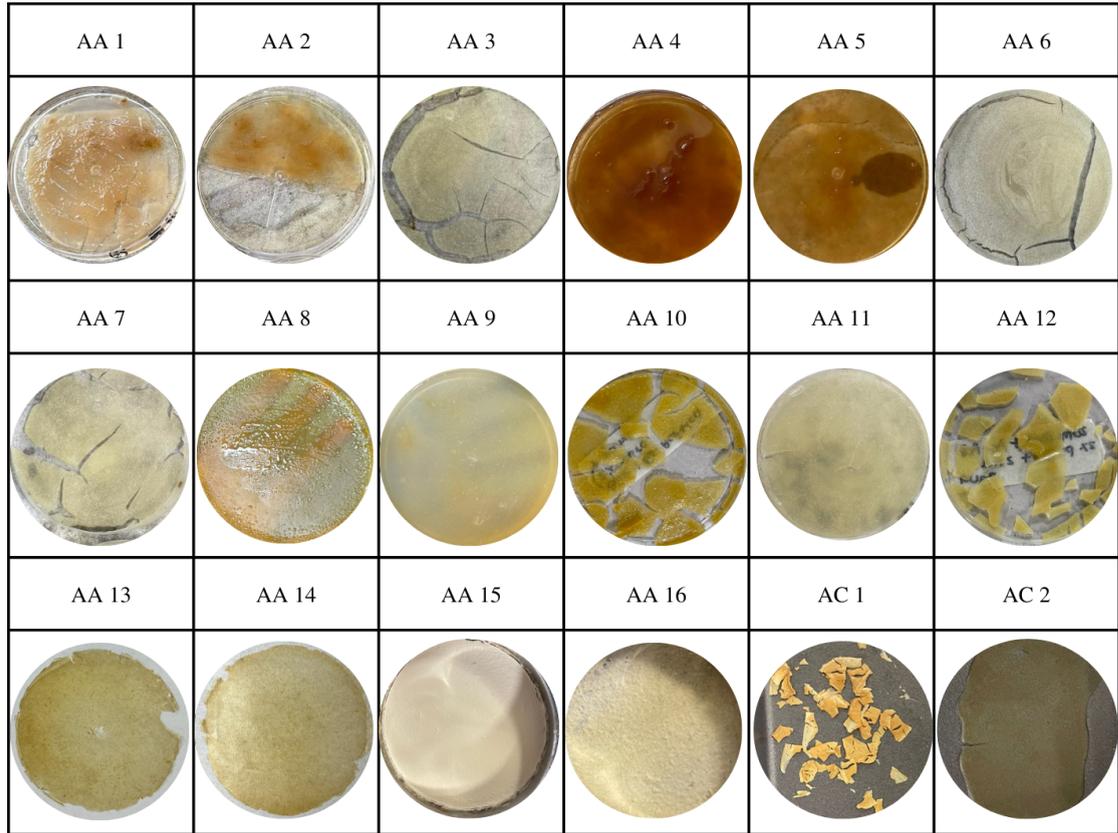
Todos los experimentos, excepto la caracterización de quitosano fueron realizados por duplicado. Los resultados informados son el promedio de todas las mediciones y su error es la desviación estándar.

VII. RESULTADOS

Cuadro No. 4: Resultados de pruebas físicas de grosor, densidad y contenido de humedad de todas las formulaciones de bioplástico expuestas en el Cuadro No. 2 y 3.

Prueba de bioplástico	Grosor ± 0.05 (cm)	Densidad (g/cm³)	Contenido de humedad (%)
AA 1		No se pudo determinar	
AA 2	0.10	0.810	40.74
AA 3	0.40	0.220	35.23
AA 4		No se pudo determinar	
AA 5		No se pudo determinar	
AA 6		No se pudo determinar	
AA 7	1.10	0.196	51.85
AA 8		No se pudo determinar	
AA 9	0.40	0.160	15.63
AA 10	0.20	0.100	25.00
AA 11	1.00	0.139	29.50
AA 12	0.60	0.190	15.79
AA 13	0.10	0.520	13.46
AA 14	0.10	0.181	7.12
AA 15	0.30	0.417	4.00
AA 16	0.30	0.573	6.98
AC 1		No se pudo determinar	
AC 2	0.10	0.060	

Figura 5: Resultados distintas formulaciones de bioplásticos realizadas



Cuadro No. 5: Resultados zona de inhibición promedio para las bacterias *K. pneumoniae* y *S. aureus* utilizando el bioplástico nombrado como AA 13 y su comparación con el plástico convencional LDPE

Zona de inhibición promedio ± 0.05 (mm)

Plástico utilizado	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. aureus</i>
Bioplástico AA 14	7.92	Descartado
Plástico convencional LDPE	0.0	Descartado

