



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS**  
**DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE LOS ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA QUÍMICA**

**Profesor Patrocinante:**

**Lilian Elizabeth Abugoch James**

**Departamento de Ciencia de los Alimentos y  
Tecnología Química, Universidad de Chile**

**Directores de Memoria:**

**Cristián Tapia Villanueva**

**Departamento de Ciencia de los Alimentos y  
Tecnología Química, Universidad de Chile**

**Lilian Elizabeth Abugoch James**

**Departamento de Ciencia de los Alimentos y  
Tecnología Química, Universidad de Chile**

**ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE FILMS  
COMESTIBLES BASADAS EN MEZCLAS ENTRE PROTEÍNAS  
DE QUÍNOA Y QUITOSANO**

**MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE  
INGENIERO EN ALIMENTOS**

***MARÍA CRISTINA VILLAMÁN DIÉGUEZ***

**SANTIAGO-CHILE**

**2007**

*"Sólo hay un principio motriz: el deseo"*

*Aristóteles*

*Con amor,  
a mi familia y a mis grandes amigos,  
que han estado conmigo siempre.*

## **AGRADECIMIENTOS**

- A mi profesora patrocinante y directora de tesis Lilian Abugoch, por compartir conmigo sus conocimientos que fueron y serán de mucha utilidad, por su apoyo tanto académico como personal, por invitarme a trabajar en este proyecto, confiando en mis capacidades para el desarrollo de éste y por sobre todo por su grata forma de ser, lo que se valora mucho a la hora de trabajar en equipo.
- A mi profesor y director de tesis Cristián Tapia, por sus conocimientos, paciencia, ayuda, excelente disposición y sobre todo por tener siempre una solución para los problemas que se presentaban a lo largo del proyecto.
- A mi profesor Eduardo Castro, por todo lo que me enseñó a lo largo de la carrera y por orientarme en los análisis de las propiedades mecánicas de este proyecto.
- Al profesor Abel Guarda del Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Tecnología de la Universidad de Santiago de Chile, por facilitar el equipo OXTRAN para llevar a cabo los análisis.
- A Tatiana, Camila Y María José, técnicos de laboratorio en práctica, por su simpatía y porque me ayudaron mucho en la realización de los análisis y siempre tuvieron una muy buena disposición por hacerlo, facilitando en gran medida mi trabajo.
- A todos mis profesores y personal de la Universidad por haber contribuido en mi formación académica y profesional.
- A Pedro Pablo Reyes, por ayudarme con toda la impresión de este proyecto.
- A mi familia por apoyarme incondicionalmente durante toda mi carrera y mi vida.
- A todos mis amigos por su apoyo y comprensión.

## ÍNDICE GENERAL

	Página
<b>DEDICATORIA</b> .....	ii
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	iii
<b>ÍNDICE GENERAL</b> .....	iv
<b>ÍNDICE FIGURAS</b> .....	vii
<b>ÍNDICE TABLAS</b> .....	viii
<b>ÍNDICE DE ECUACIONES</b> .....	ix
<b>RESUMEN</b> .....	x
<b>SUMMARY</b> .....	xi
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1. Antecedentes generales.....	1
1.2. Descripción general y propiedades de la quínoa.....	2
1.2.1. Descripción general.....	2
1.2.2. Características fisicoquímicas y estructurales de las proteínas de quínoa.....	3
1.2.3. Propiedades de solubilidad y su punto isoeléctrico, Pi.....	3
1.3 Descripción general y propiedades del quitosano.....	4
1.3.1. Descripción general.....	4
1.3.2. Formación de <i>films</i> .....	6
1.3.3. Propiedades antimicrobianas.....	7
1.3.4. Biodegradación.....	8
1.4. <i>Films</i> comestibles.....	8
<b>II. HIPÓTESIS</b> .....	11

<b>III. OBJETIVOS</b> .....	11
3.1. Objetivo general.....	11
3.2. Objetivos específicos.....	11
<b>IV. MATERIALES Y EQUIPOS</b> .....	12
4.1. Materiales.....	12
4.1.1. Materia prima.....	12
4.1.2. Reactivos químicos.....	12
4.1.3. Insumos y utensilios.....	13
4.2. Equipos e instrumentos.....	13
<b>V. MÉTODOS</b> .....	15
5.1. Preparación de la harina de quínoa.....	15
5.2. Elaboración del extracto acuoso proteico de quínoa y optimización del proceso de extracción.....	16
5.3. Preparación de las soluciones de quitosano.....	16
5.4. Preparación del extracto acuoso proteico de quínoa (EAP).....	17
5.5. Preparación de los <i>films</i> de quitosano.....	17
5.6. Preparación de los <i>films</i> de mezcla.....	18
5.7. Determinación de la relación óptima EAP : Qo para la elaboración de los <i>films</i> de mezcla.....	19
5.8. Determinación de las propiedades fisicoquímicas.....	19
5.9. Obtención de la curva de secado de los <i>films</i> .....	19
5.10. Determinación de las propiedades mecánicas.....	23
5.11. Determinación del grado de transmisión de vapor de agua (TVA)...	25
5.12. Determinación de la permeabilidad al oxígeno.....	27
5.13. Isotermas de sorción de los <i>films</i> .....	27
5.13.1. Elaboración de las isotermas de sorción de los <i>films</i> .....	27
5.13.2. Modelamiento de la isoterma de sorción.....	28
5.14. Estudios de microestructura de los <i>films</i> .....	28

<b>VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	29
6.1. Determinación de las condiciones de extracción de las proteínas de quínoa para su posterior incorporación en la elaboración de películas.....	29
6.2. Determinación de la relación óptima (EAP:Qo) para la elaboración de <i>films</i> de mezcla de acuerdo a sus propiedades mecánicas.....	31
6.2.1. Alargamiento porcentual, A% y Esfuerzo de tracción en la ruptura, ETR.....	31
6.3. Propiedades fisicoquímicas de los <i>films</i> de mezcla (1:1) y de quitosano (Qo).....	33
6.4. Determinación de los parámetros de secado de los <i>films</i> .....	35
6.5. Determinación de las propiedades mecánicas A% y ETR (Nmm <sup>-2</sup> ) al film seleccionado (EAP:Qo) (1:1).....	39
6.6. Grado de transmisión de vapor de agua, TVA.....	42
6.7. Determinación de la permeabilidad al oxígeno (PO).....	46
6.8. Isoterma de sorción del <i>film</i> final seleccionado.....	46
6.9. Microestructura, por microscopía electrónica de barrido (SEM).....	49
<b>VII. CONCLUSIONES</b> .....	51
<b>VIII. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	52
<b>XI. ANEXOS</b> .....	58

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
<b>FIGURA 1.1</b> Estructura química de la celulosa, quitina y quitosano	4
<b>FIGURA 1.2</b> Procesamiento tradicional de los caparzones de crustáceos para la obtención de quitosano.....	5
<b>FIGURA 5.1</b> Elaboración de <i>films</i> de quitosano.....	17
<b>FIGURA 5.2</b> Elaboración de <i>films</i> de mezcla.....	18
<b>FIGURA 5.3</b> Cinética de secado teórica.....	20
<b>FIGURA 5.4</b> Secuencia de la medición de las propiedades mecánicas	23
<b>FIGURA 5.5</b> Diagrama del gráfico carga v/s alargamiento.....	24
<b>FIGURA 5.6</b> Sistema de medición del T.V.A.....	25
<b>FIGURA 5.7</b> Secuencia de análisis del T.V.A.....	27
<b>FIGURA 6.1</b> Diagrama de optimización del proceso de extracción de las proteínas de Quínoa.....	29
<b>FIGURA 6.2</b> Curvas de secado de los <i>films</i> de mezcla (1:1 y Qo)	36
<b>FIGURA 6.3</b> Curvas de velocidad de secado de los <i>films</i> de mezcla (1:1 y Qo).....	37
<b>FIGURA 6.4</b> Alargamiento porcentual y esfuerzo de tracción en la ruptura de los <i>films</i> .....	40
<b>FIGURA 6.5</b> Cinética de evaporación de agua de los <i>films</i> de mezcla, período completo.....	43
<b>FIGURA 6.6</b> Cinética de evaporación de agua de los <i>films</i> , del primer y segundo período.....	44
<b>FIGURA 6.7</b> Valores de TVA de los <i>films</i> del primer y segundo período.....	45
<b>FIGURA 6.8</b> Isoterma de sorción de agua a 20°C de los <i>films</i>	48
<b>FIGURA 6.9</b> Microestructura de los <i>films</i> de mezcla	50
<b>FIGURA 9.1</b> Sistema de optimización del proceso de extracción de las proteínas de quínoa.....	59
<b>FIGURA 9.2</b> Microestructura de los <i>films</i> de quitosano.....	61

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Página</b>
<b>TABLA 5.1</b> Descripción de los parámetros en la cinética de secado de las soluciones formadoras de <i>films</i> .....	19
<b>TABLA 5.2</b> Descripción de sales utilizadas para la determinación de la isoterma de sorción.....	28
<b>TABLA 6.1</b> Proporciones de EAP:Qo utilizadas para la preparación de los <i>films</i> .....	31
<b>TABLA 6.2</b> Estudios preliminares de la propiedades mecánicas de los <i>films</i> .....	32
<b>TABLA 6.3</b> Características fisicoquímicas del extracto acuoso de proteínas (EAP).....	33
<b>TABLA 6.4</b> Parámetros determinados en la cinética de secado de las soluciones formadoras de <i>films</i> .....	38
<b>TABLA 6.5</b> Comparación de las propiedades mecánicas de los <i>films</i>	39
<b>TABLA 6.6</b> Propiedades de permeabilidad de los <i>films</i> de mezcla.....	44
<b>TABLA 6.7</b> Permeabilidad de oxígeno del film de mezcla.....	46
<b>TABLA 6.8</b> Parámetros estimados en los modelos de isoterma de BET y GAB.....	49
<b>TABLA 9.1</b> Análisis proximal de la harina de quínoa.....	58
<b>TABLA 9.2</b> Contenido de aminoácidos de la harina de quínoa.....	58
<b>TABLA 9.3</b> Ecuaciones de los modelos de BET y GAB.....	60



## ÍNDICE DE ECUACIONES

		<b>Página</b>
<b>ECUACIÓN 5.1</b>	Velocidad de secado.....	20
<b>ECUACIÓN 5.2</b>	Segunda Ley de Fick.....	22
<b>ECUACIÓN 5.3</b>	Integral de la segunda Ley de Fick.....	22
<b>ECUACIÓN 5.4</b>	Simplificación de la segunda Ley de Fick.....	22
<b>ECUACIÓN 5.5</b>	Alargamiento porcentual, A%.....	24
<b>ECUACIÓN 5.6</b>	Esfuerzo de tracción en la ruptura, ETR.....	24
<b>ECUACIÓN 5.7</b>	Área transversal.....	24
<b>ECUACIÓN 5.8</b>	Grado de transmisión de vapor de agua.....	26
<b>ECUACIÓN 5.9</b>	Grado de transmisión de vapor de agua específico	26

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue el de elaborar películas comestibles biodegradables en base a mezcla de un extracto acuoso proteico de quínoa (EAP) y de una solución de quitosano (Qo), determinando sus propiedades mecánicas y seleccionando la proporción (EAP/Qo, v/v) más adecuada para elaborar este *film* de mezcla. Al *film* de proporción seleccionado entre EAP y Qo se le evaluaron las propiedades mecánicas, de permeabilidad al vapor de agua y al oxígeno y parámetros fisicoquímicos. Este desarrollo conllevó el estudio de la cinética de secado de ambos *films* (mezcla y Qo). Al *film* de mezcla, se le determinó las propiedades de isoterma de sorción, la que se analizó a través de los modelos de sorción de BET y de GAB. Finalmente se analizó la microestructura del *film* de mezcla por medio de microscopía electrónica de barrido. Se escogió el proceso de extracción de proteínas que resultó ser más eficiente, en cuanto al rendimiento (R%) versus el tiempo de proceso (T.P), obteniéndose un 11,2% en 1,5 h. El *film* de mezcla seleccionado fue el de proporción (1/1), (EAP/Qo, v/v). En éste, las proteínas resultaron ser un aporte en cuanto a sus propiedades mecánicas, presentando una firmeza y rigidez aceptables y una elasticidad aproximadamente cuatro veces mayor que la que presentó el *film* de Qo por si solo, también este aporte mostró ser ventajoso al disminuir la permeabilidad al vapor de agua (TVA) y la actividad de agua ( $a_w$ ). El *film* de mezcla obtuvo una permeabilidad media al oxígeno ( $25,6 \text{ cm}^3 * \mu\text{m}/\text{m}^2 * \text{d} * \text{kPa}$ ). Los valores de sorción se ajustaron muy bien a ambos modelos, obteniendo valores de humedad de monocapa ( $x_m$ ) diferentes. Finalmente el análisis de la microestructura del *film* de mezcla mostró homogeneidad tanto en su superficie como en el corte transversal.

## SUMMARY

### **Elaboration and Characterization of Edible Films Based on Mixtures of a Protein Water Extract of *Quínoa* and Chitosan.**

The aim of this work was to formulate edible biofilms based on mixtures of a protein water extract of *quínoa* (EAP) and a solution of chitosan (Qo), determining their mechanical properties and choosing the best ratio (EAP/Qo, v/v) for making this mixture film. Mechanical, water vapor and O<sub>2</sub> permeability and some physicochemical parameters were evaluated over the selected film and then compared with the chitosan films properties. The drying kinetic of both films (mixture and Qo) was also studied. The sorption isotherm properties of the mixture film were determined, their sorption values were analyzed by the sorption models of BET and GAB. Finally, the microstructure of the mixture film was investigated by scanning electron microscopy (SEM). The extracting protein process that was chosen was the most efficient according to the yield (R%) versus the process time (T.P), obtaining a 11,2% in 1,5h. The selected mixture film was the one with a ratio (EAP/Qo)(v/v) of (1/1). In this ratio, the protein results to be a contribution for the mechanical properties, presenting a well firmness and rigidity characteristics and a elasticity four times bigger than the Qo films, this protein contribution also showed to be advantageous because it diminished the water vapor permeability (TVA) and water activity ( $a_w$ ). The mixture film, obtained an intermediate oxygen permeability ( $25,6 \text{ cm}^3 \cdot \mu\text{m}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{kPa}$ ). The sorption values were well plotted for both models, obtaining different monolayer moisture ( $x_m$ ) values for each one. Finally the analysis of the film microstructure showed superficial and transversal homogeneity.

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Antecedentes Generales

Hace ya mucho tiempo, que en el área de la ingeniería y tecnología de alimentos se ha investigado sobre películas comestibles o recubrimientos, para proteger a los alimentos perecibles de su deterioro natural y de ciertas pérdidas importantes de la calidad que puedan ser provocadas por el medio ambiente durante el período de almacenamiento de éstos. Sin embargo, en la última década ha aumentado de forma muy notoria el interés en el desarrollo y uso de materiales de envase biodegradables que prolonguen la vida útil y que mejoren la calidad de los alimentos ya sean frescos, congelados, procesados, entre otros (Viroben y col., 2000; Ayhllon-Meixueiro y col., 2000; Diab y col., 2001; Khwaldia y col., 2004).

Lo que se busca es ir reemplazando paulatinamente los materiales sintéticos convencionales de los envases por materiales biodegradables que sean amigables con el ecosistema. Otro factor de gran relevancia es el gran interés de parte de los consumidores en la actualidad por ingerir alimentos que parezcan lo más frescos posible, es decir que sean mínimamente procesados. También está la necesidad básica tanto para los industriales como para el consumidor final de que los alimentos tengan una vida útil lo más prolongada posible (Viroben y col., 2000). Por otra parte está el interés a nivel de país de expandir los canales de distribución de los alimentos *commodities*, dándoles valor agregado, industrializándolos en mayor grado lo que repercute fuertemente en el desarrollo de un país. Estos son entre otros, fundamentos de gran fuerza que justifican el despertar de tanto interés en el tema de películas o recubrimientos comestibles biodegradables.

El uso de *films* comestibles parece nuevo, pero hace ya mucho tiempo que se han recubierto alimentos, en China se recubrían frutas cítricas con cera desde el siglo XII. En el último siglo, se ha aplicado recubrimientos a los productos cárnicos y alimenticios en general con *films* comestibles en base a gelatina. La yuba, un *film* comestible obtenido de la leche de soja hervida, se usaba tradicionalmente en Asia para mejorar la apariencia y preservación de algunos alimentos desde el siglo 15. Ya en el siglo XIX, se utilizó por primera vez la sucrosa como un recubrimiento protector en nueces, almendras y avellanas para prevenir las de la oxidación y del

enranciamiento durante el almacenamiento. La aplicación de *films* comestibles de más importancia desde 1930, consiste en el uso de una emulsión elaborada en base a ceras y aceites en agua que eran aplicadas por aspersion en frutas para mejorar su apariencia. Para mejorar la calidad de los productos cárnicos durante el almacenamiento, se han utilizado un gran número recubrimientos elaborados en base a polisacáridos, incluyendo alginatos, carragenatos, celulosa, pectina, y derivados de almidón (Debeaufort y cols., 1998).

## **1.2. Descripción General y Propiedades de la Quínoa (*Chenopodium Quinoa*)**

### **1.2.1. Descripción General**

La quínoa (*Chenopodium quinoa*) pertenece a la familia *Chenopodiaceae*, es considerada un pseudocereal, porque no pertenece a las familias de las gramíneas, a diferencia de los verdaderos cereales, pero, al igual que estos últimos produce semillas harinosas. Esta semilla proviene del sector altiplánico andino y de algunos países tropicales. También es fuertemente cultivada en los sectores salinos del sur de Bolivia y del Norte de Chile. Uno de los factores importantes de la semilla de quínoa es su alto contenido proteico y una composición aminoacídica que es mejor balanceada, que la mayoría de los cereales (Ogungbenle, 2003).

Se ha observado que la mayoría de las variedades de la semilla de quínoa presentan sabor amargo y poseen un cierto grado de toxicidad, lo cual se debe a la presencia de saponinas (glucósido triterpenoide) en el pericarpio, sin embargo, se eliminan, por lavado y fricción. El contenido de saponinas en la quínoa puede variar entre un 0 a un 6% dependiendo de la variedad, las saponinas se ubican en la capa externa de la semilla, lo cual facilita su eliminación (Albarran, 1993; Vilche y col., 2003; Ruales y Nair, 1992; Comai y col., 2006; Silva, 2007; Rivera, 2007).

Como se muestra en la tabla 9.1 del Anexo 9.1. la harina de quínoa tiene un alto contenido de proteínas con un buen balance de aminoácidos como se muestra en la tabla 9.2 del anexo 9.1. en donde se puede observar la presencia 16 aminoácidos de los cuales 10 son aminoácidos esenciales (Araneda, 2004). La harina de quínoa contiene 11,2 % de humedad, 13,5 % de proteínas, 9,5 % de fibra, 58,3 % de carbohidratos y 1,2 % de minerales (Ogungbenle, 2003).