Figura 6: Resultados de las pruebas antibacterianas para *K. pneumoniae*

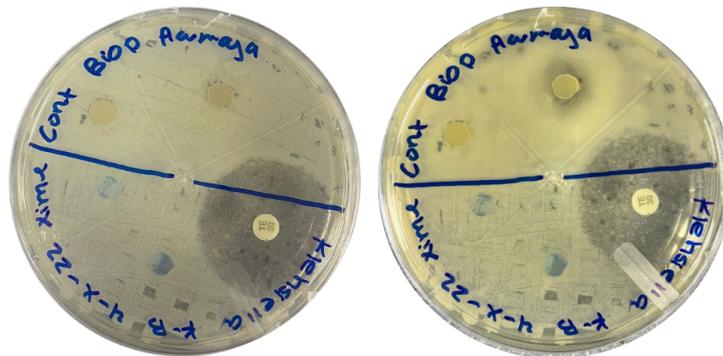
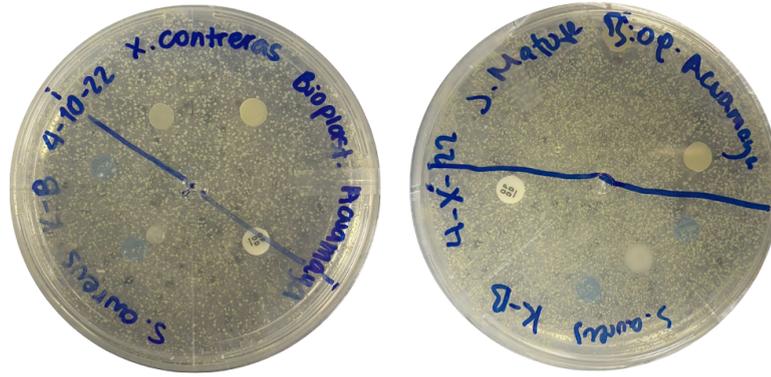


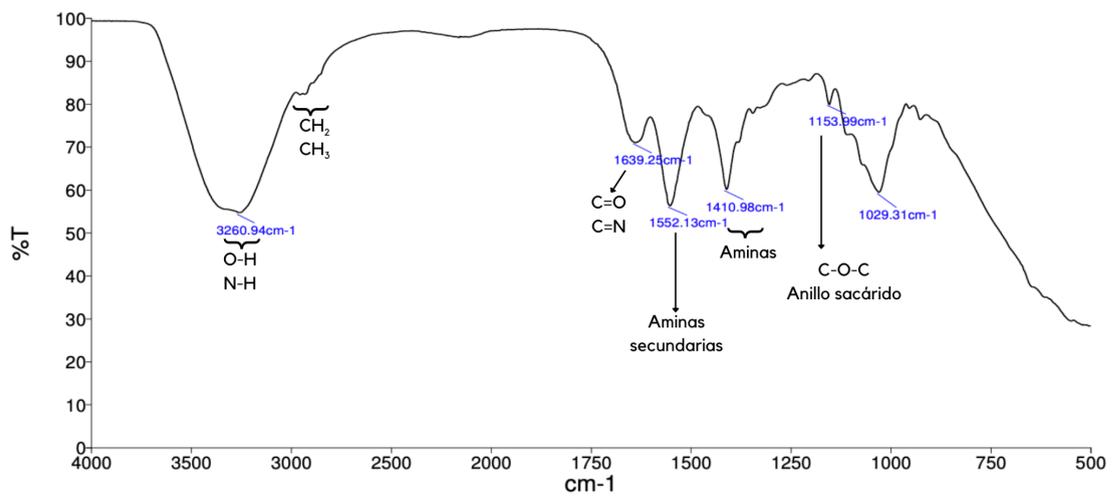
Figura 7: Resultados descartados pruebas antibacterianas para *S. aureus*



Cuadro No. 6: Resultados transmisión y permeabilidad de vapor de agua utilizando el bioplástico nombrado como AA 14 y su comparación con el plástico convencional LDPE

Plástico utilizado	TRVA (g/m ² ·día)	PVA (perm)
Bioplástico AA 14	169.66	0.27
Plástico convencional LDPE	61.87	0.10

Figura 8: Espectro FTIR realizado a bioplástico AA 14 con los principales picos identificados con su respectivo grupo funcional identificado



VIII. DISCUSIÓN

El exoesqueleto de los camarones es una fuente conocida de quitina, la cual por un proceso de desacetilación se convierte fácilmente en quitosano, un polímero versátil con una infinidad de aplicaciones. Esta aplicabilidad y sus deseadas propiedades provienen de los grupos amino que contiene en su molécula ya que estos pueden sufrir reacciones de adición, oxidación y sustitución para formar distintos compuestos útiles en la industria. Normalmente al exportar los camarones hacia Europa y el Reino Unido, se descarta por completo el exoesqueleto por temas de control de calidad. Esto genera un gran desecho orgánico que puede ser aprovechado.

Se propuso con esta investigación formular la elaboración de un bioplástico funcional a partir de quitosano extraído de manera sustentable utilizando microondas. Se identificaron las 3 principales variables que afectan el proceso de plastificación del mismo: proporción de los reactivos, tiempo de reacción y proceso de secado. El tiempo óptimo de reacción se logró identificar realizando pruebas iniciales utilizando 3 diferentes proporciones de ácido y glicerol. Se tomaron muestras de cada mezcla después de cierto tiempo y se secaron. Se encontró que el límite de tiempo de reacción bajo esas condiciones es de 6 horas ya que la muestra se quema y se vuelve de una textura sólida y gelatinosa. Como resultado se obtuvo un tiempo óptimo de 2 horas con el agente de unión (ácido acético) y 3 horas con el plastificante (glicerol). El procedimiento encontrado va de acuerdo con la teoría de plastificación ya que se debe activar toda la muestra de quitosano mediante el ácido, dando suficiente tiempo y energía en forma de calor para que las moléculas de quitosano empiecen a unirse entre sí, previo a agregar el plastificante que es un apoyo a la unión del polímero y a la mejoría de sus propiedades físicas (Godwin, 2000). A partir de estas pruebas además se determinó que la mejor forma de realizar el proceso es en un sistema de calentamiento medio, aproximadamente 60°C, en un beaker tapado con papel aluminio para mantener la humedad del sistema. Esto debido a que se debe asegurar que los solventes no se evaporen, en este caso el ácido acético tiene un punto de ebullición de 118°C por lo que la reacción siempre debe permanecer menor a esa temperatura. Además, al tener una baja temperatura se asegura que el quitosano mantenga sus propiedades y no se queme.

Con respecto a las pruebas de proporciones de los reactivos (Cuadro No. 4), a partir de estos resultados se confirmó que se debe agregar el agente de unión en exceso para lograr activar todo el quitosano agregado. Se deseó probar la compatibilidad del quitosano con otro ácido débil, el ácido cítrico. Se realizaron dos pruebas principales para determinar su compatibilidad (AC1 y AC2 Figura 5). La primera prueba se realizó según la metodología propuesta por Nataraj, 2018, sin utilizar glicerol. Como se puede observar en los resultados, el mismo se fracturó completamente al momento del secado y por lo tanto se descartó esta opción. A partir de estos resultados podemos indicar que el plastificante es una parte esencial de la formulación del bioplástico ya que fortalece la unión entre las moléculas de quitosano y mejora exponencialmente sus propiedades físicas. La segunda prueba se realizó utilizando la misma proporción que la prueba AA8 solamente intercambiando el ácido utilizado. Esta prueba obtuvo una buena textura pero no se logró secar completamente y presentaba una alta absorción de humedad después de almacenarse. A partir de estas pruebas se descartó la opción de utilizar ácido cítrico y se continuó utilizando ácido acético.

Se determinó que el plastificante, en este caso glicerol, se debe agregar en una proporción 1:2 con respecto al quitosano. Al agregarse el mismo en una mayor cantidad que el quitosano, no se logra dar la unión completa del quitosano y el glicerol no logra reaccionar completamente, este exceso se puede notar en la parte superior del bioplástico AA8 (Figura 5). Además, los bioplásticos formulados con una mayor cantidad de glicerol no se lograron secar por completo y por lo tanto, tampoco despegaron de la placa petri. Esta es la razón por la que no se logró determinar el grosor de las muestras AA 4,5,6 y 8.

Las pruebas AA 11, 12 y 13 obtuvieron buenos resultados de densidad y grosor, sin embargo al estar en almacenamiento presentaban sudoración. Esta sudoración se debe nuevamente al movimiento del glicerol en exceso, Este factor es importante en la decisión de escoger la formulación adecuada ya que en el momento de su futura aplicación no es conveniente. Además, se comprobó que los bioplásticos tienden a absorber la humedad del ambiente al dejarse al aire libre justo después del secado. De acuerdo con Ali, el quitosano es un polímero hidrofílicos que absorbe una cantidad considerable de agua a temperatura ambiente, esto ocurre a través de los grupos OH y NH₂ residuales que se encuentran en el bioplástico de quitosano, estos grupos interactúan con las moléculas de agua a través de enlaces de hidrógeno (Ali, 2017).

Según Hoagland, los plastificantes agregados al bioplástico de quitosano ayudan con sus propiedades mecánicas pero no a sus propiedades de permeabilidad y estas propiedades se pueden mejorar utilizando aditivos compatibles con el quitosano. El almidón se ha utilizado para fabricar películas biodegradables por su bajo costo y facilidad de obtención. Para comprobar su compatibilidad e interacción, se realizó un análisis FTIR (Figura 8) en el cual no se logró observar ningún cambio en los picos de su espectro. De acuerdo con Guan, 1998 cuando dos o más sustancias se mezclan, sus interacciones químicas son demostradas a partir de cambios en las características de los picos en el espectro. Tomando lo anterior en consideración, es posible afirmar que el quitosano y el almidón en este caso no estaban interactuando por lo que las propiedades del plástico no se podían acreditar al quitosano extraído del exoesqueleto del camarón y se descarta este posible aditivo para la formulación.

La cantidad de agua presente en las películas de bioplástico proporciona una indicación de la hidrofobicidad de las mismas, por lo tanto, las películas hidrofílicas tienen un mayor contenido de humedad (Bourbon, 2011). Para los resultados de contenido de humedad se puede notar una tendencia a que cuanto mayor sea la cantidad de glicerol presente en la formulación, mayor es su contenido de humedad. Esto respalda el porque las primeras pruebas presentaban una alta absorción a la humedad del ambiente. A pesar que no existe un contenido de humedad óptimo definido para los bioplásticos, este debe ser mínimo ya que las películas de empaque deben mantener los niveles de humedad dentro del producto empaquetado.

Después de analizar los resultados obtenidos en las diferentes formulaciones, se seleccionó como la mejor, la nombrada AA 14 con una proporción de quitosano:ácido acético:glicerol de 1:25:0.4. Esta muestra tuvo un grosor promedio de 0.1 cm y una densidad de 0.181 g/ cm³, en comparación con el plástico LDPE que se obtuvo con una densidad de 0.197 g/ cm³ la densidad, se tiene una variación de 7.89%. Además, esta muestra tiene el menor porcentaje de contenido de humedad dentro de las que tienen una buena

textura, es decir excluyendo las muestras AA 15 y AA 16 las cuales tenían textura quebradiza y polvorosa.

El principal problema encontrado en el proceso de elaboración del bioplástico fue la tendencia de las películas a quebrarse durante el secado. Se identificó como fuente principal de este error la calidad del quitosano extraído utilizado para las primeras pruebas. Esto se pudo deber a una contaminación debido a un mal lavado al momento de filtrarse. Además, esto se tomó como una señal de una mala plastificación o plastificación incompleta lo que significaba que se debía cambiar alguna de las variables, principalmente el tiempo de reacción y temperatura a la que se daba. Otra posible fuente de error para los mismos es el envase en el que se lleva a cabo el secado. Por lo tanto se realizaron las pruebas con envases de plástico, acero inoxidable y vidrio. Las muestras secadas en envases planos de vidrio obtuvieron mejores texturas y se podían despegar de una manera más fácil y uniforme.