### **1.2.2. Características fisicoquímicas y estructurales de las proteínas de quínoa**

Las proteínas de quínoa pueden ser uno de los ingredientes alimenticios más prometedores, capaces de complementar el contenido proteico de cereales o legumbres. Las fracciones proteicas principales en la quínoa son las albúminas y globulinas. Tal como otras fuentes proteicas que contienen proteínas del tipo 11S, los aislados proteicos de quínoa también incluyen este tipo de proteínas llamadas en el caso de la quínoa “chenopodinas”, que en su estructura contienen subunidades ácidas (AS) y básicas (BS). La chenopodina está compuesta por (AS) ácidas y (BS) básicas con un peso molecular (PM) de aproximadamente 30.0 y 20.0 kDa, respectivamente (Rivera, 2006; Silva, 2006). Igual que lo señalado por Brinegar y Goudan (1993) se encontró que tal como otras globulinas 11S, la molécula chenopodina está conformada por subunidades que consisten AS y BS enlazadas por un enlace disulfuro. Además las bandas de las subunidades ácidas y básicas, aparece una banda de aproximadamente 54.0 kDa y algunos péptidos con un PM menor a 15 kDa. Los péptidos con PM menores a 20 kDa corresponden a los componentes de albúmina, según lo señalado por Brinegar y col., (1996).

### **1.2.3. Propiedades de solubilidad y su punto isoeléctrico, pI**

En cuanto a las variaciones de solubilidad de las proteínas con el pH, tienen que ver con las modificación de la carga neta de éstas y por lo tanto con su balance electrostático; en la zona cercana a su punto isoeléctrico (pI) la carga neta de las proteínas tiende a 0 y la variación de la solubilidad es mínima debido al aumento de la atracción entre las moléculas (Rivera, 2006; Silva, 2006; Abugoch, 2006b). El pI de las proteínas de quínoa estaría entre los pH 3 y 4, menor que el punto isoeléctrico reportado para harina de quínoa, el cual es pH 6 (Oshodi, 1999; Ogunbenle, 2003). Los resultados de solubilidad encontrados para un aislado proteico de quínoa extraído a pH 11 (A11) fue de 41,4 % a pH 11 (Silva, 2006) y menores a los informados por Rivera (2006), para un aislado proteico de quínoa obtenido a pH 9 (A9) (94,6% a pH11), pero concuerdan en que a pH alcalino se obtiene la mayor solubilidad, de igual manera coinciden con los resultados reportados para harina de quínoa en donde se reportó una solubilidad máxima a pH 10 de 50% y 45% (Ogunbenle, 2003; Oshodi y col., 1999).

### 1.3 Descripción General y Propiedades del Quitosano

#### 1.3.1. Descripción General

La quitina es el polímero natural más abundante luego de la celulosa, con la que guarda similitudes estructurales y como ella, funciona naturalmente como un polisacárido estructural, encontrándose en los exoesqueletos de crustáceos como cangrejos y camarones y en menor cantidad en la pared celular de hongos, bacterias, levaduras y en las cutículas de insectos. Es un polisacárido blanco, duro, inelástico y nitrogenado y constituye la mayor fuente de contaminación en las zonas costeras (Majeti y Kumar, 2000).

El quitosano ( $Q_0$ ) es el derivado N-desacetilado de la quitina, con un grado de desacetilación no menor al 65% (Majeti y Kumar, 2000). La definición de la ASTM F2103-01 define al  $Q_0$  como “un polisacárido lineal constituido por unidades de GlcNAc y de 2-amino-2-desoxi-D-glucopiranososa (GlcN, Glucosamina) unidas por enlaces glicosídicos  $\beta(1\rightarrow4)$ ”. La figura 1.1 muestra la estructura de la quitina, el  $Q_0$  y la celulosa.

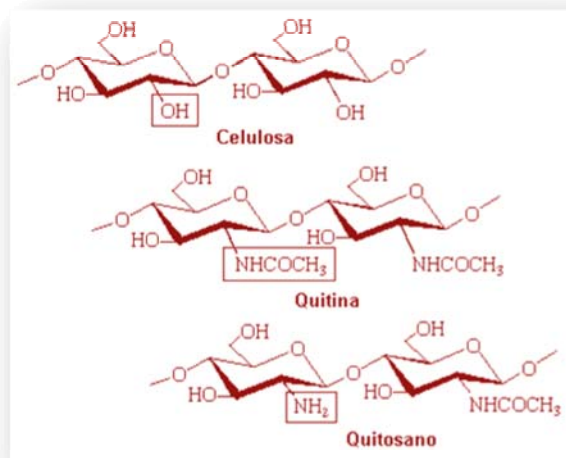


Figura 1.1. Estructura química de la celulosa, quitina y quitosano. En éste, las unidades desacetiladas se distribuyen azarosamente y deben estar presentes en un 65% como mínimo (Majeti y Kumar, 2000).

El  $Q_0$  puede ser obtenido fácilmente a partir de la quitina (Fig. 1.2). El procesamiento tradicional de los caparazones de crustáceos involucra la remoción de proteínas con hidróxido de sodio diluido y la disolución del carbonato de calcio presente en altas concentraciones con ácido clorhídrico. La quitina es luego decolorada exponiéndola al sol ó bien con permanganato de potasio y ácido oxálico. Finalmente, el producto es desacetilado con hidróxido de sodio concentrado y a altas temperaturas para obtener el  $Q_0$ . Este tratamiento produce  $Q_0$  con un grado de desacetilación cercano al 70% (Majeti y Kumar, 2000).

El peso molecular del  $Q_0$  varía entre  $1 \times 10^5$  a  $2,5 \times 10^6$  Da y es básico, con un  $pK_a$  aproximado de 6,3 (Majeti y Kumar, 2000). Es insoluble en agua, en ácidos concentrados, bases y los solventes orgánicos comunes, pero es soluble en ácidos minerales y orgánicos diluidos. La solubilización del  $Q_0$  se produce vía protonación de su grupo amino libre en ambientes ácidos y permanece en solución hasta un pH cercano a 6,2 después del cual comienza a formar precipitados similares a geles hidratados (Chenite y col., 2000).

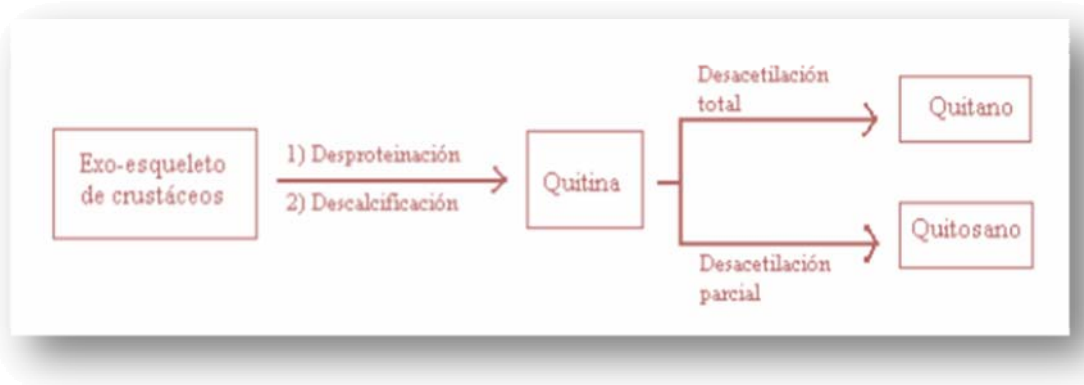


Figura 1.2. Procesamiento tradicional de los caparazones de crustáceos para la obtención de quitosano.

El  $Q_0$  es un copolímero catiónico no ramificado que puede ser modificado químicamente con el fin de alterar sus propiedades físicas y químicas. Es posible la modificación química del grupo amino y de los hidroxilos primario y secundario.



Derivatizaciones posibles incluyen su entrecruzamiento, eterificación, esterificación y copolimerización (Lloyd y col., 1998) y debido a esta versatilidad ha encontrado muchas aplicaciones tecnológicas y biomédicas, y esto debido a su biocompatibilidad, baja toxicidad, biodegradación y bioactividad (Majeti y Kumar, 2000). Más aún, el Q<sub>0</sub> es un material abundante, renovable y su producción es de bajo costo y de interés ecológico (Berger y col., 2004).

El término Q<sub>0</sub> es en realidad una denominación general para quitinas desacetiladas que difieren en el peso molecular y en el grado y sitios de desacetilación. Los métodos de producción y el origen son los principales responsables de estas diferencias y por tanto, la caracterización física y química del Q<sub>0</sub> es fundamental debido a que estos parámetros están relacionados con la funcionalidad (Chatelet y col., 2001).

### **1.3.2. Formación de *Films***

El Q<sub>0</sub> puede ser solubilizado en soluciones diluidas de ácidos minerales como el clorhídrico o ácidos orgánicos como el acético, láctico y cítrico. Una vez disueltos, los *films* de Q<sub>0</sub> se forman simplemente mediante la evaporación del solvente. Esta capacidad se debe a la formación de puentes de hidrógeno intra e intermoleculares en las cadenas de Q<sub>0</sub> (Ritthidej y col., 2002).

El quitosano posee actualmente un sin fin de aplicaciones en diversas áreas. En lo concerniente a la industria alimentaria, posee probados efectos antimicrobianos, por lo que se han realizado múltiples estudios en relación a esta propiedad (Lárez, 2003).

El quitosano, en su calidad de polímero formador de películas comestibles biodegradables, es mirado como una potencial alternativa para reemplazar al plástico como medio de empaque, lo que sin duda, se traduce en un mayor cuidado al medio ambiente (Hoyos, 1997).

Por otra parte, el quitosano es un biopolímero que forma películas con excelentes propiedades mecánicas, adhesivas y de permeabilidad, además de poseer propiedades antimicrobianas (Khan y col., 2000).

Las películas de quitosano son transparentes, firmes y algo flexibles y de buena barrera al oxígeno y se forman por moldeo de solución acuosa. Las películas basadas

en quitosano protegen los alimentos de la degradación por hongos y modifican la atmósfera de frutos frescos (Sebti y col., 2005).

Para el caso de la mezcla binaria Qo con proteínas de quínoa, se espera una primera interacción electrostática entre el Qo<sup>+</sup> que estará disuelto en medio ácido y el extracto acuoso proteico (EAP) a pH alcalino EAP<sup>-</sup>, se producirá la formación de un complejo Qo-EAP, se puede modular el comportamiento mecánico y de permeabilidad de las películas Qo-EAP mediante la modificación del pH. Estos diferentes comportamientos determinarán la forma en que se liga el agua lo que afectará el comportamiento mecánico y de permeabilidad de las películas. Con el objeto de formar un complejo polielectrolito, ambos polímeros tienen que estar ionizados y presentar sus cargas opuestas (Tapia, 2005; Tapia y col., 2005).

La aplicación de recubrimientos de quitosano se ha utilizado para aumentar la vida útil de diversas frutas como: peras, naranjas, melocotón y ciruelas como barrera para el dióxido de carbono y el oxígeno. Las coberturas de quitosano se han utilizado también en las semillas de trigo con el fin de incrementar la producción en el cultivo (Hoyos, 1997). Existen también estudios relacionados a la efectividad de las películas basadas en quitosano aplicadas a frambuesas, éstas son altamente perecibles debido a su alta tasa de respiración y su vulnerabilidad al ataque de hongos, el estudio fue desarrollado por Chunran y col. (2005) quienes presentaron resultados favorables al aplicar películas de solución de quitosano al 1% en frambuesas.

### **1.3.3. Propiedades Antimicrobianas**

El Q<sub>o</sub> inhibe el crecimiento de una gran variedad de hongos, levaduras y bacterias. En soluciones diluidas de ácidos las cargas positivas del Q<sub>o</sub> interactúan con los residuos cargados negativamente de las macromoléculas de la superficie celular de los microorganismos presumiblemente en competencia con el Ca<sup>2+</sup> por los sitios electronegativos de la membrana, pero sin conferir estabilidad dimensional, lo que compromete la integridad de la membrana produciendo entonces su debilitamiento (Begin y Van Calsteren, 1999). Debido a esta habilidad de formar *films* comestibles o biodegradables activos (Arai y col., 1968), se puede esperar que el recubrimiento con Qo limite la contaminación en la superficie de los alimentos (Sebti y col., 2005).

Según un estudio sobre la influencia del Qo como recubrimiento bioactivo sobre la contaminación con *Aspergillus niger*, demuestra que los *films* y recubrimientos en base a Qo ofrecen grandes ventajas en la prevención del crecimiento de *A. niger* en la superficie de los alimentos, incluso a muy bajas concentraciones de Qo (Sebti y col., 2005). En este estudio evaluó la actividad antimicrobiana en medio de Agar *Sabouraud* y en medio líquido *sabouraud* donde demostró que una solución de quitosano al 1% obtuvo un 100% de inhibición sobre *Aspergillus niger*, el que fue previamente inoculado en medio de Agar *sabouraud* en diferentes concentraciones desde 100 a 10.000 esporas e incubado 5 días a 30°C.

#### **1.3.4. Biodegradación**

Es deseable que los biopolímeros sean biodegradables y que no generen productos dañinos como resultado de su degradación (Jagur-grodzinski, 1999). Varios estudios han demostrado que la quitina y el Q<sub>o</sub> son polímeros que se biodegradan *in vivo* debido a su susceptibilidad a la hidrólisis enzimática de los enlaces  $\beta(1\rightarrow4)$  mediada por lisosima, enzima omnipresente en el organismo humano. Sus productos de degradación son oligosacáridos o monosacáridos, metabolitos naturales que son luego absorbidos y pueden ser incorporados a las rutas metabólicas de glicosaminoglicanos o glicoproteínas, o bien, excretados (Chatelet y col., 2001).

#### **1.4. Films Comestibles**

Los recubrimientos y *films* han sido usados por muchas décadas para proteger a los alimentos del ataque microbiológico y para prevenir la pérdida de agua durante el almacenamiento. El gran interés que han mostrado los consumidores de esta generación por la calidad de los alimentos que están consumiendo ha intensificado la investigación en esta área. El desarrollo de envases sintéticos se justifica debido a su eficiencia para reducir la transferencia de masa entre el alimento y el medio donde se encuentra almacenado, para esto ha sido necesaria la determinación de la permeabilidad. El constante mejoramiento de los envases sintéticos, tales como la resina, celulosa y *films* plásticos, han permitido el uso del *composite* (copolímero) y/o envases de *films* multilaminados, los que son capaces de reducir en forma selectiva la transferencia tanto de gases como de solutos (Debeaufort, 1998).

Sin embargo, la conveniencia del uso de *films* plásticos no es universal. La combinación de envases sintéticos y comestibles fue propuesta para así incrementar la eficiencia en la preservación de la calidad de los alimentos en el envasado. Por otro lado, los envases comestibles no contaminan ya que están compuestos por sustancias biodegradables naturales. Por lo tanto, contribuyen a la protección del medio ambiente (Debeaufort, 1998).

Muchas materias primas de origen biológico, incluyendo polisacáridos, proteínas, y lípidos, solos o en mezclas, han sido propuestas para la preparación de *films* comestibles o recubrimientos (Viroben col., 2000).

Los polisacáridos (almidón, carragenatos, pectina, quitosano), son capaces de formar una matriz estructural, algunos de estos también funcionan como plastificantes y en cuanto a la permeabilidad, las películas elaboradas con polisacáridos generalmente presentan buenas barreras a la humedad y propiedades mecánicas moderadas. Las proteínas (colágeno, gelatina, gluten de trigo, aislados proteicos de soya, proteínas de la leche), presentan barreras más débiles que los polisacáridos al vapor de agua pero por otro lado desarrollan muy buenas propiedades de barrera al oxígeno y propiedades mecánicas que son muy favorables para recubrir alimentos. Por último, los lípidos (acetoglicéridos, ceras, surfactantes) son de gran ayuda para proteger al alimento.

Algunos pocos estudios recientes se han enfocado en optimizar las condiciones bajo las cuales se elaboran los *films* para así mejorar sus propiedades mecánicas (deformación, resistencia a la ruptura, adhesividad) y de barrera. Para las aplicaciones tanto de envasado como de recubrimiento, el control de la permeabilidad al agua y al gas (oxígeno y dióxido de carbono) ha sido una característica que tiene mucha influencia en la estabilidad de los alimentos durante el almacenamiento (Viroben y col., 2000).

Siendo las recién mencionadas unas de las principales propiedades con las que debe cumplir un *film* o recubrimiento, existen otras características funcionales de suma importancia con las que también debiera cumplir este tipo de envase tales como; características sensoriales aceptables, estabilidad microbiológica, bioquímica y fisicoquímica adecuadas, que sea inocua, que sea un buen medio para la adición de distintos aditivos (antioxidantes, saborizantes, colorantes) si fuese necesario. Y en lo

técnico-económico, que las materias primas sean de bajo costo y que su tecnología de elaboración sea simple, entre otros.

Como ya se sabe, los materiales elaborados en base a quitosano, pueden ser utilizados en la elaboración de *films* comestibles debido a su propiedad única de aumentar significativamente su viscosidad a medida que se va hidratando. Además, los *films* de quitosano son firmes, elásticos, flexibles y muy difíciles de romper. La mayoría de las propiedades mecánicas son comparables a aquellas correspondientes a muchos de los polímeros comerciales de fuerza media (You-Jin y col., 2002).

Se ha demostrado que los *films* de quitosano tienen una permeabilidad moderada al vapor de agua y ayuda a incrementar la vida útil de productos alimenticios frescos que tienen una alta actividad de agua (aw) (Kittur y col., 1998).

En cuanto a los *films* comestibles elaborados en base a proteínas de la quínoa, no existen estudios, pero se espera que sean un aporte en la elaboración de *films* comestibles ya que películas hechas con proteínas enriquecidas con globulinas principalmente del tipo 11S como las que posee la quínoa, estabilizadas por puentes disulfuro, permite que las proteínas, al momento de evaporar el solvente polimericen y formen películas con mejores propiedades mecánicas debido a los enlaces covalentes de mayor energía que se pueden establecer en este tipo de proteínas al aplicar temperatura y permitir su polimerización (Gennadiós y Weller, 1990; Castimpolas, 1971; Cao y Chang, 2001; Choi y Han, 2002).

## 2. HIPÓTESIS

Es posible la obtención de películas biodegradables comestibles de mezcla de proteínas de quínoa y quitosano sin la adición de plastificantes. Se espera que el aporte de proteínas de quínoa a la mezcla formadora del *film*, potencie las propiedades mecánicas, de barrera al oxígeno, vapor de agua que tienen los *films* elaborados en base a quitosano y que permitan su uso en la industria de alimentos

## 3. OBJETIVOS

### 3.1. Objetivo General

Elaborar y caracterizar películas comestibles biodegradables en base a mezcla proteínas de quínoa (EAP) y quitosano (Qo) y determinar las condiciones óptimas para la fabricación de ésta.

### 3.2. Objetivos Específicos

- Determinar las condiciones en las que se utilizarán las proteínas de quínoa para la elaboración de *films* en mezclas con Qo.
- Determinar la relación óptima entre las proteínas de quínoa y quitosano (Qo) para la elaboración de películas comestibles: en esta etapa se determinarán preliminarmente las propiedades mecánicas (Alargamiento Porcentual (A%) y Esfuerzo de Tracción en la Ruptura (ETR  $\text{Nmm}^{-2}$ )).
- Caracterizar los *films*, evaluando las propiedades mecánicas, de permeabilidad al vapor de agua y  $\text{O}_2$  y de algunos parámetros fisicoquímicos en el *film* de mezcla seleccionado luego de los estudios preliminares y compararlos con las propiedades que presentan los *films* elaborados sólo en base a quitosano.
- Construir y comparar las curvas de secado tanto para el *film* de mezcla, como para el *film* de quitosano y construir y analizar por medio de modelos (BET y GAB) una isoterma de sorción del *film* de mezcla seleccionado.
- Analizar la microestructura del *film* de mezcla por medio de microscopía electrónica de barrido.