Posterior a la selección de la formulación, se realizó una prueba de actividad antibacteriana del bioplástico contra las bacterias *K. pneumoniae* y *S. aureus*. El quitosano es conocido por su actividad antibacteriana, sin embargo, se deseaba comprobar la misma en el bioplástico después del proceso de plastificación. Los resultados con la bacteria *S. aureus* fueron descartados debido al mal crecimiento de la bacteria en el cultivo. Ya que el antibiótico utilizado como control positivo, opticina, tampoco presenta un halo de inhibición, se comprueba que es un error de crecimiento. Por otro lado, los resultados de la bacteria *K. pneumoniae* sí fueron reconocidos. Se obtuvo una zona de inhibición con un diámetro promedio de 7.92 mm. El cual es menor al reportado por otros autores, que es de aproximadamente 20 mm (Zhang, 2020). Esto se debe a que para esterilizar la muestra se utilizó un horno de luz UV debido a su disponibilidad en la Universidad del Valle. Sin embargo, la radiación UV provoca la degradación de la muestra. Como fue comprobado por Sionkowska, 2015 la superficie de las películas hechas de quitosano son alteradas por la radiación UV. A pesar de esta fuente de error, el bioplástico continúa teniendo actividad antibacteriana.

Con respecto a la prueba de permeabilidad, el bioplástico obtenido obtuvo una transmisión de vapor de agua de 169.66 g/m²·día al compararlo con el valor del plástico convencional de referencia de 61.87 g/m²·día se puede notar una gran discrepancia. Esto puede deberse a que la metodología utilizada para medirla es el método de copa seca definido en ISO 7783:2018. Sin embargo, esta es la forma más conveniente de realizar determinaciones en condiciones de baja humedad relativa entre 50 % y 3 %. En este caso debido a la disponibilidad de la cámara de humedad se utilizó una humedad relativa de 75% esto puede afectar la que el bioplástico absorbe esta humedad y esto puede afectar la medición del peso siendo esta errónea porque el aumento de peso no proviene de la sílica. También, se calculó la permeabilidad de vapor de agua, esta sí medida toma en cuenta la humedad relativa y por lo tanto disminuye en cierta parte el error de la medición. El bioplástico fabricado obtuvo una permeabilidad de vapor de agua de 0.27 perm, esto quiere decir que el bioplástico deja pasar el 27% del vapor de agua a través de su superficie.

En la Figura 8, se puede observar el espectro FTIR del bioplástico seleccionado. En el mismo se pueden identificar ciertos picos característicos. El primero en 3260.94 cm⁻¹ corresponde a los grupos N-H del quitosano y los grupos O-H del quitosano y el glicerol. El siguiente en aproximadamente 2900 cm⁻¹ se identificó como el pico de las vibraciones de

CH₂ y CH₃. El pico en 1639.325 cm⁻¹ se identificó con los grupos funcionales C=O y C=N restantes luego de las uniones moleculares. Los picos en 1410.98 y 1552.13 corresponden a las aminas, específicamente este último pertenece a las aminas secundarias. Por último el pico en 1153.99 cm⁻¹ se identificó como el pico del grupo C-O-C del anillo sacárido del quitosano. Estos picos confirman la identidad de la muestra utilizada como quitosano y su interacción con el glicerol.

IX. CONCLUSIONES

1. Se logró optimizar la reacción de plastificación, elaborando un bioplástico a partir de quitosano con un tiempo de reacción óptimo total de 5 horas, bajo un calentamiento constante de aproximadamente 60°C esto es lo ideal para asegurar que la reacción se dé por completo.
2. La proporción de reactivos determinada para la textura ideal del plástico es de quitosano:ácido acético:glicerol de 1:25:0.4.
3. El proceso de secado óptimo determinado fue a 60°C durante aproximadamente 2 horas y luego a 80°C por 10 minutos para sellarlo, sobre un envase plano de vidrio.
4. La mejor formulación para el bioplástico se escogió tomando en cuenta su textura y facilidad de remover del envase de secado, el mismo, obtuvo como resultado de las pruebas físicas: un grosor de $0.1 \pm 0.05\text{cm}$, una densidad de 0.181g/cm^3 , y un contenido de humedad de 7.12%.
5. En las pruebas antibacterianas, se obtuvo una zona de inhibición promedio de 7.92 ± 0.05 mm con una desviación estándar de 0.63 mm para el bioplástico. La principal fuente de error para esta prueba fue la esterilización con horno UV ya que el mismo puede causar cambios en la superficie de la película.
6. Para las pruebas de permeabilidad se obtuvo una transmisión de vapor de agua de $169.66 \text{ g/m}^2\cdot\text{día}$ y una permeabilidad de vapor de agua de 0.27 perm. Sin embargo, la metodología no es adecuada para una alta humedad relativa lo cual puede causar variaciones en las mediciones realizadas.
7. A partir de los picos del espectro FTIR, se determinó que el almidón de la fuente comercial Maizena no es compatible con el quitosano y no se puede utilizar como aditivo.

X. RECOMENDACIONES

1. Para futuras referencias se recomienda evaluar la calidad del quitosano previo a realizar la fabricación del bioplástico así como procurar lavarlo de forma minuciosa luego de cada paso de su extracción.
2. Además, se recomienda tener una fuente de calor constante y mantener la temperatura lo más constante posible para evitar daños a la estructura del polímero.
3. También, luego del secado de la muestra se recomienda mantenerla en una desecadora hasta el momento de las pruebas debido a su alta absorción de la humedad del ambiente cuando se está enfriando.
4. Para la esterilización del plástico se recomienda utilizar óxido de etileno para no dañar la estructura del plástico.
5. Si se desea medir la permeabilidad con una alta humedad relativa se recomienda utilizar el método de copa húmeda, en la cual se utiliza una solución acuosa saturada de dihidrogenofosfato de amonio.