## 4. MATERIALES Y EQUIPOS

### 4.1. Materiales

#### 4.1.1. Materia Prima

- Semillas de quínoa orgánica proveniente de la localidad de La Plaza en la comuna de Pichilemu (VI Región), Chile. Del agricultor Crispulo Leiva, obtenida a través del Sr. Pablo Jara.
- Quitosano (Q<sub>0</sub>) marca SIGMA (USA), cuya fuente es caparazón de cangrejo con un 85% mínimo de desacetilación y un peso molecular viscosimétrico de 4,08 x 10<sup>5</sup> Da.

#### 4.1.2. Reactivos químicos.

- Acetato de potasio, p.a. Bioaxis.
- Ácido láctico 85% W y Z ac-0100. USA.
- Ácido orto-fosfórico 85% (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) p.a Merck. Darmstadt, Alemania
- Alcohol etílico (Etanol) (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O) p.a Winkler. México
- Azul brillante de coomasie G-250 (C<sub>47</sub>H<sub>50</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>7</sub>S<sub>2</sub>) Baker.USA
- Bromuro de sodio, p.a. Fluka A.G. Suiza.
- Carbonato de potasio, p.a. Merck. Alemania.
- Cloruro de litio, p.a. Merck. Alemania.
- Cloruro de magnesio, p.a. W y Z. México.
- Cloruro de potasio, p.a. Merck. Alemania.
- Cloruro de sodio, p.a. Panreac. USA.
- Estándar: seroalbúmina de bovino (BSA). Sigma. USA
- Hexano de grado técnico. Sudelab. Chile
- Hidróxido de sodio (NaOH) W y Z.
- Sulfato de potasio, p.a. Purom.

#### **4.1.3. Insumos y utensilios**

- Agua destilada
- Bandejas de acero galvanizado de 30 mallas de 44 cm x 24 cm
- Cápsulas de aluminio
- Copas de vidrio
- Cubetas de plástico
- Espátulas
- Frascos de vidrio
- Gradilla
- Magnetos
- Material de vidrio de laboratorio
- Micropipetas
- Papel filtro Whatman n°1
- *Parafilm*
- Pinzas
- Placas de polietileno de baja densidad (10x10x1 cm<sup>3</sup>).
- Potes plásticos
- Tubos Ependorf
- Tubos para centrifuga

#### **4.2. Equipos e Instrumentos**

- Agitador Cenco N° 34525-200
- Agitador eléctrico vortex Thermolyne, tipo 37600 Mixer, model N° M37610-26, serie N° 871570819103
- Agitador magnético Magnetic Stirrer HI 190M Hanna Instruments, serie S229370
- Balanza analítica Adam PW124.
- Balanza analítica Mettler Toledo, AG135, snr 1121140784, hecho en Suiza
- Balanza analítica Precisa 125 A Swiss Quality
- Balanza granataria AND, model EK 120-A
- Cámara de refrigeración FríoLux



- Centrifuga Heraeus Sepatech Suprafuge 22, Alemania
- Equipo OXTRAN MS-2/20 de la casa Mocon Inc.
- Espectrofotómetro de fluorescencia perkin Elmer, model LS50B, serie N° 32938  
N° L225-0105
- Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11 N°BC11 230V, serie NR30031
- Espectrofotómetro UNICAM UV/Vis, type UV3-200, N° UV 3022809, hecho en Inglaterra
- Estufa Heraeus Instruments D-63450 Hnau, type UT 6200, hecho en Alemania
- Estufa Heraeus, type TU 60/60, N° 2760-02, Alemania
- Estufa WTB binder, tipo 1924090000200, N° 940107
- Filtro de membrana Sartorius Goettingen 16249, Alemania
- Máquina universal de ensayo de materiales (Lloyd Instruments Limited, Lloyd LR- 5K. Hampshire, England), con una celda de 5 kN.
- Microcentrífuga Hermle Z160 Herteller Spintron, Alemania
- Microscopio de Barrido Jeol JSM
- Molino de impacto Retsh Muhle GmbH West-Germany, type SR-2 N°73454
- Novasina RTD-200, Suiza.
- PHmetro microprocesador pH 537 WTW, hecho en Alemania
- Refrigerador Mademsa
- Tamizador Erweka AR400, Alemania.
- Turbidímetro Hanna instruments HI93703, Portugal.
- Viscosímetro Brooxfield RVT, USA.

## 5. MÉTODOS

### 5.1. Preparación de la Harina de Quínoa.

El proceso de obtención de harina siguió las siguientes etapas (Pearson, 1976, Araneda, 2004):

- Recepción de semillas: Se recibieron semillas de Quínoa envasada en sacos de papel kraft doble. Una vez determinada la humedad, estas fueron almacenadas a temperatura ambiente y en lugar seco.
- Limpieza: Se limpió la quínoa en forma manual retirando impurezas, tales como, ramas, palos, piedras y restos de insectos.
- Lavado: Esta operación se realizó en forma manual retirando el total de las saponinas presente en el grano a través de la eliminación de espuma durante el lavado. Se hicieron tantos lavados con agua fría como fue necesario para eliminar la espuma correspondiente a la saponina.
- Ajuste de humedad: Se ajustó el contenido de humedad hasta un  $15 \pm 1\%$  mediante secado en estufa a  $50^{\circ}\text{C}$ .
- Determinación de humedad: Se realizó según el método oficial de análisis de AOAC Internacional, 935.29, método gravimétrico, 1995.
- Molienda: Esta operación se efectuó en molino de martillo-cuchillo, Retsh Muhle GmbH.
- Tamizado: Este se realizó mediante un tamiz de 60 mesh.
- Desgrasado: Consistió en mantener una suspensión al 10 % p/v de harina de quínoa con hexano de grado técnico en continua agitación, a  $4^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas y para luego ser filtrada al vacío y dejar secando en bandejas a  $22^{\circ}\text{C}$  (Abugoch, 2006).
- Almacenamiento: Se almacenó en papel kraft a temperatura ambiente y en desecador.

## **5.2. Elaboración del extracto acuoso proteico de quínoa y optimización del proceso de extracción.**

- Se utilizó harina desgrasada (H) y se suspendió en distintas cantidades de agua destilada (A) para determinar la proporción H : A (p/p) que resultase más eficiente en cuanto al rendimiento de la extracción. Se trabajó con las siguientes proporciones; (1:10; 1:7,5; 1:5).
- Se sometieron a agitación a temperatura ambiente ajustando a diferentes pH entre 7 y 9 con NaOH 1 N (Abugoch, 2006b).
- Luego se usaron dos métodos de separación física: centrifugación por 30 min a 14000 rpm y filtración por membranas utilizándose sólo el prefiltro a una presión de 60 psi.
- Luego a los distintos extractos se les cuantificó la cantidad de proteínas solubles siguiendo el método descrito por Bradford (1976).
- El sistema de optimización del proceso se describe en el diagrama de la figura 9.1. del anexo 9.2.

## **5.3. Preparación de las Soluciones de Quitosano**

Se utilizó quitosano ( $Q_0$ ) marca SIGMA (USA), cuya fuente es caparazón de cangrejo con un 85% mínimo de desacetilación y un peso molecular viscosimétrico de  $4,08 \times 10^5$  Da.

Se prepararon soluciones con este  $Q_0$  al 1% y al 2% p/v en solución de ácido láctico al 1% p/v, disolviendo el  $Q_0$  con agitación constante durante 3 horas. Las soluciones se dejaron en reposo en un refrigerador a 4°C durante al menos 24 horas antes de ser utilizadas con el fin de eliminar las burbujas.

#### 5.4. Preparación del extracto acuoso proteico de quínoa (EAP).

Luego de haber optimizado el proceso de elaboración del extracto acuoso proteico de acuerdo a lo señalado en el punto 5.3, éste quedó determinado de la siguiente forma.

Se preparó una suspensión de harina desgrasada en agua destilada en una proporción H:A (1:7,5, % v/v), se agitó por una hora a temperatura ambiente ajustando la solución a pH 9 con NaOH 1 N. Posteriormente se sometió a separación física por centrifugación por 1h a 7000 rpm. y se recuperó el sobrenadante, siendo este el extracto acuoso proteico.

#### 5.5. Preparación de los *films* de quitosano

Se agregó 25 mL de solución de Q<sub>o</sub> (1%) sobre placas de polietileno de baja densidad con medidas de 10x10x1 cm que luego se sometieron a secado en una estufa a 50°C alrededor de 5 h hasta evaporar el agua y llegar a peso constante, obteniéndose los *films* de Q<sub>o</sub> en ácido láctico de grado técnico, (w y z). al 1%, los que fueron cuidadosamente extraídos de las placas y luego almacenados en una cámara a 22°C y 60% H.R. (Fig. 5.1)

Fig.5.1.a



Fig. 5.1.b



Figura 5.1: (a) Placas con solución de quitosano, en proceso de secado en estufa a 50°C. (b) Film de quitosano (1%).

## 5.6. Preparación de los *films* de mezcla.

Según la proporción proteína: quitosano (EAP:Qo), a utilizar para la mezcla, el proceso de elaboración de los *films* de mezcla en forma estándar es el siguiente:

- Se mezcló la proporción (EAP:Qo(2%)) correspondiente a la mezcla a realizar (1:4; 1:1; 4:1). (Fig. 5.2.a)
- Se agitaron durante 1h a temperatura ambiente (Fig.5.2.b) y se llevó a pH 3 con ácido láctico al 85%, para que se solubilizara la mezcla (Fig 5.2.c).
- Se agregó 25 mL de solución de mezcla EAP:Q sobre placas de polietileno de baja densidad ya descritas anteriormente que luego se sometieron a secado en una estufa a 50°C durante aproximadamente 7 horas hasta evaporar el agua y llegar a peso constante, obteniéndose los *films* de mezcla los que fueron cuidadosamente extraídos de las placas y luego almacenados en una cámara a 22°C y 60% H.R. (Fig 5.2.d).

Fig.5.2.a

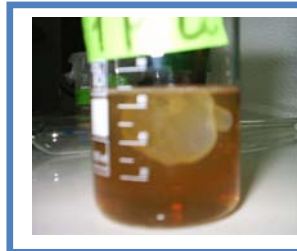


Fig.5.2.b



Fig.5.2.c



Fig.5.2.d



Figura 5.2. (a) Imagen inicial del extracto al agregarle la solución de quitosano. (b) Mezcla sin ajuste de pH, no solubilizada. (c) Solución de la mezcla ajustada a pH 3. (d) Films de mezcla.

### 5.7. Determinación de la relación óptima EAP : Qo para la elaboración de los *films* de mezcla.

Se eligieron tres proporciones de mezcla de EAP : Qo (v/v): 1:4 - 1:1 - 4:1 y se sometieron a análisis preliminares de sus propiedades mecánicas.

### 5.8. Determinación de las propiedades fisicoquímicas

Se le determinó la actividad de agua ( $a_w$ ), a ambos *films* (mezcla y Qo). Para esto se utilizó el equipo NOVASINA. A las soluciones de Qo, al extracto acuoso de proteico y a la solución de mezcla se les midió la viscosidad por medio del viscosímetro de Brookfield, modelo RVT, UK. Finalmente se les realizó mediciones de turbidez a estas mismas soluciones, utilizando un turbidímetro de Hanna Instrument, modelo HI93703.

### 5.9. Obtención de la curva de secado de los *films*.

La determinación de la cinética de secado, se realizó por duplicado a las soluciones formadoras de *films*. Éstas se dispusieron en placas de polietileno de baja densidad de medidas (10x10x1cm) y se sometieron a secado constante a 50°C, determinando el peso de las placas cada 10 minutos hasta peso constante, tiempo en el cual se sacaron los *films* de la estufa. Las humedades iniciales ( $X_o$ ) y de equilibrio ( $X_{eq}$ ) se determinaron según el método descrito por la AOAC, 1995. Los parámetros de la cinética de secado, se muestran en la siguiente tabla (5.1).

**Tabla 5.1.** Descripción de los parámetros en la cinética de secado de las soluciones formadoras de *films*.

Parámetro	Descripción	Unidad
$X_o$ (b.s)	Humedad inicial en base seca	S.U <sup>(1)</sup>
$X_c$ (b.s)	Humedad crítica en base seca	S.U
$X_{eq}$ (b.s)	Humedad de equilibrio en base seca	S.U
N	Velocidad de secado	(g /min*cm <sup>2</sup> )
Nc	Velocidad de secado constante	(g /min*cm <sup>2</sup> )
$\theta$	Tiempo de secado	min
$\Theta_c$	Tiempo de secado a Nc	min
Def	Difusividad efectiva	cm <sup>2</sup> /min

<sup>(1)</sup> Sin unidad

Se procedió a construir curvas de secado ( $dX/dt$ ) y ( $dN/dX$ ) para así observar como es la cinética de secado de ambos *films* y poder compararlas. Se utilizó para graficar el programa *Origin 6.0*, del cual se usó la herramienta *baseline* para suavizar las curvas y ajustarlas lo más posible al modelo de cinética de secado.

La ecuación que determina la velocidad de secado  $N$  ((g /min.cm<sup>2</sup>) es la siguiente:

$$N = \frac{Ls}{A} \left( \frac{-\partial X}{\partial \theta} \right) \quad \text{Ec. 5.1.}$$

Donde:  
 Ls, es la masa de sólido seco.  
 A, es el área de secado.  
 $\Delta x$ , es la pérdida de humedad.  
 $\Delta \theta$ , es el tiempo.

Una cinética de secado está conformada por distintos períodos y se comporta según lo demuestra la figura 5.3.

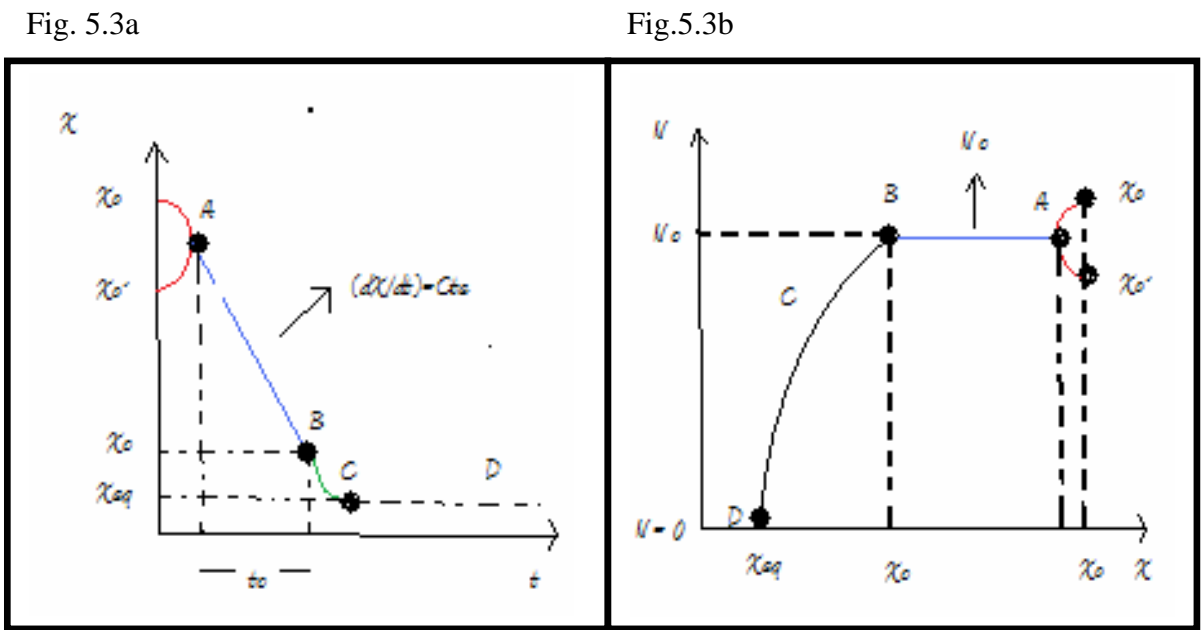


Figura 5.3. Gráfico (a)  $\left(\frac{\partial X}{\partial \theta}\right)$  y (b)  $\left(\frac{\partial N}{\partial X}\right)$  de la cinética de secado.

Donde,

Periodo Xo, Xo'-A, es el período de “estabilización”, donde las condiciones de la superficie del sólido se equilibran con las del aire de desecación. Con frecuencia esta fase constituye una proporción despreciable del ciclo total de desecación, pero en algunos casos puede ser significativa (Mc Cabe y col, 1985).

Periodo A-B, este período se denomina de velocidad constante ya que su gradiente  $N = \left(\frac{\partial X}{\partial \theta}\right) = \text{Cte}$ , durante esta fase la superficie del sólido se mantiene saturada de agua líquida debido a que el movimiento del agua desde el interior del sólido a la superficie ocurre a la misma velocidad que la de evaporación en la superficie. La desecación tiene lugar por movimiento del vapor de agua desde la superficie saturada, a través de una delgada capa de aire estático, hasta la corriente principal de aire de desecación. Durante esta fase la velocidad de desecación es dependiente de la velocidad de transferencia de calor a la superficie de desecación. La velocidad de transferencia de masa se equilibra con la velocidad de transferencia de calor de forma que la temperatura de la superficie de desecación se mantiene constante (Mc Cabe y col, 1985).

Periodo B-D, al avanzar la desecación se alcanza un punto en el que la velocidad de movimiento de la humedad desde el interior del producto hasta la superficie se reduce en grado tal que la superficie comienza a secarse. En dicho punto (B), la velocidad de desecación comienza a descender, iniciándose el período de velocidad decreciente. El contenido de humedad del producto en el punto B se denomina contenido crítico de humedad ( $X_c$ ). A partir del punto B la temperatura de la superficie comienza a elevarse, elevación que persiste durante la desecación, hasta aproximarse a la temperatura de bulbo seco del aire cuando el producto se ha desecado casi totalmente. El secado se interrumpe al llegar al punto D que es cuando alcanza  $X_{eq}$ . Este período de velocidad decreciente puede dividirse en dos partes (B-C y C-D), con diferentes comportamientos de la velocidad de secado, la cual decrece cada vez más al disminuir la humedad del sólido. Esto implica dos modelos de secado diferente en dicha zona (Mc Cabe y col, 1985).

Es en esta etapa (período decreciente de secado), donde se puede realizar el cálculo de Difusividad efectiva ( $Def$ ), ya que se asume que la humedad fluye por difusión a través del sólido (Mc Cabe y col, 1985).



La siguiente ecuación muestra la segunda Ley de Fick, donde es posible obtener modelos semi-empíricos para determinar el coeficiente de difusión efectivo ( $D_{ef}$ ) (Mc Cabe y col, 1985).

$$\frac{dX}{dt} = D_{ef} \frac{\partial^2 X}{\partial x^2} \quad \text{Ec.5.2.}$$

Considerando que la distribución inicial de humedad es uniforme ( $X=X_0$  en  $t=0$ ) y que la superficie está en equilibrio con el medio de secado, ( $X=X_e$  en  $x= \pm L/2$ ) la ecuación 5.2. se integra: (Mc Cabe y col, 1985).

$$\frac{X - X_e}{X_0 - X_e} = \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{2n+1} \exp\left(- (2n+1)^2 \frac{\pi^2 D_{ef} t}{L^2}\right) \quad \text{Ec.5.3.}$$

Una simplificación usual es utilizar una solución asintótica de la ecuación anterior (5.3), que consiste en reducir la serie infinita al primer término, debido a que los términos superiores se hacen muy pequeños para tiempos largos (Mc Cabe y col, 1985):

$$\frac{X - X_e}{X_0 - X_e} = \frac{8}{\pi^2} \exp\left(- \frac{\pi^2 D_{ef} t}{L^2}\right) \quad \text{Ec.5.4.}$$

Donde,

$X$  = Contenido de humedad (kg de agua/kg de sólido seco, base seca);

$X_e$  = Contenido de humedad de equilibrio (kg de agua/kg de sólido seco, base seca);

$X_0$  = Contenido de humedad inicial (kg de agua/kg de sólido seco, base seca);

$D_{ef}$  = Difusividad efectiva ( $m^2/s$ )

$t$  = Tiempo (s)

$L$  = Espesor de la placa (m)

Luego, el valor de  $D_{ef}$  fue calculado por la pendiente de la curva  $\ln((X-X_e)/(X_0-X_e))$  versus tiempo (t).

### 5.10. Determinación de las propiedades mecánicas

Se evaluaron el alargamiento porcentual (A%) y el esfuerzo de tracción en el corte (ETR) en  $Nmm^{-2}$ , de acuerdo con la Norma Oficial Chilena Nch1151.Of.76, equivalente a la norma internacional ISO R1184-1970, con algunas modificaciones que se detallarán a continuación.

Se utilizaron 4 *films* de cada material con dimensiones de 10 mm de ancho y 50 mm de largo. Las mediciones se realizaron en la máquina universal de ensayo de materiales (Lloyd Instruments Limited, Lloyd LR- 5K. Hampshire, England), con una celda de 5 kN.

Los *films* fueron puestos entre dos mordazas de aluminio separadas por una distancia de 3 cm, diseñadas para las mediciones de acuerdo a la norma ASTM, instaladas en la máquina universal de ensayo de materiales. Se apretaron las mordazas firme y uniformemente para evitar que los *films* se deslizaran durante los ensayos. Los *films* fueron traccionados por la mordaza superior a una velocidad de 20 mm/min. Se registró la curva Carga vs. Alargamiento hasta el punto de ruptura de los *films* (Fig. 5.4).

Fig.5.4.a

Fig.5.4.b

Fig.5.4.c

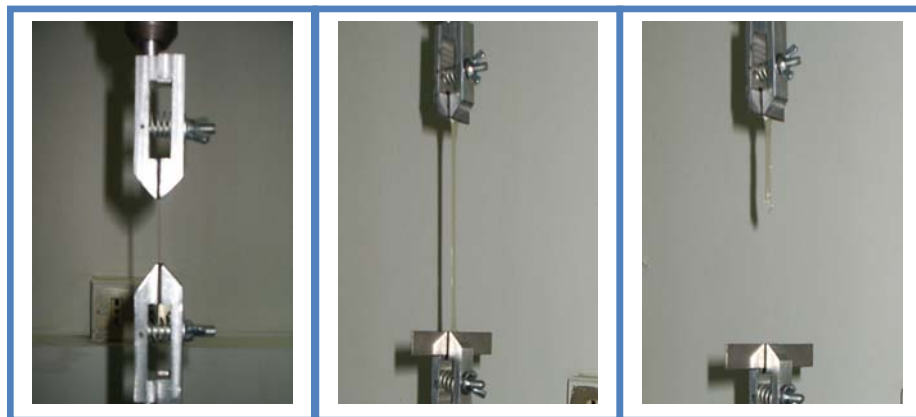


Figura 5.4. (a) Secuencia del análisis al comienzo de la medición (a), antes de su ruptura (b) y una vez provocada la ruptura (c).

Se calcularon el A% y el ETR de acuerdo con las ecuaciones 5.5, 5.6 y 5.7 al momento de producirse el corte del *film* con los datos entregados por el *software* de control del analizador de textura. Los *films* para los cuales la ruptura se produjo en las mordazas o se originó por un defecto evidente se descartaron y fueron reemplazados por otros.

$A\% = \frac{D_f - D_i}{D_i} \times 100$	A% = Alargamiento porcentual	<b>Ecuación 5.5</b>
	$D_f$ = Distancia de alargamiento hasta la ruptura, en mm	
	$D_i$ = Distancia inicial entre las líneas de referencia, en mm	

$ETR = \frac{C}{A_R}$	ETR = Esfuerzo de tracción en la ruptura, en $Nmm^{-2}$	<b>Ecuación 5.6</b>
	C = Carga máxima en la ruptura del <i>film</i> , en N	
	$A_R$ = Área transversal inicial del <i>film</i> , en $mm^2$	

$A_R = \varepsilon \times A$	$A_R$ = Área transversal inicial del <i>film</i> , en $mm^2$	<b>Ecuación 5.7</b>
	$\varepsilon$ = Espesor del <i>film</i> , en mm	
	A = Ancho del <i>film</i> , en mm	

En la figura 5.5 se diagraman aquellos puntos importantes en el cálculo de las propiedades mecánicas descritas en este trabajo. El ETR se calcula dividiendo la fuerza máxima en el corte por el área de la sección transversal inicial de los *films*. El A% se calcula dividiendo el alargamiento máximo en la ruptura por el largo inicial del *film*.

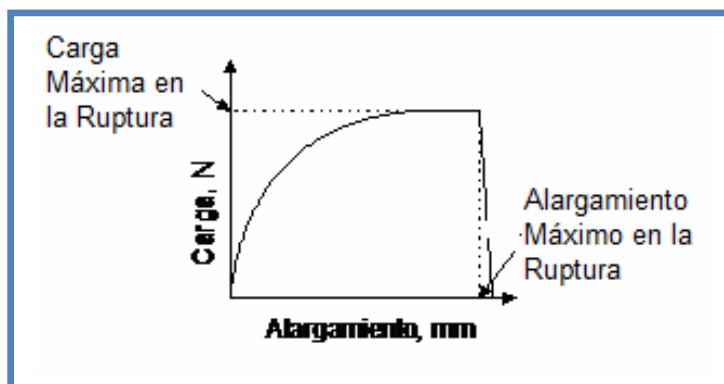


Figura 5.5. Diagrama del gráfico Carga vs. Alargamiento, del que se obtuvieron los datos de las propiedades mecánicas de los *films*.

### 5.11. Determinación del grado de transmisión de vapor de Agua (TVA).

El ensayo se realizó de acuerdo con la Norma Chilena Oficial NCh2098.Of2000, equivalente a las normas ASTM D1653-93 y DIN 52615, utilizando el método de la copa húmeda y ensayando 12 *films* de mezcla (1:1).

Las copas se llenaron con agua destilada hasta alcanzar una distancia de 6 mm medidos desde el borde superior, sobre el cual se montó el *film* de igual diámetro. Finalmente se sellaron con silicona los bordes de contacto entre el *film* y la copa (Fig. 5.6).

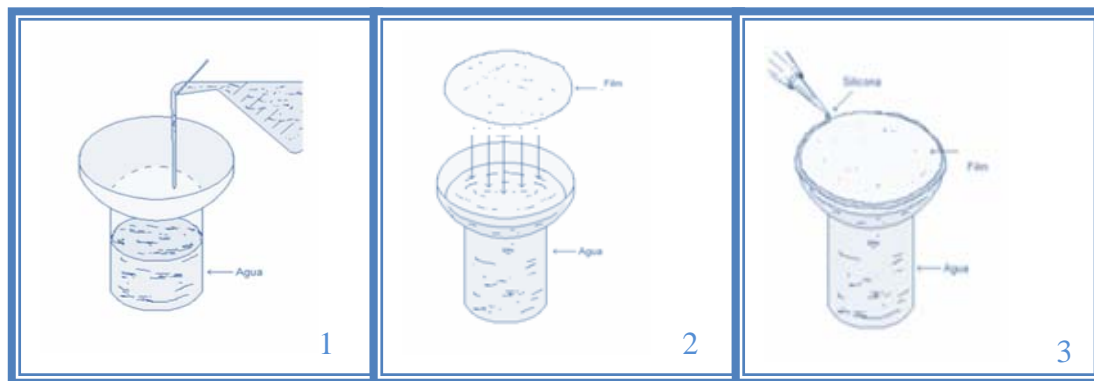


Figura 5.6. Sistema de medición del TVA.

- (1) Se llena la copa con agua destilada hasta 6 mm antes del borde superior.
- (2) Se coloca el *film* del polímero a ensayar
- (3) Los bordes de contacto entre la copa, el papel y el *film* se sellan con silicona. El sistema se mantiene en una sala a temperatura y humedad controladas (22°C; 60% HR) durante los 21 días que dura el ensayo.

Las copas se colocaron en una sala con humedad y temperatura controladas ( $58 \pm 2\%$  HR;  $22 \pm 0,6^\circ\text{C}$ ) y cada 24 horas y por un periodo de 21 días se registró su cambio de peso utilizando una balanza electrónica (Chyo, modelo mj-300, Japón). También se registraron diariamente las condiciones de la sala de ensayo mediante la información entregada por el sistema de control del acondicionador de aire (York, modelo mch12pm, EE.UU.), por un higrómetro y un termómetro de máximas y mínimas.

Para el cálculo del TVA se graficó el cambio de masa de las copas en función del tiempo transcurrido. La pendiente de la porción lineal de este gráfico que mejor se

ajustó a una recta (coeficiente de regresión,  $r^2$ , cercano a 1) representó la estabilización de la difusión de vapor de agua a través de los *films* por unidad de tiempo (g/h), que luego se normalizó por el área de los *films* utilizados. El valor obtenido es el TVA de los *films* ensayados, que se expresó entonces como los gramos de agua evaporados por hora y por unidad de área del *film* (ecuación 5.8).

$\text{TVA} = \frac{\Delta m}{t \times A}$	TVA = Grado de transmisión de vapor de agua, en $\text{gm}^{-2}\text{h}^{-1}$	<b>Ecuación 5.8</b>
	$\Delta m$ = Cambio de masa ocurrido en el tiempo, en g	
	t = Tiempo entre lecturas, en h	
	A = Área de ensayo de la muestra, en $\text{m}^2$	

Estudios realizados por Hu y col. (2001) relacionados con el método de la copa húmeda demostraron que el TVA de *films* poliméricos de pequeño espesor y con TVA moderados a altos depende del espesor y del área expuesta de los *films* en estudio. Debido a que el área de los *films* ya se considera dentro de la fórmula para el cálculo del TVA, sólo se necesita corregir multiplicándolo por el espesor, obteniendo entonces el Grado de Transmisión de Vapor de Agua Específico,  $\text{TVA}_\varepsilon$ , con unidades de  $\text{mmgm}^2\text{h}^{-1}$  (ecuación 5.9).

$\text{TVA}_\varepsilon = \frac{\Delta m}{t \times A} \times \varepsilon$	$\text{TVA}_\varepsilon$ = TVA específico, $\text{mm gm}^{-2}\text{h}^{-1}$	<b>Ecuación 5.9</b>
	$\Delta m$ = Cambio de masa ocurrido en el tiempo, g	
	t = Tiempo entre lecturas, en h	
	A = Área de ensayo de la muestra, en $\text{m}^2$	
	$\varepsilon$ = Espesor de los <i>films</i> , mm	

En la figura 5.7 se muestra la secuencia del análisis realizado de T.V.A.

Fig.5.7.a



Fig.5.7.b



Fig.5.7.c



Fig.5.7.d



Figura 5.7. Secuencia del análisis de T.V.A. (a) Se llena con agua destilada. (b) y (c) Se coloca el *film* sobre la copa y finalmente (d) se dejan selladas con silicona.

## 5.12. Determinación de la Permeabilidad al oxígeno.

La tasa de transmisión del oxígeno se realizó en conformidad con la norma ASTM D3985-95 (*Oxygen gas transmission rate through plastic films and sheeting using a coulometric sensor*), utilizando el equipo OXTRAN MS-2/20 de la casa Mocon Inc, dotado con un sensor coulométrico. El ensayo se llevó a cabo a 23° C y 0% de humedad relativa.

## 5.13. Isotermas de sorción de los *films*.

### 5.13.1. Elaboración de las isotermas de sorción de los *films*.

La metodología consistió en dejar en equilibrio una masa conocida de muestra con su atmósfera, en un recipiente cerrado herméticamente, el cual contiene una disolución saturada de sal de actividad de agua conocida (Tabla 5.2). A partir de ese

momento se controló el peso de la muestra en el tiempo, hasta que se llegó a peso constante (condición de equilibrio). También se determinaron las humedades iniciales y de equilibrio.

Tabla 5.2. Sales con sus respectivas actividades de agua ( $A_w$ ) a 20°C, utilizadas para la determinación de la isoterma de adsorción.

Nomenclatura	Sal	$A_w$ (20°C)
LiCl	Cloruro de Litio	0,113
KC <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	Acetato de Potasio	0,23
MgCl <sub>2</sub>	Cloruro de Magnesio	0,33
KCO <sub>3</sub>	Carbonato de Potasio	0,43
NaBr	Bromuro de Sodio	0,58
NaCl	Cloruro de Sodio	0,755
KCl	Cloruro de Potasio	0,85

Fuente: Gálvez y col., 2006

### 5.13.2. Modelamiento de la isoterma de sorción.

Los datos experimentales se modelaron con las ecuaciones de: GAB (Guggenheim, Anderson y de Boer) y de BET (Brunauer, Emmett y Teller), las que se presentan en la tabla 9.3. del anexo 9.3. La calidad del ajuste de los modelos propuestos se evaluó por medio del coeficiente de correlación lineal ( $r^2$ ), el que debe ser superior a 0,85 para conseguir un buen modelado de los datos experimentales (Toloba y col., 2004).

### 5.14. Estudios de microestructura de los *films*.

Las películas se caracterizaron por microscopía electrónica de barrido (SEM). Se las colocó sobre portamuestras de bronce y se las recubrió con una capa de oro. Se pusieron pequeños trozos en tres cambios de 20 minutos en acetona 100%. Luego se le hizo secado de punto crítico y se sombrea con oro puro. Se observó la muestra en el Microscopio de Barrido Jeol JSM

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1. Determinación de las condiciones de extracción de las proteínas de quínoa para su posterior incorporación en la elaboración de películas

En la figura 6.1. se muestra el diagrama con los pasos que se siguieron para determinar las condiciones óptimas para la extracción de las proteínas de quínoa desde la harina desgrasada (H).

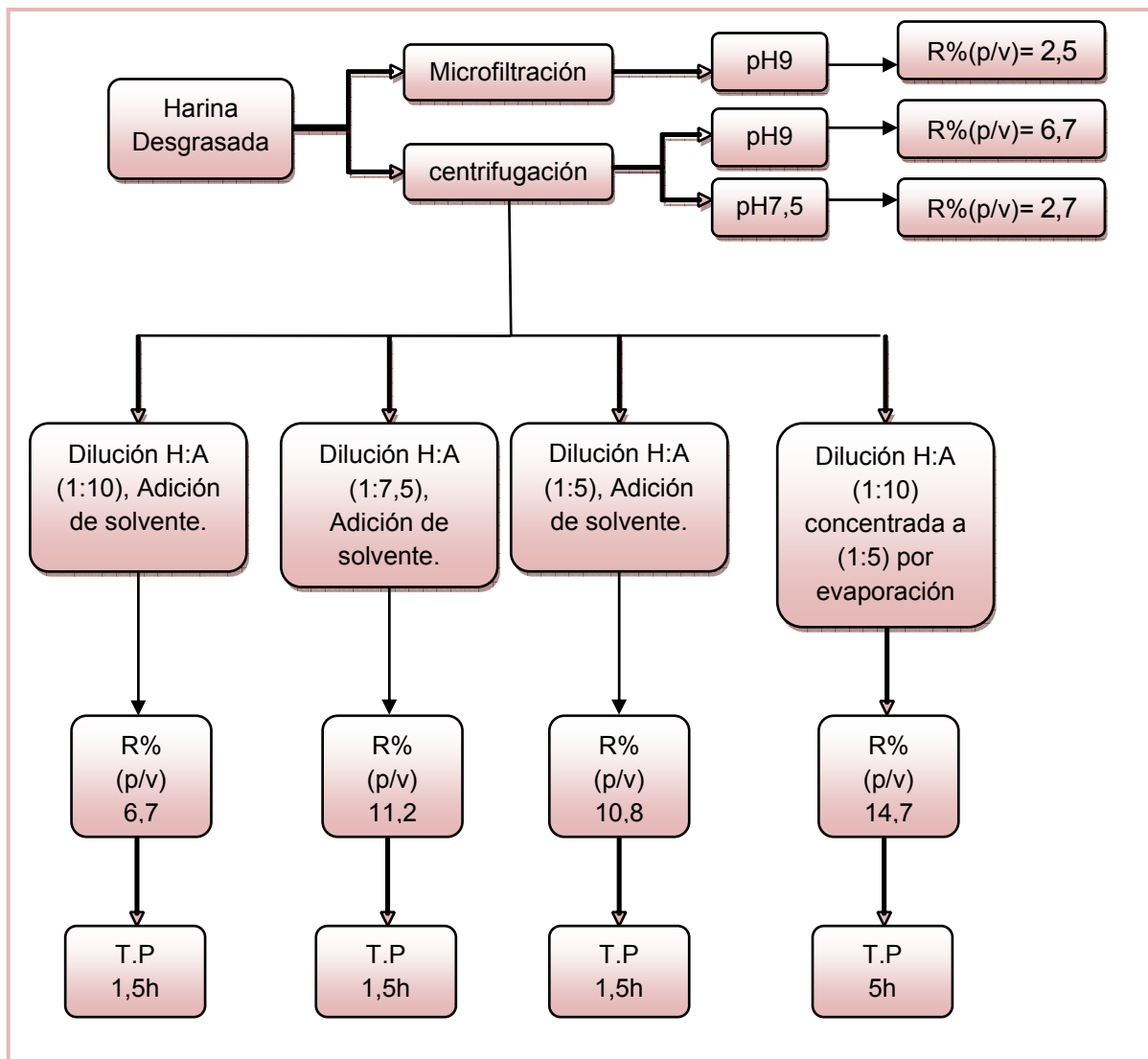


Figura 6.1. Diagrama de Optimización del Proceso de Extracción de las Proteínas de Quínoa



Al final de cada proceso se evaluaron el rendimiento de proteínas en la fracción soluble (R%) y los tiempos de proceso (T.P) para así poder elegir el mejor método para elaborar el extracto acuoso proteico el que posteriormente forma parte de la solución de mezcla formadora de *film*.

Se puede observar claramente el efecto que tiene el pH en la extracción de las proteínas, ya que para el sobrenadante que se obtuvo de la centrifugación a pH 9 de una disolución (Harina:Agua), (H:A) de (1:10) se obtuvo un rendimiento significativamente mayor (6,7%) al obtenido a pH 7,5 (2,7%) lo que concuerda con los valores obtenidos por (Ogunbenle, 2003; Oshodi y col., 1999), en que se reportó una solubilidad máxima a pH 10 de 50% y 45% en la elaboración de aislados proteicos de quínoa donde señalan que a pH alcalino se obtiene una mayor solubilidad. Con esto se descartó en primera instancia el seguir trabajando a pH 7,5 y se siguió el proceso de optimización trabajando a pH 9.