XI. BIBLIOGRAFÍA

- A. Sionkowska, B. Kaczmarek, M. Gnatowska, J. Kowalonek, *The influence of UV-irradiation on chitosan modified by the tannic acid addition*, Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, Volume 148, 2015, Pages 333-339, ISSN 1011-1344, <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2015.03.028>.
- Abdel-Bary, E. M. (Ed.). (2003). *Handbook of plastic films*. iSmithers Rapra Publishing.
- Abigail Gómez Jasso, Erandi López Beltrán & Luis Ángel Briseño López (2018). *Extracción de Quitina y quitosano del exoesqueleto del camarón*. Centro Universitario México A.C.
- Ali, Malek & Gherissi, Abderraouf. (2017). *Synthesis and characterization of the composite material PVA/Chitosan/5% sorbitol with different ratio of chitosan*. International Journal of Mechanical and Mechatronics Engineering. 17. 15-28.
- ALLEN D. GODWIN, PLASTICIZERS, Editor(s): Clara D. Craver, Charles E. Carraher, *Applied Polymer Science: 21st Century*, Pergamon, 2000, Pages 157-175, ISBN 9780080434179, <https://doi.org/10.1016/B978-008043417-9/50011-8>.
- Aranaz, I., Acosta, N., Civera, C., Elorza, B., Mingo, J., Castro, C., Gandía, M., & Heras Caballero, A. (2018). *Cosmetics and Cosmeceutical Applications of Chitin, Chitosan and Their Derivatives*. Polymers, 10(2), 213. <https://doi.org/10.3390/polym10020213>
- Aranaz, I., Alcántara, A. R., Civera, M. C., Arias, C., Elorza, B., Heras Caballero, A., & Acosta, N. (2021). *Chitosan: An Overview of Its Properties and Applications*. Polymers, 13(19), 3256. <https://doi.org/10.3390/polym13193256>
- Brody, A. ; Bugusu, B. Han, J. & McHugh, T. *Innovative Food Packaging Solutions*, Institute of Food Technologists: Journal of Food Science, 2008. -8: Vol 73.
- Castillo Valle, E. (2010). *Recubrimiento de envases de poliestireno expandido con nanopartículas lipídicas sólidas para generar envases activos*. Tesis de Licenciatura Ingeniería en Alimentos, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, 2010.
- Cerdá, E., & Khalilova, A. (2016). *Economía circular*. Economía industrial, 401(3), 11-20.
- Cevera Fantoni, A.L. *Envase y Embalaje, La venta silenciosa*, España: ESIC, 2003. - Vol. 2a ed..
- Dainelli, D.; Gontard, N.; Spyropouloa, D. Zondervan-van den Beuken, E. & Tobback, P. *Active and intelligent food packaging: legal aspects and safety concerns*, Trends in Food Science & Technology, 2008.- Vol. 19
- Delville, J., Joly, C., Dole, P., & Bliard, C. (2002). *Solid state photocrosslinked starch based films: a new family of homogeneous modified starches*. Carbohydrate polymers, 49(1), 71-81.
- Divya Nataraj, Seema Sakkara, Murlidhar Meghwal, Narendra Reddy, *Crosslinked chitosan films with controllable properties for commercial applications*, International Journal of Biological Macromolecules, Volume 120, Part A, 2018, Pages 1256-1264, ISSN 0141-8130, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.187>.
- E. Ann MacGregor, Biopolymers, Editor(s): Robert A. Meyers, *Encyclopedia of Physical Science and Technology (Third Edition)*, Academic Press, 2003, Pages 207-245, ISBN 9780122274107, <https://doi.org/10.1016/B0-12-227410-5/00064-8>.
- Ferreira, A. S., Nunes, C., Castro, A., Ferreira, P., & Coimbra, M. A. (2014). *Influence of grape pomace extract incorporation on chitosan films properties*. Carbohydrate polymers, 113, 490-499