El siguiente paso muestra (Fig. 6.1) que a un mismo pH de solubilización de las proteínas el mejor método físico de separación es el de centrifugación el que dio un rendimiento de 6,7% (p/v) superior al obtenido por medio de microfiltración 2,5% (p/v). El bajo rendimiento obtenido por microfiltración se pudo deber al hecho que se utilizó prefiltro el cual posteriormente realizada la filtración quedaba con solución adherida lo que produjo variaciones en el cálculo final ya que se determinó por diferencia de peso de ésta. Con esto se descartó este método físico de separación y se procedió a la obtención del extracto proteico por centrifugación.

Posteriormente la tercera etapa de este proceso muestra las diferentes diluciones (H:A) de las que se partió: (1:10); (1:7,5);(1:5), donde la proporción (1:7,5) resultó ser la más conveniente con un rendimiento del 11,2%, ya que a una dilución mayor de (1:10) el rendimiento fue menor (6,7%) lo que indica que se está ocupando más solvente de lo que se necesita para extraer las proteínas de la harina desgrasada y por el contrario, a una proporción menor de (1:5) el rendimiento (10,8%), también resultó ser menor que el de la dilución (1:7,5). Por otro lado, la proporción (1:5) realizada por evaporación del solvente en estufa al vacío desde una dilución (1:10), resultó tener un muy buen rendimiento (14,7%), pero se descartó por ser ineficiente, ya que este proceso demoraba aproximadamente 5h comparado a 1,5h que demoraba el resto.

Finalmente se determinó que las condiciones de extracción de las proteínas de quínoa son: dilución de la harina desgrasada en una proporción de H:A=1:7,5, con un pH de extracción de 9 y obtención del extracto acuoso proteico por centrifugación.

## 6.2. Determinación de la relación óptima (EAP:Qo) para la elaboración de *films* de mezcla de acuerdo a sus propiedades mecánicas.

Para tener una idea de qué relación entre EAP/Qo era la adecuada, es que se decidió trabajar con el extracto proteico tal como se mencionó en el punto 6.1. En la siguiente tabla (6.1) se muestra las proporciones con las que se ensayaron la preparación de películas y a las que posteriormente se les determinó las propiedades mecánicas (PM).

Tabla 6.1. Proporciones de EAP: Qo (v/v) utilizadas para la preparación de los films

Film	Relación proteína : quitosano) (EAP : Qo) (v/v)
1	1 : 0
2	4 : 1
3	1 : 1
4	1 : 4
5	0 : 1

### 6.2.1. Alargamiento Porcentual, A% y Esfuerzo de Tracción en la Ruptura, ETR.

En la tabla 6.2. se muestran los resultados del alargamiento porcentual (A) medido en porcentaje y del esfuerzo de tracción en la ruptura (ETR) en  $\text{Nmm}^{-2}$ , estos análisis fueron realizados sobre las distintas soluciones de EAP:Qo (v/v) formadoras de *film*. En la tabla se puede observar que la relación (EAP:Qo) tiene un efecto muy significativo sobre las propiedades mecánicas de los diferentes *films* formados.

Tabla 6.2. Efecto de la relación (EAP:Qo) en estudios preliminares de las propiedades mecánicas de los films y en la posterior selección de éstos.\*

Relación (Proteína : Quito sano) (EAP : Qo) (v/v)	Alargamiento Porcentual (A%)	Esfuerzo de Tracción en la ruptura (ETR) (Nmm <sup>-2</sup> )
1 : 0	N.D.**	N.D
4 : 1	N.D	N.D
1 : 1	273,4 ± 21,6 <sup>a</sup>	2,0 ± 0,6 <sup>a</sup>
1 : 4	117,4 ± 7,1 <sup>b</sup>	8,30 ± 0,7 <sup>b</sup>
0 : 1	73,6 ± 8,2 <sup>c</sup>	22,16 ± 3,90 <sup>c</sup>

(\*) Promedio de 4 repeticiones para cada experimento con sus respectivas desviaciones estándar. Los promedios seguidos de letras diferentes implican que tienen diferencias significativas a un p = 0,05 de nivel de significancia de acuerdo al Test de Rangos Múltiples.

(\*\*) No se pudo determinar.

Al obtener sólo películas con soluciones proteicas sin ningún otro participante como lo puede ser un plastificante no se logró obtener una película, lo cual concuerda con la literatura donde se señala que las proteínas para formar películas requieren de plastificantes (Galietta y col, 1998). Para el *film* 3 en la que la proteína se encuentra en igual proporción que el Qo es que se obtuvo el mayor % de alargamiento con un valor de 273,4 ± 21,6 %, en relación a los otros dos ensayos (P<0.05), incluso que aquél elaborado sólo con Qo, en el que se obtuvo un A% de 73,6 ± 8,2, lo que señala que las moléculas de proteínas confieren a las películas de quitosano mayor elasticidad al estar en mezclas entre estos dos biopolímeros, el valor encontrado para esta mezcla entre EAP/Qo también presentó valores mayores a los informados para *films* de proteínas de soya (217,1-270,7%) (Cao y Chang, 2001) considerando que estas películas fueron preparadas con concentraciones mayores de proteínas de soya y con la inclusión en estas matrices de plastificantes. Si bien la película de Qo *per se* presenta un valor de A% bueno, evidentemente la presencia de proteína logra aumentar más de 4 veces este valor, lo que señalaría que la proteína está actuando como plastificante en el *film* potenciando la flexibilidad y elasticidad que tienen los *films* de quitosano por si solos. Ya este efecto visualizado con igual proporción de proteína y quitosano se observa en menor proporción cuando se preparó la película con la proporción (1:4), lo cual nos muestra que con sólo agregarle una parte de proteína a 4

de quitosano, el efecto en el A% ya es muy significativo  $117,4 \pm 7,1$  ( $p < 0.05$ ), ya que está cerca de duplicar el valor del A% de los *films* del Qo solo.

En cuanto a los valores de esfuerzo de tracción en la ruptura (ETR) se observó un fenómeno opuesto que para la propiedad de alargamiento. En la tabla 6.2 se puede observar que la proporción (1:1) presentó un ETR de  $2,01 \pm 0,55$  Nmm<sup>-2</sup>, que si bien es un valor comparable a los de otros *films* elaborados en base a proteínas de soya ( $1,6-2,36$  Nmm<sup>-2</sup>) (Cao y Chang, 2001), comparado al valor que presenta sólo el Qo de  $22,16 \pm 3,90$  Nmm<sup>-2</sup>, es 10 veces menor, lo que demuestra que el aporte de proteínas disminuye significativamente la firmeza y rigidez de estos *films* y que un pequeño aporte de estas proteínas produce un gran efecto en la disminución de este valor como lo demuestra la proporción (1:4) la que obtuvo un valor de  $8,30 \pm 0,66$  Nmm<sup>-2</sup>.

Finalmente se decidió seleccionar el *film* con la proporción (1:1) ya que presentó buenas propiedades mecánicas de A y ETR.

### 6.3. Propiedades fisicoquímicas de los *films* de mezcla (1:1) y de quitosano (Qo).

En la tabla 6.3. se muestran los valores de algunos parámetros fisicoquímicos como la viscosidad, turbidez y actividad de agua ( $a_w$ ). Estos análisis se realizaron sobre el extracto acuoso proteico (EAP), las soluciones formadoras de *film*, y la de Qo, como a la de mezcla (1:1) cuando se encontraban a pH inicial de aproximadamente 4 y luego a la misma solución con el pH ajustado a 3, pH en el cual la mezcla se solubilizó completamente. También se aplicó los análisis respectivos a los *films* de mezcla (1:1) y a los de Qo.

Tabla 6.3. Características fisicoquímicas del extracto acuoso de proteínas (EAP), de la solución de mezcla (1:1) a pH 3 y 4, de la solución de Qo al 1%.

Muestra	Viscosidad mPa*s <sup>a</sup>	Turbidez (FTU) <sup>a</sup>	Aw <sup>b</sup>
E.A.P	$10 \pm 0,00$	$691,33 \pm 157,15$	N.P.D <sup>d</sup>
(1:1) (pH3)	$50 \pm 0,00$	$375,33 \pm 39,63$	$0,36 \pm 0,03$
(1:1) (pH4)	$70 \pm 0,00$	$0 \pm 0,00$	N.P.D
Qo (1%)	$368$ <sup>c</sup>	$47,7 \pm 0,00$	$0,605 \pm 0,04$

(a) Las mediciones se le realizaron a la solución.

(b) Las mediciones de Aw se le realizaron a los *films*.

(c) Referencia Uribe, 2003, para solución de Qo Sigma al 1% en ácido láctico.

(d) No se pudo determinar el análisis ya que esas soluciones no eran formadoras de *film*.

Como se puede apreciar la viscosidad más alta la presentó la solución de quitosano (1%) con un valor de 368 (mPa\*s<sup>a</sup>), la cual al ser mezclada con el extracto acuoso proteico (EAP de viscosidad muy baja (10 mPa\*s<sup>a</sup>), se ve muy disminuida (70 mPa\*s<sup>a</sup>) y más aún cuando se ajusta a pH 3 solubilizándose (50 mPa\*s<sup>a</sup>). Para la turbidez, el EAP presentó una turbidez relativamente alta (691,3 FTU), lo que se puede deber a una centrifugación incompleta. Por el otro lado la solución de Qo demostró ser muy nítida ya que obtuvo valores de turbidez de sólo (47,7 FTU), para la mezcla se obtuvo un valor intermedio de (375,33 ± 39,63 FTU) esperado.

Un análisis de suma importancia es el de medición de la actividad de agua ( $a_w$ ) de los *films* ya que el objetivo final de éstos es aplicarlos como recubrimientos de alimentos. Si bien a temperaturas de refrigeración la habilidad de multiplicarse de los microorganismos en el alimento se ve disminuida, éste no queda exento de la completa prevención del crecimiento de microorganismos patógenos, los que son capaces de alcanzar niveles de población capaces de producir enfermedades. Esta es una de las razones por las cuales el recubrimiento que se utilice debiera crear una atmósfera modificada, que disminuya la velocidad de crecimiento de los microorganismos, principalmente los que son esporulados. Por ejemplo, el crecimiento y formación de toxina del *C. botulinum*, el que no es muy frecuente en frutas, pudiendo presentarse en aquellas con pH > 4,8, como los son algunas de tipo tropicales (Olivas y Barbosa-Cánovas, 2005).

Si bien, el quitosano por si solo, presenta una muy buena actividad antimicrobianas según lo que muestran los estudios, los que señalan que una solución de quitosano de peso molecular intermedio al 0,1% de concentración, ya presenta un fuerte efecto bactericida (Hong Kyoon y col., 2002). Los *films* elaborados sólo en base a quitosano (Qo) presentaron una actividad de agua ( $a_w$ ) de 0,605 ± 0,04 la que inhibe gran parte de las bacterias patógenas, pero no la proliferación de algunos hongos y levaduras. Al incluir en la película de Qo proteínas de quínoa en la elaboración de *films* (1:1) se obtuvo una  $a_w$  de 0,360 ± 0,03 lo que indica que la inclusión de proteínas en esta red protectora interviene interaccionando con el agua libre, reduciendo significativamente ( $P < 0,05$ ) la  $a_w$  de la película resultante. Por otra parte, el aporte de proteínas de quínoa a la mezcla formadora del *film* resultó ser beneficiosa ya que crea

otra barrera al deterioro de un alimento como podrían ser las frutas, sumada a la barrera producida por el pH de la solución de mezcla formadora de *film* (pH3).

#### **6.4. Determinación de los parámetros de secado de los *films*.**

Como se ha descrito en el ítem 5.9 de los métodos se procedió al secado de las películas a 50 °C, y en la figura 6.2. se muestran las curvas experimentales de la cinética de secado del *film* de mezcla (EAP:Qo=1:1, v/v) y de Qo durante todo el período de secado y conjuntamente se muestran las regresiones lineales de éstas durante el período constante de secado.

Se puede observar (Fig. 6.2) para el secado de ambos *films* (1:1 y Qo), un comportamiento típico de una cinética de secado, el que ocurre a una velocidad decreciente. El *film* de Qo, con una humedad inicial ( $X_0$ ) más alta ( $35,1 \pm 0$ ) que la del *film* de mezcla ( $30,3 \pm 0,1$ ), presenta una pendiente de secado que es aproximadamente el doble ( $0,142 \text{ g H}_2\text{O} \cdot \text{min/g s.s}$ ) de la pendiente de secado del *film* de mezcla ( $0,075 \text{ g H}_2\text{O} \cdot \text{min/g s.s}$ ), llegando a los 300 min a la humedad de equilibrio ( $X_{eq} \cong 0$ ) donde el secado finaliza, comparando este resultado con el de mezcla, a los 480 min se alcanza una humedad de equilibrio de ( $X_{eq} = 0,3 \pm 0,1$ ). que demora el secado del *film* de mezcla, lo que señala que al estar en mezcla el Qo con la P es significativamente ( $P < 0,05$ ) más lento el proceso de secado, lo cual podría indicar una mayor interacción entre ambos biopolímeros y el agua.

Fig.6.2.a

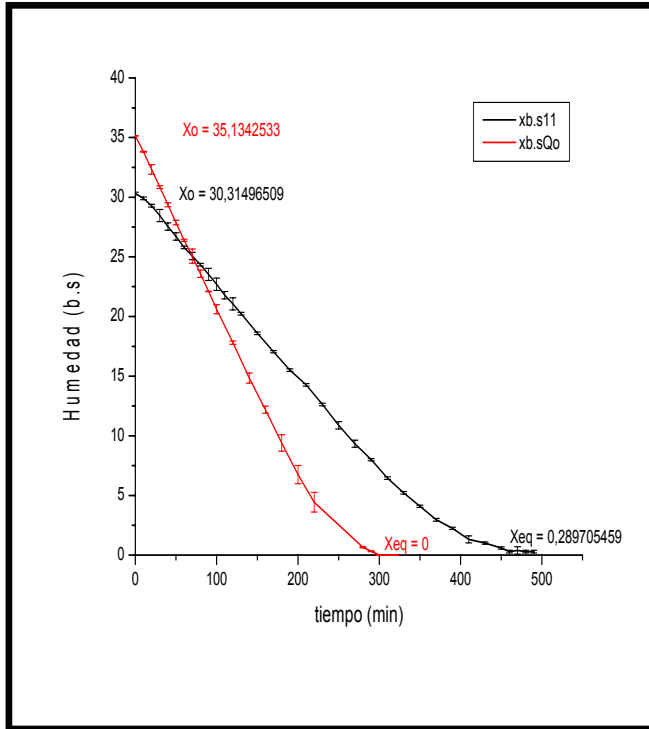


Fig.6.2.b

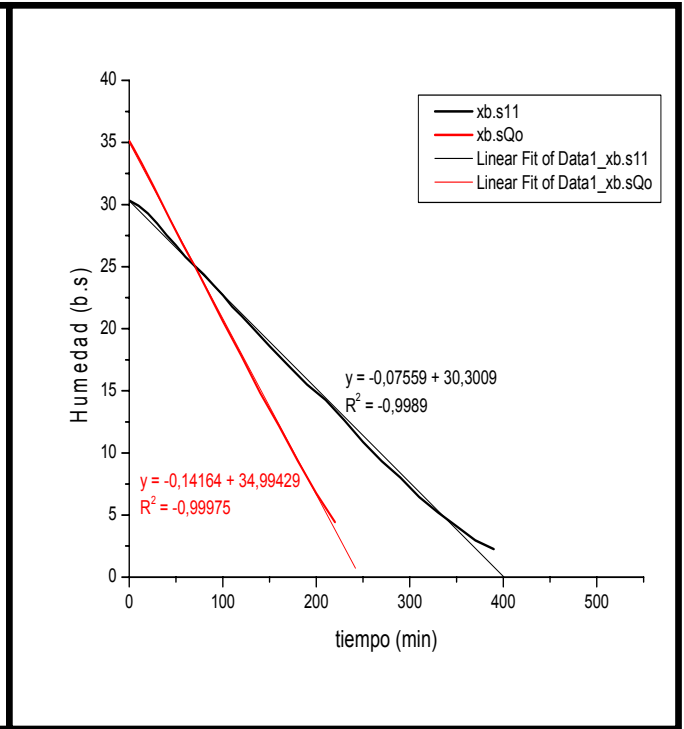


Figura 6.2. (a) Curvas de Secado ( $\frac{dx}{dt}$ ) de los films de mezcla (1:1) y de Qo con sus intervalos de confianza. Periodo completo de secado. (b) Periodo constante de las curvas de secado ( $\frac{dx}{dt}$ ) de los films de mezcla (1:1) y de Qo y sus regresiones lineales respectivas.

Para poder discriminar las diferentes etapas de secado, como lo son el período constante y decreciente de secado, siendo este último el que se tomó en cuenta para calcular el coeficiente de difusividad efectiva (Def), ya que es en esta etapa donde el agua difunde a través del sólido y deja de evaporarse desde la superficie como ocurre en la etapa constante de secado (Mc Cabe y col., 1985).