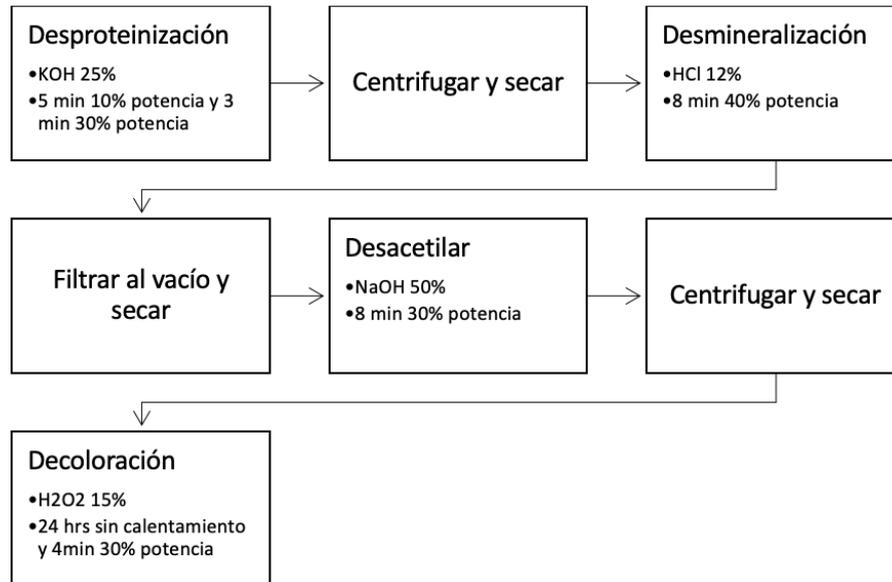
- Fetters, L. J., Lohse, D. J., Richter, D., Witten, T. A., & Zirkel, A. (1994). *Connection between polymer molecular weight, density, chain dimensions, and melt viscoelastic properties*. *Macromolecules*, 27(17), 4639-4647.
- Filiciotto, Layla; Rothenberg, Gadi (2020). *Biodegradable Plastics: Standards, Policies, and Impacts*. *ChemSusChem*, (), cssc.202002044–. doi:10.1002/cssc.202002044
- Fu, Jing; Yang, Fuchao; Guo, Zhiguang (2018). *The chitosan hydrogels: from structure to function*. *New Journal of Chemistry*,, 10.1039/C8NJ03482F–. doi:10.1039/C8NJ03482F
- Giulia Fredi, Andrea Dorigato, *Recycling of bioplastic waste: A review*, *Advanced Industrial and Engineering Polymer Research*, Volume 4, Issue 3, 2021, Pages 159-177, ISSN 2542-5048, <https://doi.org/10.1016/j.aiepr.2021.06.006>.
- Gomaa Y.A., El-Khordagui L.K., Boraei N.A., Darwish I.A. *Chitosan microparticles incorporating a hydrophilic sunscreen agent*. *Carbohydr. Polym.* 2010;81:234–242. doi: 10.1016/j.carbpol.2010.02.024.
- Gustavsson, J. & Cederberg, Christel & Sonesson, Ulf & Otterdijk, R. & Meybeck, Alexandre. (2011). *Global Food Losses and Food Waste- Extent, Causes and Prevention*.
- Hopfenberg, H. B. (1974). *Permeability of plastic films and coatings*. Amsterdam: Springer.
- Hosseini, M. H., Razavi, S. H., & Mousavi, M. A. (2009). *Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils*. *Journal of Food Processing and Preservation*, 33(6), 727-743.
- Isa, Muhammed. (2013). *Kinetics of Demineralization of Shrimp Exoskeleton in Chitin and Chitosan Synthesis*. *Journal of Chemical Engineering and Material Science*. 4. 32-37. 10.5897/JCEMS.
- Kangama, Awa; Zeng, Defang; Tian, Xu; Fang, Jinfu (2018). *Application of Chitosan Composite Flocculant in Tap Water Treatment*. *Journal of Chemistry*, 1–9. doi:10.1155/2018/2768474
- Kumari, S., Kumar Annamareddy, S. H., Abanti, S., & Kumar Rath, P. (2017). *Physicochemical properties and characterization of chitosan synthesized from fish scales, crab and shrimp shells*. *International journal of biological macromolecules*, 104(Pt B), 1697–1705. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.119>
- Leceta, I., Guerrero, P., Ibarburu, I., Dueñas, M. T., & De la Caba, K. (2013). *Characterization and antimicrobial analysis of chitosan-based films*. *Journal of Food Engineering*, 116(4), 889-899.
- López Chávez, M. (2013). *Síntesis y caracterización de materiales con base en quitosano, obtenido mediante desacetilación heterogénea de quitina extraída por un método biológico*. Universidad Nacional Autónoma de México: Facultad de Química.
- MAGA. (2014). *Perfil Comercial Camarón*. Gobierno de Guatemala. Recuperado de: <https://precios.maga.gob.gt/archivos/perfiles/Perfil%20Camar%C3%B3n.pdf>
- MarketWatch, Inc. (21 Abril, 2021). *Chitosan Market Size In 2022 : 3.5% CAGR with Top Countries Data, What are the key industry trends of the Chitosan market? | In-depth 124 Pages Report*.
- McGill. (2013). *What is sustainability?* University of Alberta: Office of sustainability. Recuperado de: <https://www.mcgill.ca/sustainability/files/sustainability/what-is-sustainability.pdf>
- Mhurchu, C. N., Poppitt, S. D., McGill, A. T., Leahy, F. E., Bennett, D. A., Lin, R. B., Ormrod, D., Ward, L., Strik, C., & Rodgers, A. (2004). *The effect of the dietary supplement, Chitosan, on body weight: a randomised controlled trial in 250 overweight*

- and obese adults*. International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity, 28(9), 1149–1156. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0802693>
- Moezzi, A., McDonagh, A. M., & Cortie, M. B. (2012). *Zinc oxide particles: Synthesis, properties and applications*. Chemical engineering journal, 185, 1-22.
- Mutlu, Hatice; Ceper, Ezgi Berfin; Li, Xiaohui; Yang, Jingmei; Dong, Wenyuan; Ozmen, Mehmet Murat; Theato, Patrick (2019). *Sulfur Chemistry in Polymer and Materials Science*. Macromolecular Rapid Communications, 40(1), 1800650–. doi:10.1002/marc.201800650
- Muzzarelli, R. A. (2013). *Chitin*. Elsevier. University of Ancona, Italy.
- N.R. Sudarshan, D.G. Hoover & D. Knorr (1992) *Antibacterial action of chitosan*, Food Biotechnology, 6:3, 257-272, DOI: 10.1080/08905439209549838
- Nanyang Technological University. (2020, May 8). *Scientists develop sustainable way to extract chitin from prawn shells*. ScienceDaily. Retrieved February 20, 2022 from www.sciencedaily.com/releases/2020/05/200508112919.htm
- Oyatogun, G.M. (2020). *Handbook of Chitin and Chitosan* || Chitin, chitosan, marine to market. , 341–381. doi:10.1016/B978-0-12-817966-6.00011-X
- Parker, L. (7 Junio, 2019). *The world's plastic pollution crisis explained*. National Geographic. Recuperado de: <https://www.nationalgeographic.com/environment/article/plastic-pollution>
- Pelissari, F. M., Grossmann, M. V. E., Yamashita, F., & Pineda, E. A. G. (2009). *Antimicrobial, mechanical, and barrier properties of cassava starch– chitosan films incorporated with oregano essential oil*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57(16), 7499-7504.
- Priyadarshi, R., Negi, Y.S. *Effect of Varying Filler Concentration on Zinc Oxide Nanoparticle Embedded Chitosan Films as Potential Food Packaging Material*. J Polym Environ 25, 1087–1098 (2017). <https://doi.org/10.1007/s10924-016-0890-4>
- Rambabu, K., Bharath, G., Banat, F., Show, P. L., & Cocoltzi, H. H. (2019). *Mango leaf extract incorporated chitosan antioxidant film for active food packaging*. International journal of biological macromolecules, 126, 1234-1243.
- Roberts, G. A. (1992). *Chitin chemistry*. Macmillan International Higher Education.
- Ruiz, G. A. M. , & Corrales, H. F. Z. (2017). *Chitosan, Chitosan Derivatives and their Biomedical Applications*. In (Ed.), Biological Activities and Application of Marine Polysaccharides. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/66527>
- Saghir, M. (2004, April). *The concept of packaging logistics*. In Proceedings of the Fifteenth Annual POMS Conference, Cancun, April (pp. 1-31).
- Serna, L., & Albán, F. (2003). *Ácido poliláctico (PLA): Propiedades y aplicaciones*. Ingeniería y competitividad, 5(1), 16-26.
- Shiv Shankar, Jong-Whan Rhim, *Preparation of sulfur nanoparticle-incorporated antimicrobial chitosan films*, Food Hydrocolloids, Volume 82, 2018, Pages 116-123, ISSN 0268-005X, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.054>.
- Shiv Shankar, Jong-Whan Rhim, *Preparation of sulfur nanoparticle-incorporated antimicrobial chitosan films*, Food Hydrocolloids, Volume 82, 2018, Pages 116-123, ISSN 0268-005X, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.054>.
- Sionkowska A., Kaczmarek B., Michalska M., Lewandowska K., Grabska S. *Preparation and characterization of collagen/chitosan/hyaluronic acid thin films for application in hair care cosmetics*. Pure Appl. Chem. 2017;89:1829–1839. doi: 10.1515/pac-2017-0314.

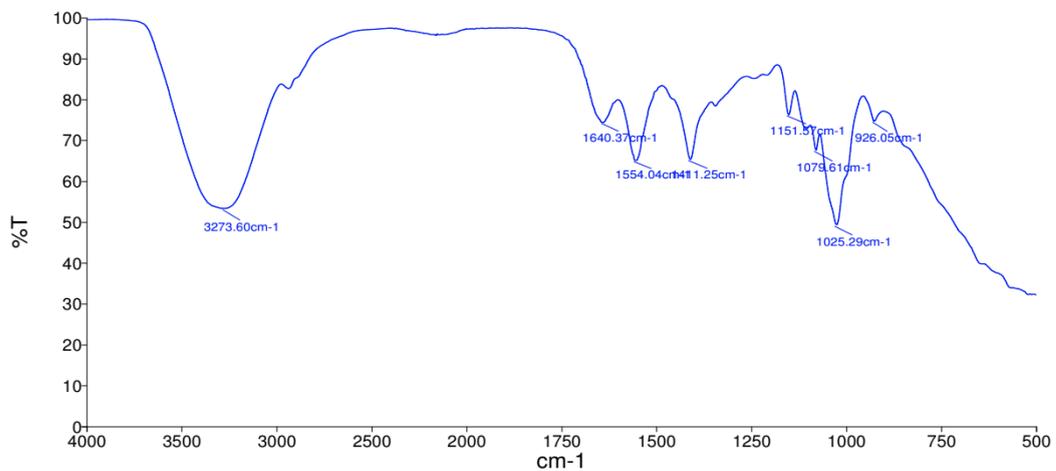
- Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N. H. M., Ann, L. C., Bakhori, S. K. M., ... & Mohamad, D. (2015). *Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism*. *Nano-micro letters*, 7(3), 219-242.
- Thakhiew, W., Devahastin, S., & Soponronnarit, S. (2014). *Combined Effects of Drying Methods, Extract Concentration, and Film Thickness on Efficacy of Antimicrobial Chitosan Films*. *Journal of Food Science*.
- Thomas, S., Pius, A., & Gopi, S. (Eds.). (2020). *Handbook of Chitin and Chitosan: Volume 3: Chitin-and Chitosan-Based Polymer Materials for Various Applications*. Elsevier.
- Titone, V., Correnti, A., & La Mantia, F. P. (2021). *Effect of Moisture Content on the Processing and Mechanical Properties of a Biodegradable Polyester*. *Polymers*, 13(10), 1616. <https://doi.org/10.3390/polym13101616>
- V. Rubentheren, Thomas A. Ward, Ching Yern Chee, Chee Kuang Tang, *Processing and analysis of chitosan nanocomposites reinforced with chitin whiskers and tannic acid as a crosslinker*, *Carbohydrate Polymers*, Volume 115, 2015, Pages 379-387, ISSN 0144-8617, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.09.007>.
- Wang, L., Liu, F., Jiang, Y., Chai, Z., Li, P., Cheng, Y., Jing, H., & Leng, X. (2011). *Synergistic antimicrobial activities of natural essential oils with chitosan films*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(23), 12411-12419.
- Wang, Q., Tian, F., Feng, Z., Fan, X., Pan, Z., & Zhou, J. (2014). *Antioxidant activity and physicochemical properties of chitosan films incorporated with Lycium barbarum fruit extract for active food packaging*. *International Journal of Food Science & Technology*.
- Wieckiewicz M., Boening K.W., Grychowska N., Paradowska-Stolarz A. *Clinical Application of Chitosan in Dental Specialities*. *Mini-Rev. Med. Chem.* 2017;17:401–409. doi: 10.2174/1389557516666160418123054.
- Yan, W., Shi, M., Dong, C., Liu, L., & Gao, C. (2020). *Applications of tannic acid in membrane technologies: A review*. *Advances in Colloid and Interface Science*, 284, 102267.
- Ye, M., Neetoo, H., & Chen, H. (2008). *Control of Listeria monocytogenes on ham steaks by antimicrobials incorporated into chitosan-coated plastic films*. *Food Microbiology*, 25(2), 260-268.
- Younes, I., & Rinaudo, M. (2015). *Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications*. *Marine drugs*, 13(3), 1133–1174. <https://doi.org/10.3390/md13031133>
- Zhang, F., Ramachandran, G., Mothana, R. A., Noman, O. M., Alobaid, W. A., Rajivgandhi, G., & Manoharan, N. (2020). *Antibacterial activity of chitosan loaded plant essential oil against multi drug resistant K. pneumoniae*. *Saudi journal of biological sciences*, 27(12), 3449–3455. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.09.025>
- Zhao, D., Yu, S., Sun, B., Gao, S., Guo, S., & Zhao, K. (2018). *Biomedical Applications of Chitosan and Its Derivative Nanoparticles*. *Polymers*, 10(4), 462. <https://doi.org/10.3390/polym10040462>