Fig.6.3.a

Fig.6.3.b

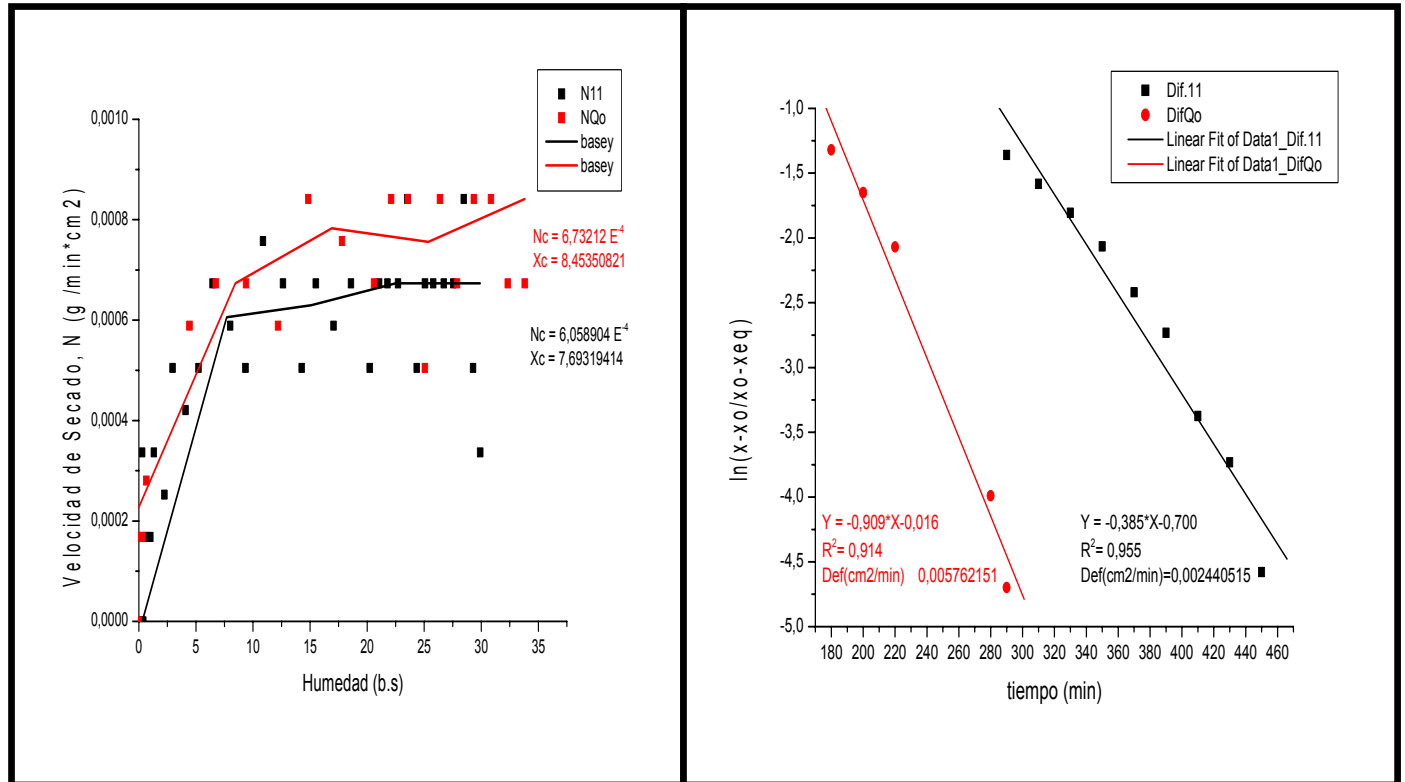



Figura 6.3. (a) Curvas de velocidad de secado  versus el contenido de humedad en base seca de los films de mezcla (1:1) y de Qo. Ambas curvas suavizadas con baseline. (b) Regresión lineal de  $(\ln(x-x_0/x_0-x_e))$  v/s tiempo) de los valores correspondientes al período decreciente de secado de los films de mezcla (1:1) y de Qo. Determinación de la pendiente de la recta para el cálculo de la difusividad efectiva (Def) en (cm<sup>2</sup>/min) para ambos films.

En primer lugar se observa que para los *films* de Qo los puntos en la curva de secado se acercan mucho más al modelo de secado (McCabe y col., 1985) que los valores de los *films* de mezcla que se encuentran mucho más dispersos, esto se puede deber a que en los *films* de Qo, el polímero constituyente es sólo uno, lo que probablemente hace que la difusión del agua a través del sólido sea más homogénea que en el caso de la mezcla de los biopolímeros. Por otra parte, se observa en la figura 6.3. que la velocidad de secado del Qo es siempre mayor que la del *film* de mezcla,



tanto en el período constante como en el decreciente, estos valores y todos los parámetros de las cinéticas de secado se pueden observar en la tabla 6.4.

Tabla 6.4. Parámetros determinados en la cinética de secado de las soluciones formadoras de films.

Parámetro	Films Mezcla (1:1)	Films Qo
Xo (b.s)	30,3 ± 0,1	35,1 ± 0
Xc (b.s)	7,7 ± 0,1	8,5 ± 0,3
Xeq (b.s)	0,3 ± 0,1	0,0
Nc (g /min*cm2)	6,059 E <sup>-4</sup> ± 1,0 E <sup>-4</sup>	6,73 E <sup>-4</sup> ± 6,0 E <sup>-5</sup>
Θ (min)	480 ± 0	300 ± 0,
Θ <sub>c</sub> (min)	280 ± 0	140 ± 0,
Def (cm <sup>2</sup> /min)	2,44 E <sup>-3</sup> ± 6,0 E <sup>-4</sup>	5,76 E <sup>-3</sup> ± 4,2 E <sup>-4</sup>

El *film* de Qo presentó una velocidad constante de secado de aproximadamente ( $N_c = 6,73 \text{ E}^{-4} \pm 6,0 \text{ E}^{-5}$ ) un poco mayor que la que presentó el *film* de mezcla ( $N_c = 6,059 \text{ E}^{-4} \pm 1,0 \text{ E}^{-4}$ ), siendo la diferencia entre ambas velocidades constantes no significativa ( $p \geq 0,05$ ) para este período, a diferencia de lo que demuestran los valores de difusividad efectiva (Def), que para el *film* de Qo fue significativamente mayor ( $P < 0,05$ ) con un valor de ( $\text{Def} = 5,76 \text{ E}^{-3} \pm 4,2 \text{ E}^{-4}$ ) en comparación al *film* de mezcla (1:1) ( $\text{Def} = 2,44 \text{ E}^{-3} \pm 6,0 \text{ E}^{-4}$ ). Este parámetro durante el periodo decreciente de la curva de secado es determinante en la cinética de éste, ya que en la primera etapa constante de secado, éste aún se lleva a cabo por evaporación de la humedad desde una superficie saturada (evaporación desde una superficie libre). En el caso de sólidos no porosos, como lo es el de las películas, la remoción de agua es prácticamente sólo superficial. Diferente es el comportamiento cuando se llega en el tiempo crítico ( $\Theta_c$ ) a la humedad crítica de secado ( $X_c$ ), donde comienza el período decreciente, instante donde el agua líquida de la superficie no es suficiente para seguir formando una película continua en toda la superficie de secado. Entonces sería el período decreciente de secado el que describiría mayormente las propiedades del *film* que es el sólido en este caso ya que el agua estaría difundiendo a través de éste (Mc Cabe y col., 1985).

Finalmente la difusividad efectiva de la mezcla resultó al menos dos veces menor que la del Qo solo, lo cual hace pensar que las proteínas están interactuando tanto con el biopolímero como con el agua, lo cual hace que la Def sea menor modificando la velocidad de secado de los *films* de mezcla, ya que al retener con

mayor fuerza las moléculas de agua tanto por la red que se podría formar entre los biopolímeros como por la capacidad de interactuar con el agua de las proteínas, va a dificultar la difusión de éstas a través de ellos, obteniéndose así valores de Def más bajos que en los *films* elaborados sólo en base a Qo lo que influye finalmente en la velocidad de secado de los *films*.

### 6.5. Determinación de las propiedades mecánicas A% y ETR (Nmm<sup>-2</sup>) al *film* seleccionado (EAP:Qo) (1:1).

Con la proporción de EAP/Qo seleccionada, se procedió a determinar todas las propiedades correspondientes a la caracterización de esta película. En la tabla 6.5. se muestran los valores de alargamiento porcentual (A) en % y del esfuerzo de tracción en la ruptura (ETR) en Nmm<sup>-2</sup> con sus respectivas desviaciones estándar para el *film* (1:1) en duplicado A y B y para el *film* de quitosano (Qo).

Entre los valores de A% para los duplicados A y B existen diferencias significativas entre los grupos según el test de rangos múltiples a un 95% de nivel de confianza. Esto se puede deber principalmente a que ambos *films* no tenían la misma fecha de elaboración y aunque, si bien las muestras se acondicionaban previas al análisis, éstas en el tiempo igual van sufriendo cambios fisicoquímicos como la pérdida de humedad la que pudiera alterar las mediciones. Un aumento en la fracción de agua adsorvida en los *films* favorece el efecto plastificante, lo que se caracteriza también en una disminución del ETR (Galieta y col, 1998).

Tabla 6.5. Comparación de los resultados de las propiedades mecánicas entre los duplicados de films de mezcla (1 : 1) A y B y de film de quitosano (Qo).

Relación (EAP : Qo) (v/v)	Alargamiento Porcentual (A%)	Esfuerzo de Tracción en la ruptura (ETR) (Nmm <sup>-2</sup> )
(1 : 1) A	238,2 ± 20,6 <sup>a</sup>	2,05 ± 0,32 <sup>a</sup>
(1 : 1) B	273,4 ± 21,6 <sup>b</sup>	2,01 ± 0,55 <sup>a</sup>
Qo	73,6 ± 8,2 <sup>c</sup>	22,16 ± 3,90 <sup>b</sup>

<sup>(\*)</sup> Promedio de 4 repeticiones para cada experimento con sus respectivas desviaciones estándar. Los promedios seguidos de letras diferentes implican que tienen diferencias significativas a un p = 0,05 de nivel de significancia de acuerdo al Test de Rangos Múltiples.

En la figura 6.4. se muestran gráficos comparativos, donde se pueden apreciar más claramente las diferencias en los valores de A% y ETR para los duplicados (1:1) A

y B y para Qo con sus respectivas desviaciones estándar, los que a la vez se compararon con valores obtenidos de literatura de un *film* elaborado en base a proteínas de amaranto.

Fig. 6.4 a

Fig. 6.4 b

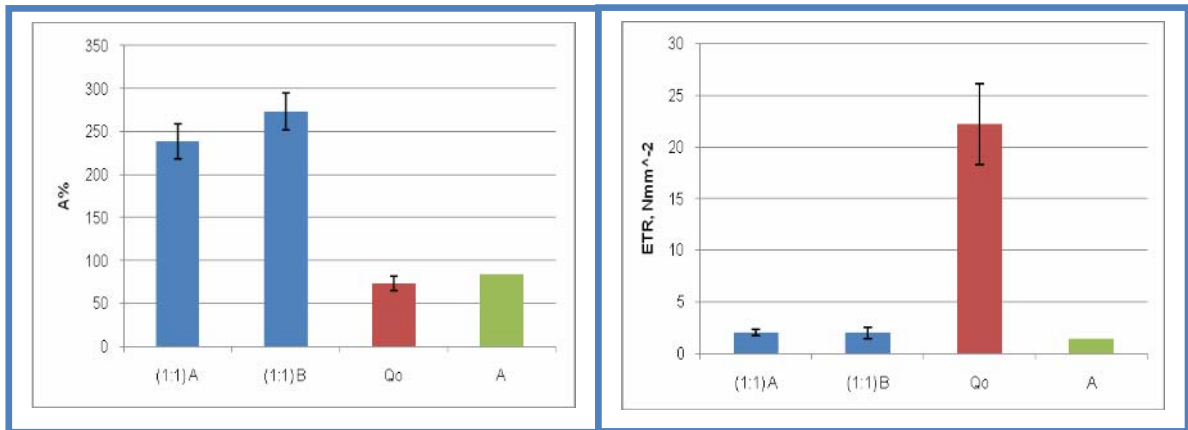


Figura 6.4. Alargamiento porcentual (A%) (a) y Esfuerzo de tracción en la ruptura (ETR) (b) de los *films* de mezcla (1:1) los cuales se realizaron en duplicado (A yB) de (n=4) cada uno y de los *films* de quitosano (Qo) (n=4) comparados con los valores encontrados en los análisis realizados en quitosano Rymar (QoR-LA) por Cárcamo, 2006 y los valores encontrados por Tapia-Blácido y col, 2007, para *films* de amaranto (A).

El ensayo se realizó de acuerdo con la Norma Chilena Oficial NCh1151 a una velocidad de 20 mm/min.

Al ser ensayados en la máquina universal de ensayo de materiales, los *films* (EAP:Qo) (v/v): (1:4); (1:1) y (0:1) presentaron un comportamiento mecánico similar al descrito por la figura 5.5. Inicialmente, los *films* tuvieron un comportamiento gobernado por la ley de *Hooke*, es decir, presentaron una zona de deformación reversible o elástica (zona lineal de la curva Carga vs. Alargamiento), seguida por una zona de alargamiento del *film* en que la carga se mantiene constante, que es la zona de deformación irreversible o plástica, luego de la cual el *film* sufre la ruptura (Begin y Van Calsteren, 1999).

Con respecto al *film* compuesto sólo por proteína (1:0) no se pudieron realizar los ensayos ya que esta proporción no fue capaz de formar un *film*, por otro lado la solución formadora de *film* que contenía la mayor proporción de proteína (4:1) se logró formar una película, pero presentaba propiedades de adhesión muy altas lo cual no

permitió su correcta manipulación, para poder colocarla de forma adecuada en las mordazas utilizadas en la máquina universal de ensayo de materiales.

Tal como ya se mencionó en el punto 6.2. es evidente el aumento en el A% cuando se adicionan proteínas de quínoa en la mezcla formadora de *film*, esta propiedad podría ser atribuible al tipo de proteínas presentes en la fracción proteica de la quínoa como lo son albúminas y globulinas, las cuales presentan estabilización de las moléculas a través de puentes disulfuro (Brinegar y Goudan, 1993). Ambos biopolímeros, proteínas de quínoa y quitosano se potencian mutuamente al estar en mezcla, ya que si bien es la proteína la que estaría actuando como plastificante, ésta por si sola no forma *film* (Galietta y col, 1998; Cao y Chang, 2002 y Choi y Hang, 2002). Por otra parte esta sinergia podría deberse que al mezclar ambas soluciones (extracto acuoso de proteínas y solución de quitosano), disminuya la interacción proteína-proteína, favoreciéndose la interacción proteína-hidrocoloide del tipo iónico modificando así la organización tridimensional de esta red molecular que forma el *film* y esta nueva organización puede dejar un mayor volumen libre dentro de la red permitiendo una mayor movilidad de las cadenas de polímeros. A la vez un aumento en la plasticidad conlleva una disminución en la resistencia mecánica (Galieta y col, 1998) que es justamente lo que se puede observar en los valores de ETR, los que se ven fuertemente disminuidos al agregar proteínas en la mezcla formadora del *film*. A pesar de verse disminuida esta propiedad el *film* logrado posee muy buenas propiedades de %A, lo cual permite prever aplicaciones para almacenar alimentos utilizando este *film* como un recubrimiento capaz de alargarse durante su uso en la preservación por ejemplo, de frutas (Diab y col, 2001).

En general, comparando nuestros resultados de esta película en mezcla entre EAP/Qo, se puede decir que posee mejores propiedades tanto de %A como de ETR. Así por ejemplo, si comparamos nuestros resultados con los de *films* elaborados en base a harina de amaranto, cuyas proteínas presentan similitudes con las de la quínoa que están formadas por albúminas, globulinas y además glutelinas al igual (Abugoch, 2006b), este *film* presenta valores menores de ETR de  $1,45 \text{ Nmm}^{-2}$  (Tapia-Blácido y col., 2007), por otro lado (Cao y Chang, 2002) realizaron estudios en *films* basados en proteínas de soya los que presentaron muy buenas propiedades mecánicas obteniendo valores de ETR entre  $1,60$  a  $2,36 \text{ Nmm}^{-2}$ . Tanto los valores reportados para el

amaranto como para la soya son muy similares a los estudiados en este proyecto para el *film* de mezcla, pero ninguno supera el A% que se logra con estos *films*, en el caso de la soya se le acerca con valores de entre 217,1 a 270,7 pero en concentraciones mayores de la proteína y por otro lado los *films* de amaranto presentan valores de A% muy pobres de tan sólo un 83,7%.

En cuanto a los valores para el *film* elaborado sólo en base a quitosano (1%) se obtuvo valores de A% de un  $73,6 \pm 8,2\%$  y de ETR de un  $22,16 \pm 3,90 \text{ Nmm}^{-2}$ .

#### **6.6. Grado de transmisión de vapor de agua, TVA.**

La cinética de evaporación de vapor de agua de los *films* de mezcla (1:1) ensayados se muestra en la figura 6.5., que da cuenta de la permeabilidad del vapor de agua que poseen las películas y que serán comparados con los resultados obtenidos por Cárcamo (2006) para *films* de quitosano de caparazón de cangrejo (marca Rymar, QoR-LA). Se puede apreciar (Fig. 6.5) que la tendencia de ambas curvas es polinómica pero para efectos de cálculo según lo que indica la NCh2098.Of2000 para la determinación de la transmisión de vapor de agua en películas de recubrimiento orgánico, se deben tomar a lo menos cuatro puntos que se ajusten a una línea recta, representando la pendiente el grado de transmisión del vapor de agua. Para los *films* de Qo se tomó el período completo ya que presentaba un buen ajuste a una línea recta en toda su extensión. En cambio los *films* de mezcla presentaron un buen ajuste a una línea recta pero en dos etapas con dos pendientes diferentes. Se puede observar que durante los primeros 4 días el grado de transmisión de vapor de agua no presenta diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) para un nivel de confianza del 95%. El punto final de estas curvas (día 21) indica la cantidad total de agua evaporada a través de los *films*; los *films* de QoR-LA permitieron una mayor evaporación de agua ( $\approx 65 \text{ g}$ ) en comparación a los *films* de mezcla (1:1) ( $\approx 48 \text{ g}$ ) (Tabla 6.6).

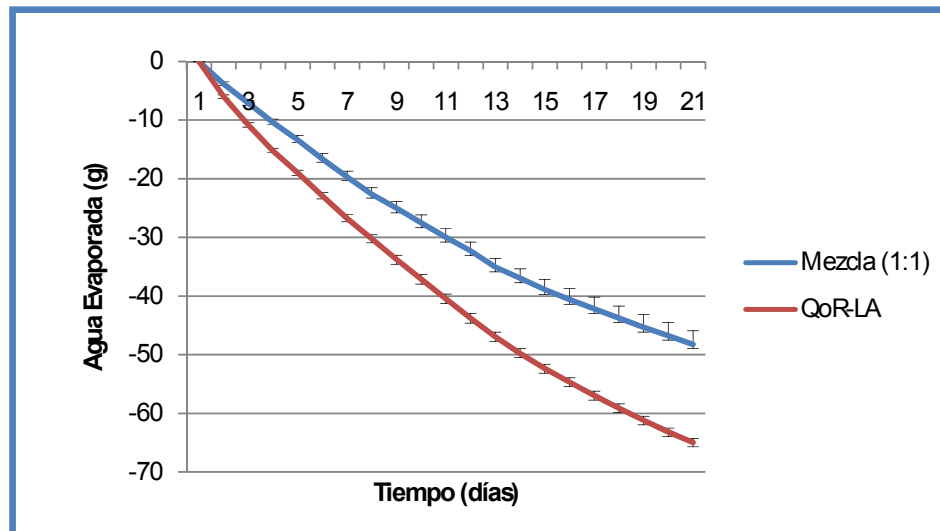


Figura 6.5. Cinética de evaporación de agua a través de los *films* de mezcla ensayados comparados a los ensayos en *films* de quitosano marca Rymar (QoR-LA) realizados por Cárcamo, 2006. Ambos con barras de error de intervalo de confianza ( $\alpha=0,05$ ) Se grafica la pérdida de peso de las copas en función del tiempo. El ensayo se realizó de acuerdo con la Norma Chilena Oficial NCh2098, utilizando el método de la copa húmeda (n=12).

Se puede observar en la figura anterior (6.5) que la tasa de evaporación de vapor de agua es menor en los *films* de mezcla (1:1) que en los de QoR-LA, lo que implica una mayor permeabilidad al vapor de agua de agua en estos últimos (tabla 6.6). Por lo que se podría inferir que al hacer mezclas entre Qo y proteínas de quínoa, es posible mejorar esta propiedad y las proteínas están interactuando con el Qo de tal forma que ayuda como barrera al vapor de agua de los *films*. Esto podría relacionar a los resultados obtenidos en las curvas de secado, en las cuales la difusión del agua a través de los *films* de Qo resultó ser mayor que en los *films* de mezcla, donde se dedujo que podría ser por la capacidad de retención de agua de las proteínas de quínoa (Rivera, 2006; Silva, 2006), lo cual influye positivamente en esta propiedad de permeabilidad al vapor de agua.

Tabla 6.6. Propiedades de permeabilidad de los *films* de mezcla (1:1) ensayados comparados a los de QoR-LA ensayados por Carcamo, 2006.

<i>Film</i>	Agua Total Evaporada (g)	TVA ( $\text{gm}^{-2}\text{h}^{-1}$ )	TVA $\epsilon$ ( $\text{mm gm}^{-2}\text{h}^{-1}$ )
Mezcla (1:1), 1 <sup>er</sup> período	48,28 ± 3,94	24,28 ± 0,21	3,45 ± 0,21
Mezcla (1:1), 2 <sup>o</sup> período	48,28 ± 3,94	13,58 ± 0,23	1,93 ± 0,23
Q <sub>o</sub> R-LA	65,00	28,24	0,85

(\*) TVA específico,  $\text{mm gm}^{-2}\text{h}^{-1}$

Como se mencionó anteriormente, del análisis de la figura 6.5. se encontró que para los *films* de mezcla (1:1), la cinética de evaporación del agua a través del *film*, se puede dividir en dos etapas tal como se muestra en la figura 6.6., donde el primer período comprende los primeros 12 días y los 9 días restantes corresponden al segundo período (Fig. 6.6. a y b).

Fig.6.6.a

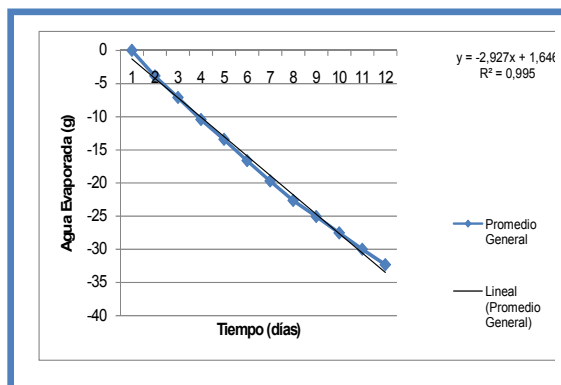


Fig.6.6.b

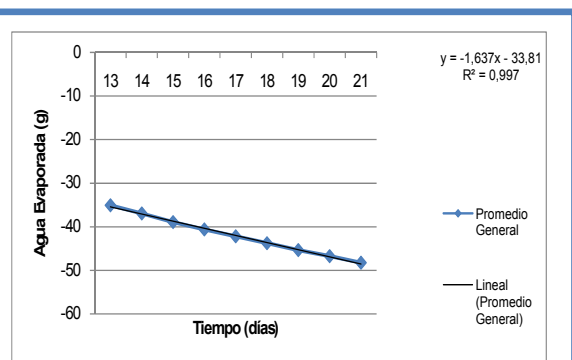


Figura 6.6. Cinética de evaporación de agua a través de los *films* de mezcla (1:1) ensayados durante el primer (a) y segundo período (b) de 12 y 9 días respectivamente. Se grafica la pérdida de peso de las copas en función del tiempo.

Como se puede observar en la figura 6.6. a y b, en ambas etapas los valores se ajustan muy bien al comportamiento lineal, obteniendo para la primera etapa un  $R^2$  de 0,995 y para la segunda de 0,997, si se observa que ambas etapas presentaron

pendientes diferentes siendo mayor en el primer período ( $m = 2,9$ ;  $g H_2O/d$ ) que en el segundo período ( $m = 1,6$ ;  $g H_2O/d$ ). Esto quiere decir que la transferencia de vapor de agua a través del *film* es mayor durante los 12 primeros días que al final. La baja que sufre en la segunda etapa se puede deber a que se favorezca la formación de gel que presenta el Qo (Chenite y col., 2000) dado que, si fuera así y se formase una capa de gel, evidentemente ésta actuaría como barrera al vapor de agua por lo que disminuiría la permeabilidad a éste en la última etapa, tal como sucede en este caso.

Para visualizar mejor todo lo mencionado, en la figura 6.7. se grafican los valores de transferencia de vapor de agua (TVA) obtenidos en este estudio para los *films* de mezcla (1:1) ( $\approx 60\%$  H.R) y se comparan con los de QoR-LA ( $\approx 60\%$  H.R) (Cárcamo, 2006) y con los obtenidos de la literatura para *films* de quitosano a humedades relativas de 53 y 75% (Wiles y col., 2000).

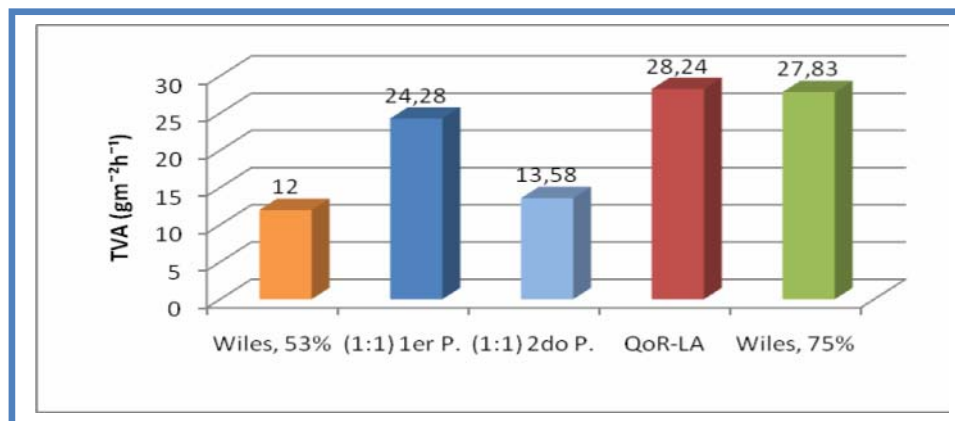


Figura 6.7. Valores de TVA de los *films* de mezcla (1:1) del primer y segundo período (P) con los de quitosano Rymar (QoR-LA, Cárcamo, 2006) y los del trabajo de Wiles y col, 2000 que realizaron los ensayos en distintas condiciones de humedad relativa: 53% HR y 75% HR, que son representadas en el gráfico como Wiles, 53% y Wiles, 75% respectivamente.

Es importante de mencionar de acuerdo a los resultados presentados en la figura anterior (6.7), los valores de TVA son evidentemente dependientes de la humedad relativa a la que se realice la medición de TVA, ya que un aumento en humedad relativa, conlleva un aumento en la tasa de transferencia de vapor de agua (Wiles y col., 2000).



### 6.7. Determinación de la permeabilidad al oxígeno (PO)

En la tabla 6.7. se muestran los valores de permeabilidad al oxígeno (P.O) del *film* de la mezcla (1:1) los cuales se compararon con valores encontrados en la literatura para *films* de quitosano, colágeno y de mezcla de aislado de proteína de trigo con plastificante (APT:Gli).

Se puede observar que el *film* de mezcla obtuvo una PO intermedia de 25,6 ( $\text{cm}^3 \cdot \mu\text{m}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{kPa}$ ) muy similar a la encontrada para el *film* de (APT:Gli) de 25 ( $\text{cm}^3 \cdot \mu\text{m}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{kPa}$ ) y mayor que la que tienen los *films* de quitosano y colágeno que presentan valores menores a 0,04 ( $\text{cm}^3 \cdot \mu\text{m}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{kPa}$ ).

Tabla 6.7. Permeabilidad al oxígeno (23°C y 0% H.R) del film de mezcla (1:1) y comparados a valores de la literatura. <sup>(a)</sup> Lieberman y col, 2003. <sup>(b)</sup> Maté y col, 1996. <sup>(c)</sup> Caner y col., 1998.

<i>Film</i>	P.O ( $\text{cm}^3 \cdot \mu\text{m}/\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{kPa}$ )
Mezcla (1:1)	25,6
Colágeno <sup>a</sup>	< 0,04
APT : Gli <sup>b</sup>	25
Quitosano <sup>c</sup>	0,03

Esto concuerda con lo reportado por (McHugh y col., 1994), que señalan que los *films* elaborados en base a proteínas globulares aparentemente tienen valores de PO mayores que los de los *films* elaborados en base a colágeno. Esto se puede deber al hecho de que las proteínas globulares poseen un porcentaje mayor de aminoácidos de cadena larga y una menor estructura lineal, resultando en una densidad de energía de cohesión menor y un volumen libre mayor (Khaoula y col., 2004).

### 6.8. Isotherma de sorción del *film* final seleccionado.

Las isothermas de sorción de los *films* son el resultado de la interacción entre el agua y los constituyentes sólidos de la matriz del alimento (Johnston y Duckworth, 1985). Los estudios de modelamiento de los datos de sorción de agua son importantes para predecir la vida útil de alimentos de humedad baja e intermedia (Simatos y Karel,

1988) y en este caso dará cuenta a través de modelos matemáticos de qué manera se estructura el agua en la película.

En la figura 6.8.a se muestra la isoterma de sorción del *film* de mezcla (1:1). Se puede observar que ésta es de forma sigmoideal, lo que es típico en biopolímeros de alto peso molecular y en alimentos que tienen un alto contenido de polisacáridos o proteínas (Diab y col, 2001).

Los datos de sorción de agua fueron analizados usando las ecuaciones de BET y de GAB, las que se muestran en la metodología y se obtuvo los respectivos ajustes (Fig. 6.8.b y c).

Estos modelos derivados de aproximaciones cinéticas y mecánicas estadísticas (BET) o semiempíricas (GAB), son conocidos como descriptores de datos de sorción en alimentos y otros materiales biológicos y usualmente se utilizan para obtener estimaciones de los valores de humedad de la monocapa ( $x_m$ ) (Rahman, 1995). Los valores de los parámetros resultantes para los ajustes de ambos modelos (BET y GAB) se resumen en la tabla 6.8. Si bien, los valores de sorción se ajustaron muy bien tanto para BET ( $r^2 = 0,96$ ), como para GAB ( $r^2 = 0,95$ ), se puede observar que los valores resultantes de humedad en la monocapa ( $x_m$ ) resultaron ser diferentes, obteniéndose para BET un  $x_m = 8,3\%$ , base seca (bs) y para GAB de un  $2,94\%$  (bs)

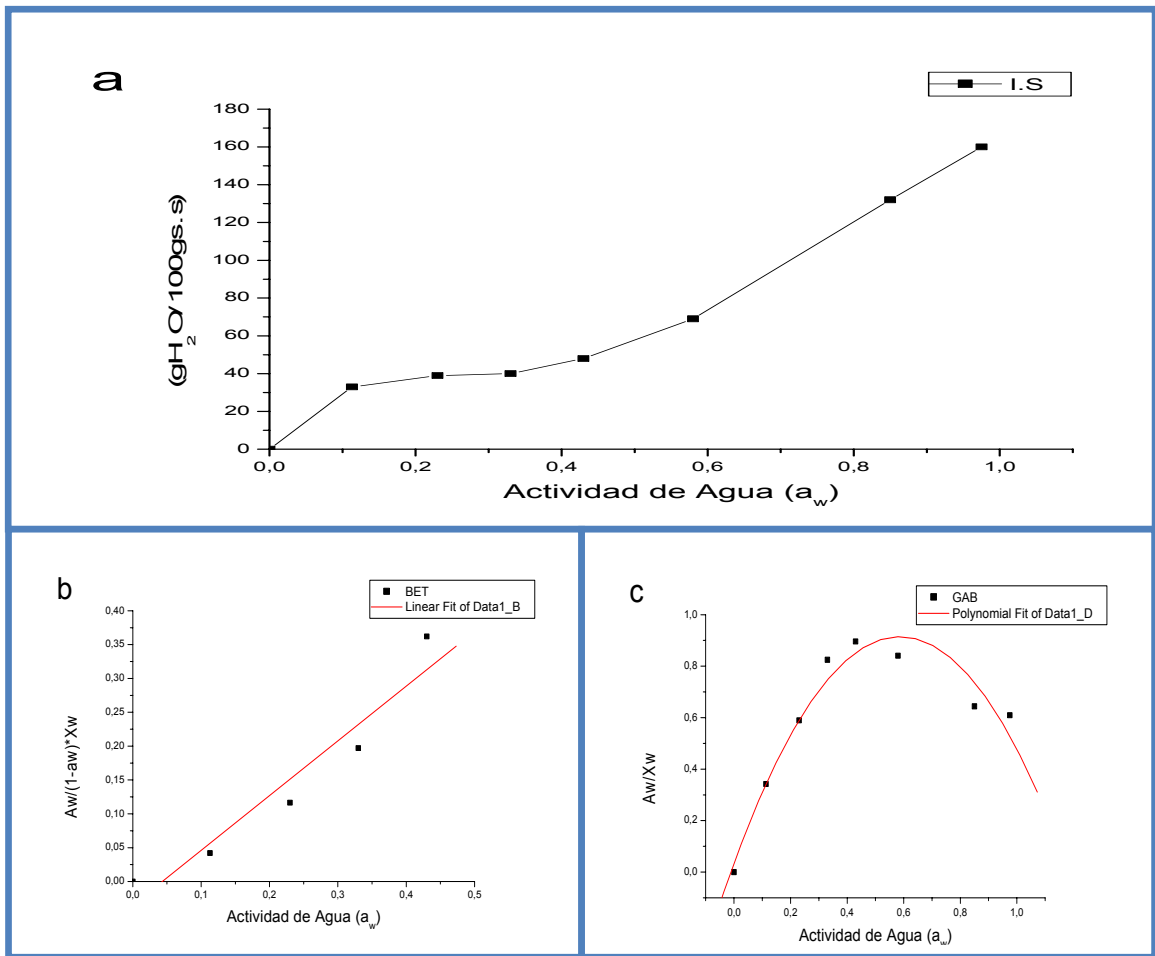


Figura 6.8. Isotherma de sorción de agua a 20°C de los films de mezcla (1:1) (a) y sus respectivos ajustes a los modelos de sorción de BET (b) y GAB (c).

Los resultados obtenidos coinciden con lo señalado por Sopade y Ajserigi (1994) y Timmermann y col. (2001) que reportan que la humedad de la monocapa ( $x_m$ ) para los modelos de BET y GAB no son similares. También se puede señalar que la tercera constante ( $k$ ) del modelo de GAB, mide la diferencia de potencial químico estándar entre las moléculas de esta segunda etapa y aquellas del estado líquido puro y si  $k$  es menor a la unidad como es este el caso (tabla 6.8.), se estimará una sorción menor a la predicha por BET (Zug, 2005).

Tabla 6.8. Parámetros estimados para los datos de la isoterma de sorción de los films de mezcla (1:1) usando los modelos de isotermas de BET y GAB.

Muestra	BET ( $a_w$ 0,113-0,43)			GAB ( $a_w$ 0,113-0,975)			
	$x_m$ (gH <sub>2</sub> O/kg(s.s))	$C_B$	$r^2$	$x_m$ (gH <sub>2</sub> O/kg(s.s))	K	$C_G$	$r^2$
<b>Film (1:1)</b>	83,0	1,00	0,96	29,4	0,01	97,62	0,95

La isoterma de GAB describe muy bien los valores de sorción de agua hasta valores de actividad de agua ( $a_w$ ) de 0,98, confirmando la aplicabilidad de esta ecuación de sorción en regiones de multicapa (Van den Berg y Bruin, 1981). Es más, los tres parámetros del modelo de GAB han sido probados en valores de modelos de sorción reales de muchos alimentos a lo largo de un amplio rango de  $a_w$  (Bizot, 1983), incluyendo polisacáridos (Bizot y col, 1997). En contraste el modelo de BET fue aplicable sólo hasta valores de  $a_w$  de 0,43 para los *films* de mezcla (1:1), lo que concuerda con lo señalado por Zug (2005) de que en casi todos los casos, los gráficos de BET, resultan lineales solamente en un rango acotado de  $a_w$ :  $0,05 < a_w < 0,35-0,4$ .

### 6.9. Microestructura, por microscopía electrónica de barrido (SEM)

En la figura 6.9. se muestran las microfotografías superficiales (a y b) y transversales (c y d) de los *films* de mezcla (1:1), obtenidas a través de microscopía electrónica de barrido (SEM) con un aumento de 4500x y 700x respectivamente.

En la figura 6.9. se aprecia que el *film* de mezcla (1:1) muestra una superficie compacta, homogénea, sin presencia de poros ni canales (a). En la figura 6.9.b que muestra la microestructura de la superficie inferior del *film*, se pueden apreciar pequeñas imperfecciones, las que se pueden haber sido causadas al retirar el *film* del plástico produciendo estrías.

Otro factor que puede influir en la superficie obtenida podría ser debida a que los *films* en su superficie interior conserven la textura de las superficies donde fueron moldeados (Pol y col, 2002).

La microestructura de la superficie del *film* de mezcla (1:1), muestra ser menos fibrosa que las de los *films* de QoR-LA, analizados por Cárcamo (2006), los que se pueden ver en la figura 9.2 del anexo 9.4.

En cuanto a la microestructura de los cortes transversales en la figura 6.9 (c y d), éstos muestran una geografía muy uniforme. Ambas observaciones tanto en la superficie, como en el corte transversal son muy importantes, ya que una matriz homogénea de un *film* es un buen indicador de su integridad estructural, y en consecuencia es de esperar que presente buenas propiedades mecánicas (Mali y col., 2002).

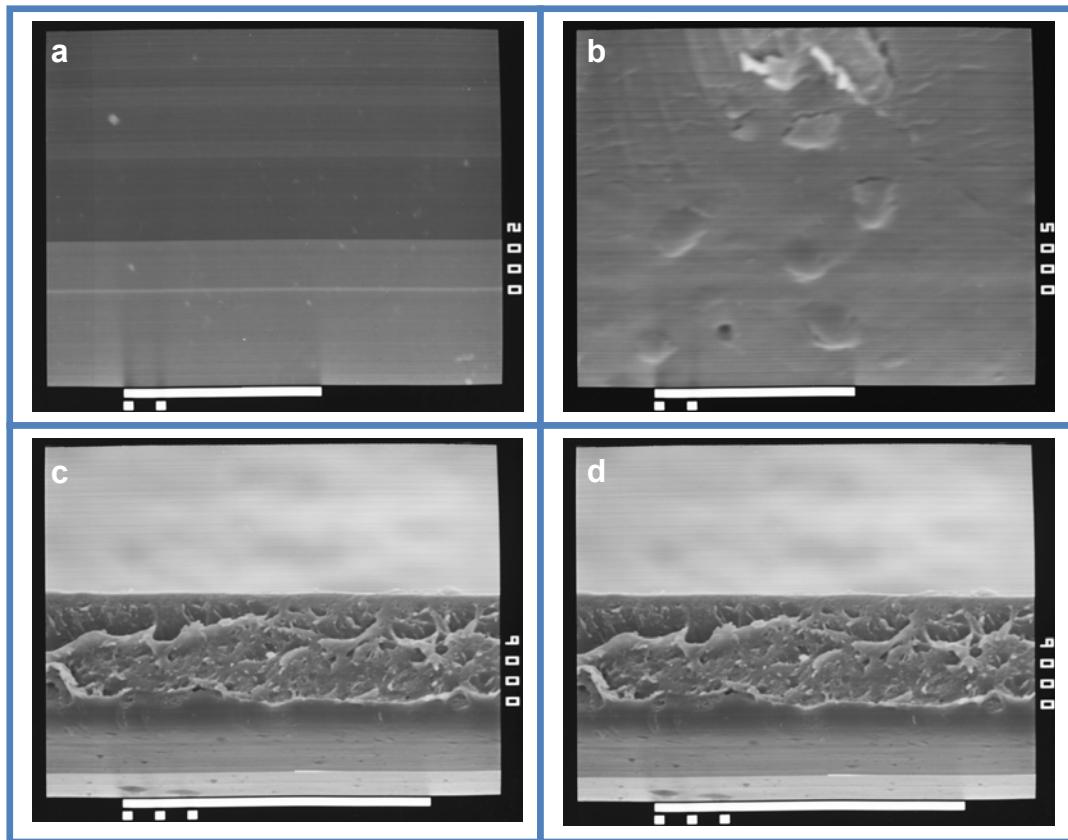


Figura 6.9. Microfotografías electrónicas de barrido de los *films* de mezcla (1:1). Superficie superior (a) e inferior (b) con aumento de 4500. De canto diferentes trozos (c y d) con aumento de 700.