XII. ANEXOS

Anexo 1: Diagrama de flujo metodología optimizada de extracción de quitosano con microondas



Anexo 2: Espectro FTIR de bioplástico con almidón



Anexo 3: Cálculos realizados para reporte de resultados

Cálculo 1: Determinar la densidad del bioplástico a partir del peso y grosor de un cuadrado de lado 1 cm

$$\delta = \frac{0.08 \text{ g}}{0.1 \text{ cm} \cdot (1 \text{ cm})^2}$$

$$\delta = 0.80 \text{ g/cm}^3$$

*Este cálculo se repite para todas las muestras de formulaciones de bioplástico.

Cálculo 2: Determinar el contenido de humedad del bioplástico a partir del peso inicial y final luego de calentarlo por 3 horas a 105°C

$$MC = \frac{0.139g - 0.098g}{0.139g} \times 100$$

$$MC = 29.50\%$$

*Este cálculo se repite para todas las muestras de formulaciones de bioplástico.

Cálculo 3: Determinar el promedio del diametro de la zona de inhibición del bioplástico a partir de las medidas realizadas

$$\frac{7\text{ mm} + 7.5\text{ mm} + 6\text{ mm} + 9\text{ mm} + 10.1\text{ mm}}{5} = 7.92\text{ mm}$$

Cálculo 4: Determinar la desviación estándar del diametro de la zona de inhibición del bioplástico a partir de las medidas realizadas

$$S = \sqrt{\frac{(7-7.92)^2 + (7.5-7.92)^2 + (6-7.92)^2 + (9-7.92)^2 + (10.1-7.92)^2}{5-1}} = 0.63\text{ mm}$$

Cálculo 5: Determinar TRVA del bioplástico y plástico convencional a partir de la pendiente obtenida por regresión lineal y el área de la apertura del erlenmeyer utilizado

$$TRVA = \frac{0.311\text{ g/día}}{0.005\text{ m}^2}$$

$$TRVA = 61.871\text{ g/m}^2 \cdot \text{día}$$

Cálculo 6: Determinar PVA a partir del TRVA calculado, la humedad relativa y la presión de vapor de agua saturada a 48°C en mmHg

$$PVA = \frac{61.871\text{ g/m}^2 \cdot \text{día}}{83.82\text{ mmHg} \times (75\% - 0\%)}$$

$$PVA = 0.010\text{ perm}$$

Anexo 4: Bioplástico seleccionado (AA14)



Anexo 5: Realización de pruebas antibacterianas



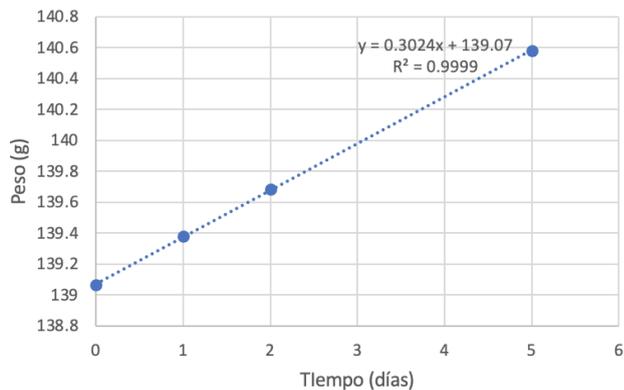
Anexo 6: Muestras en cámara de humedad



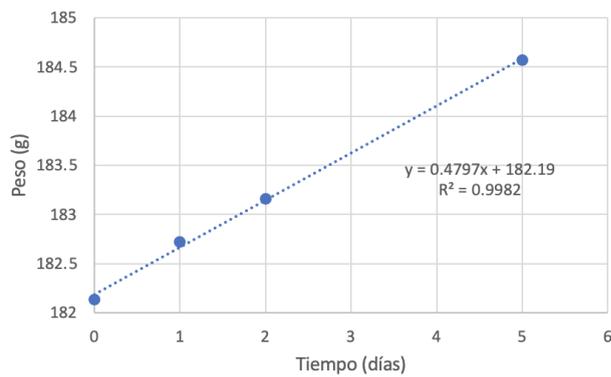
Anexo 7: Condiciones cámara de humedad



Anexo 8: Regresión lineal prueba de permeabilidad plástico convencional LDPE.



Anexo 9: Regresión lineal prueba de permeabilidad bioplástico.



Anexo 10: Regresión lineal prueba de permeabilidad bioplástico, duplicado.