## 7. CONCLUSIONES

- Se comprobó la hipótesis de trabajo en la cual la presencia de proteínas de quínoa potencia las propiedades de los *films* elaborados en mezclas con Qo.
- Las condiciones óptimas para incorporar las proteínas a mezclas con Qo resultó ser la incorporación de un extracto acuoso proteico (EAP): proporción H:A=1:7,5, pH de extracción 9 y método de separación por centrifugación.
- Se trabajó con la proporción de EAP:Qo 1:1 (%v/v), debido a las buenas propiedades mecánicas y a que eran de fácil manipulación al momento de realizar los análisis.
- Las proteínas resultaron ser un aporte a las propiedades mecánicas del *film* de mezcla (P:Qo), ya que se obtuvo un ETR comparable a otros *films* provenientes de proteínas, no así al de Qo solo. Por otra parte el A% fue cuatro veces mayor que el que presentaba el *film* de Qo, por lo que las proteínas estarían actuando como plastificante en el *film* de mezcla.
- Las propiedades de barrera al vapor de agua (TVA), resultó significativamente mejor en mezclas de P-Qo que sólo Qo, lo cual tiene directa relación con la interacción del agua con las moléculas de proteínas, por lo que el *film* de mezcla obtuvo valores menores de TVA en comparación a los *films* de Qo.
- La permeabilidad al oxígeno (PO) se vio aumentada con el aporte de proteínas en mezclas con Qo, presentando los *films* de mezcla una PO intermedia en comparación a la baja PO que tienen los *films* de Qo.
- Los *films* de mezcla demostraron tener una ( $a_w$ ) significativamente menor que los *films* de sólo Qo, lo que sumado a las propiedades bactericidas de éste, aumentan las barreras contra el desarrollo microbiológico al momento de ser utilizadas en alimentos.
- La microestructura del *film* de mezcla demostró ser homogénea y de baja porosidad.
- Un *biofilm* comestible de estas características puede mejorar la calidad de alimentos mínimamente procesados sin contaminar el medio ambiente y extender la vida útil de éstos, ya que los proveería de una atmósfera modificada que trabajaría como barrera contra la humedad, oxígeno y también contra el ataque microbiológico.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

ABUGOCH, L. Caracterización y estudio de películas comestibles elaboradas con biopolímeros provenientes de aislados proteicos de quínoa y quitosano. Proyecto Fondecyt. Santiago, Chile, 2006a.

ABUGOCH, L. Relación estructura-funcionalidad de glutelinas y aislados proteicos de amaranto (*Amaranthus Hypochondriacus*). Tesis doctoral. Mar del Plata, Argentina. Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Exactas, 2006b.

ALBARRAN C. R. Estudio de algunos componentes químicos, caracteres morfoanatómicos y patrones proteicos en semillas de dos ecotipos de quínoa (*Chenopodium quinoa wild*). Concepción, Chile. Universidad de Concepción, 1993.

AOAC .Association of Official Analytical Chemists Inc. Official Methods of Analysis, ed. 16; Ed.Williams, S.; Arlington, VA, 1995.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists Inc. Official Methods of Analysis”, 14ª ed. Arlington, VA. Editorial Williams, S, 1984.

ARAI, K.; KINUMAKI, T. Y FUJITA, T. Toxicity of chitosan. Bull Tokai Reg Fish Res Lab, 56:89-92. 1968.

ARANEDA, G. Obtención, caracterización y estudio de vida útil de la harina integral de quínoa. Tesis (Ingeniería en Alimentos). Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, 2004.

ASTM D 5458-95. Standard test method for peel cling of stretch wrap film. American Society for Testing and Materials, Estados Unidos. 8 pp, 2001.

ASTM D3985. (1995). Standard test method for oxygen gas transmission rate through plastic films and sheeting using a coulometric sensor. American Society for Testing and Materials. West Conshohocken, PA, USA.

AYHLLON-MEIXUEIRO, F.; VACA-GARCIA, C. Y SILVESTRE, F. Biodegradable Films from isolate of sunflower (*Helianthus annuus*) proteins. J. Agric. Food Chem., (48):3032-3036, 2000.

BEGIN, R Y .VAN CALSTEREN, M. Antimicrobial films produced from chitosan. Int. J. Biol. Macromol., (26):63-67, 1999.

BERGER, J., REIST, M., MAYER, J., FELT, O., PEPPAS, N., GURNY, R. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. Eur. J. Pharm. Biopharm., 57(1):19-34, 2004.

BIZOT, H. Using the GAB model to construct sorption isotherms, in physical properties of foods, Ed by Jowitt R, Escher F, Hallstrom B, Meffert HFTh, Spiess WEL and Vos G, Applied Science Publishers, New York, pp 43-54, 1983.

BIZOT, H.; LE BAIL, P.; LEROUX, B.; DAVY, J.; ROGER, P. Y BULEON, A. Calorimetric evaluation of the glass transition in hydrated, linear and branched poly-anhydroglucose compounds. Carbohydr. Polym. (32): 33-50, 1997.

BRADFORD, M. M. A (1976) "Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Micrograms Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Anal. Biochem." 72: 248- 254

BRINEGAR, C.; GOUNDAN, S. Isolation and characterization of chenopodin, the 11S seed storage protein of quinoa (*Chenopodium quinoa*). J. Agric. Food Chem., (41):182-185, 1993.

CANER, C.; VERGANO, P.J. Y WILES, J.L. Chitosan film mechanical and permeation properties as affected by acid, plasticizer, and storage. J. Food Sci., 63(6):1049-1053.

CAO Y. Y CHANG K. Edible films prepared from water extract of soybeans. Journal of Food Science, 67(4):1449-1454, 2001

CÁRCAMO, C. Preparación de films de quitosano-alginato y comparación de sus propiedades mecánicas y biológicas con films de quitosano. Tesis de pregrado (Química y Farmacia). Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, 2005.

CASTIMPOLAS, N. A note on dissimilar subunits present in dissociated globulins. Cereal Chem., (36):1086-1089, 1971.

CHATELETE, C., DAMOUR, O., DOMARD, A. Influence of the degree of acetylation on some biological properties of chitosan films. Biomaterials, 22(3):261-268, 2001.

CHENITE, A., CHAPUT, C., WANG, D., COMBES, C., BUSCHMANN, M., HOEMANN, C., LEROUX, J., ATKINSON, B., BINETTE, F., SELMANI, A. Novel injectable neutral solutions of chitosan form biodegradable gels in situ. Biomaterials, 21(21):2155-2161, 2000.

CHOI, W. Y HAN, J. Film-forming Mechanism and Heat Denaturation Effects on the Physical and Chemical Properties of Pea-Protein-Isolate Edible Films. J. Food Sci., 67(4):1399-1406, 2002.

CHUNRAN, H., LEDERER, C., MC DANIEL, M. Y ZHAO, Y. Sensory evaluation of fresh strawberries (*Fragaria ananassa*) coated with chitosan-based edible coatings. J. Food Sci., 70(3):172-178, 2005.

COMAI, S., BERTAZZO, A., BAILONI, L., ZANCATO, M., COSTA, V.L. Y ALLEGRI, G. The content of proteic and nonproteic (free and protein-bound) tryptophan in quinoa and cereal flours. Food Chemistry, 2006.



DANDAMRONGRAK, R., G. YOUNG, Y R. MASON. Evaluation of various pre-treatments for the dehydration of banana and selection of suitable drying models. Journal of Food Engineering. (55):139-146, (2002).

DEBEAUFORT, F.; QUEZADA-GALLO, J. Y VOILLEY, A. Edible films and coatings: tomorrows packings: A Review. Critical Revs. In Food Sci. 38(4):299-313, 1998.

DHANIKULA, A., PANCHAGNULA, R. Development and characterization of biodegradable chitosan films for local delivery of paclitaxel. AAPS J, 6(3):E27, 2004.

DIAB, T.; BILIADERIS, C.; GERASOPOULOS, D. Y SFAKIOTAKIS, E. Physicochemical properties and application of pullulan edible films and coatings in fruit preservation. J. Sci. Food Agric., (81):988-1000, 2001.

GALIETTA, G.; DI GIOIA, L.; GUILBERT, G. Y CUQ, B. Mechanical and Thermomechanical properties of films based on whey proteins as affected by plasticizer and crosslinking agents. J Dairy Sci., (81):3123–3130, 1998.

GÁLVEZ, A.; ARAVENA, E. Y MONDACA, R. Isotermas de Adsorción en Harina de Maíz. Ciencia y Tecnología de Alimetos, Campinas, 26(4):821-827, 2006.

GENNADIOS, A. Y WELLER, C. Edible films and coatings from wheat and corn proteins. Food Tech., 10(63), 1990.

HONG KYOON, N.; NA, Y.P.; SHIN, H.L. Y COL. International Journal of Food Microbiology, 74, 65, 2002.

HONORATO, G. C., OLIVEIRA, E. L., DE S. ALSINA, O. L. Y COL. Estudio del Proceso Cinético del Secado de Cefalotórax de Camarón. Inf. tecnol., 16(4):3-10, 2005.

HOYOS, R. Y URREGO, M. Empaques y/o películas comestibles y biodegradables. Facultad de Química Farmacéutica. U de A. Pag. 8-107, 1997.

HU, Y., TOPOLKARAEV, V., HILTNER, A., BAER, E. Measurement of water vapor transmission rate in highly permeable films. J Appl Polym Sci, 81(7):1624-1633, 2001.

JAGUR-GRODZINSKI, J. Biomedical application of functional polymers. React Funct Polym, 39(2):99-138, 1999.

JOHNSTON, K.A. Y DUCKWORTH, R.B. The influence of soluble components on water sorption hysteresis, in properties of water in foods, Ed by Simatos, D y Multon, J.L., Martinus Nijhoff, Dordrecht, pp 65-81, 1985.

KHAN, T., PEH, K., CH'NG, H. Mechanical, bioadhesive strength and biological evaluations of chitosan films for wound dressing. J Pharm Pharmaceut Sci, 3(3):303-311, 2000.

KHWALDIA, K.; PEREZ, C.; BANON, S.; DESOBRY, S. Y HARDY, J. Milk proteins for edible films and coatings. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, (44):239-251, 2004.

KITTUR, F.S.; KUMAR, K.; THARANATHAN, R. Functional packaging properties of chitosan films. Z. Lebensm. Unters. Forsch. A(206):44-47,1998.

KRISTIANSEN, A., VARUM, K., GRASDALEN, H. The interactions between highly de-N-acetylated chitosans and lysozyme from chicken egg white studied by <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy. Eur J Biochem, 251(1-2):335-342, 1998.

LABUZA, T.; TANNENBAUM, S.R. Y KAREI, M. Water content and stability of low-moisture and intermediate-moisture foods. Food Technol., 25:543-550, 1970.

LÁREZ, C. Algunos usos del quitosano en sistemas acuosos. Revista Iberoamericana de Polímeros, 4(91), 2003.

LIEBERMAN, E.R. Y GUILBERT, S.G. Gas permeation of collagen films as affected by cross-linkage, moisture, and plastizer content. J. Polym. Sci., Symp. 41:33, 1973.

LLOYD, L., KENNEDY, J., METHACANON, P., PATERSON, M., KNILL, C. Carbohydrate polymers as wound management aids. Carboydr. Polym., 37(3):315-322, 1998.

MAJETI, N.V., KUMAR, R. A review of chitin and chitosan applications. Reactive and Functional Polymers, 46(1):1-27, 2000.

MALI, S.; GROSSMANN, V.E.; GARCÍA, M.A.; MARTINO, M. Y ZARITZKY, N.E. Microstructural characterization of yam starch films. Carboydrate Polymers, 50:379-386, 2002.

MATÉ, J.I.; FRANKEL, E.N. Y KROCHTA, J.M. Whey protein isolate edible coating: Effect on the rancidity process of dry roasted peanuts. J. Agric. Food Chem., 44:1736-1740, 1996.

McCABE, W.L.; SMITH, J.C. y HARRIOT, P. Drying of solids. En su: Unit operations of chemical engineering. 4<sup>a</sup> ed. USA, Mc Graw-Hill, 1985. pp. 717-722.

MCHUGH, T.H. Y KROCHTA, J.M. Sorbitol-versus glycerol-plasticized whey proteins edible films: Integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. J. Agric. Food Chem., (46):318-324, 1994.

NORMA CHILENA OFICIAL NCh1151.Of76. Láminas y películas plásticas – Determinación de las propiedades de tracción. pp. 13, 1999.

NORMA CHILENA OFICIAL NCh2098.Of2000. Películas de recubrimiento orgánico – Determinación de la transmisión de vapor de agua. pp. 13, 2000.

OGUNGBENLE, H. Nutritional evaluation and functional properties of quinoa (*Chenopodium quinoa*) flour". International Journal of Food Sciences and Nutrition, (54):153-158, 2003.

OLIVAS, G.I. Y BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Edible coatings for fresh-cut foods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 45:657, 2005.

OSBORNE, T. En. The Vegetable Proteins. 2da. edición ed. Longmans y Green, Nueva York.; 1924.

OSHODI AA, OGUNGBENLE HN Y OLADIMEJI, M.O. Chemical composition, nutritionally valuable minerals and functional properties of benniseed, pearl millet and quinoa flours. Int. J. Food Sci. Nutr., (50):325 -331, 1999.

PEARSON D. Chemical Analysis of foods, 6 th edition. London, Churchill. :6-9, 1976.

POL, H.; DAWSON, P.; ACTON, J. Y OGALE, A. Soy protein isolate/corn-zein laminated films: transport and mechanical properties. J.Food Sci., 67(1):212-217, 2002.

RAHMAN, S. Food properties handbook. CRC press, Boca Raton, FL.:1-83, 1995.

RITTHIDEJ, G., PHAECHAMUD, T., KOIZUMI, T. Moist heat treatment on physicochemical change of chitosan salt films. Int J of Pharm, 232(1-2):11-22, 2002.

RIVERA, M. Obtención, caracterización estructural y determinación de las propiedades funcionales de un aislado proteico de Quinoa orgánica (*Chenopodium Quinoa*). Tesis de pregrado (Ingeniería en Alimentos) Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, 2007.

RUALES Y NAIR. Nutritional quality of the protein in quinoa (*Chenopodium Quinoa Willd*) seeds. Plant Foods Hum Nutr. Jan; 42(1): 1-11, 1992.

SEBTI, I., MARTIAL-GROS, A., CARNET-PANTIEZ, A., GRELIER, S. Y COMA, V. Chitosan polymer as bioactive coating and film against *Aspergillus Niger* contamination. Journal of food science, 70(2):100-104, 2005.

SILVA, J. Obtención, caracterización y relación estructura - funcionalidad de un aislado proteico de quinoa (*Chenopodium Quinoa*) orgánica proveniente de la VI región de Chile. Tesis de pregrado (Ingeniería en Alimentos). Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, 2007.

SIMATOS, D. Y KAREL, M. Characterization of the conditions of water in foods-physicochemical aspects, in food preservation by water activity, Ed by Seow, C.C., Elsevier, Amsterdam. :1-41, 1988.

SOPADE, P.A.; AJISEGIRI, E.S. Moisture sorption study on Nigerian foods: maize and sorghum. Journal of Food Process Engineering. 17(1):33-56, 1994.

TAPIA, C. Estudio de matrices hidrofílicas basadas en mezclas y complejos interpoliméricos como sistemas de liberación prolongada de fármaco. Tesis de Doctorado en Ciencias Farmacéuticas. Universidad de Chile. 73 pp, 2005.

TAPIA, C.; CORBALÁN, V.; COSTA, E.; GAI, M. Y YAZDANI-PEDRAM, M. Study of the release mechanism of diltiazem hydrochloride from matrices based on chitosan-alginate and chitosan-carrageenan mixtures. Biomacromolecules publicado en la web 2-Junio-2005

TAPIA-BLÁCIDO, D.; MAURI, E.C.; MENEGALLI, F.C.; SOBRAL, P.J.A. Y AÑÓN, M.C. Contribution of the starch, protein, and lipid fractions to the physical, thermal, and structural properties of amaranth (*amaranthus caudatus*) flour films. J. Food Sci., 72(5):293-300, 2007.

TIMMERMANN, E.O.; CHIRIFE, J.; IGLESIAS, H.A. Water sorption isotherm of foods and foodstuffs: BET or GAB parameters?. Journal of Food Engineering, 48(1):19-31, 2001.

TOLOBA, M. P.; PELTZER, M.; ENRIQUEZ, N.; POLLIO, M. L. Grain sorption equilibria of quinoa grains. Journal of Food Engineering, 61(3):365-371, 2004.

URIBE, N. Preparación y caracterización de films de quitosano útiles como apósitos en el tratamiento de quemaduras. Tesis de pregrado (Química y Farmacia). Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, 2003.

VAN DER BERG, C. Y BRUIN, S. Water activity and its estimation in food systems: theoretical aspects, in water activity: Influence on food quality, Ed by Rockland LB and Stewart GF, Academic Press, New York, :1-61, 1981.

VILCHES, C., GELY, M., Y SANTANA, E. Physical Properties of Quinoa Seeds. Biosystems Engineering. 86(1):59-65, 2003.

VIROBEN, G. ; BARBOT, J. ; MOULOINGUI, Z. Y GUÉGUEN, J. Preparation and characterization of films from pea protein. J. Agric. Food Chem., (48):1064-1069, 2000.

YOU-JIN JEON, JANAK Y.V.A. KAMIL Y FERREIDON, S. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and atlantic cod. J. Agric. Food Chem., (50):5167-5178, 2002.

ZUG, J.P. Isotherma de sorción de tres etapas y modelos de sorción restringida. Curso de fisicoquímica especial. Facultad de ingeniería, Universidad de Bs. Aires. Monografía (6), 2002.

## 9. ANEXOS

### ANEXO 9.1: COMPOSICIÓN PROXIMAL Y AMINOACÍDICA DE LA HARINA DE QUÍNOA.

**Tabla 9.1** Análisis proximal harina de quínoa

Componente	% (p/p)
Grasa	5,2
Humedad	11,7
Cenizas	1,4
Proteínas	14,7
Carbohidratos totales	64,2

Fuente: Araneda, 2004.

**Tabla 9.2** Contenido de aminoácidos en la harina de quínoa

Aminoácidos	%
Ac. Aspártico	1,3
Ac. Glutámico	3
Serina	0,7
Histidina*	0,4
Glicina	1,2
Treonina*	0,8
Arginina*	1,6
Alanina	0,7
Tirosina	0,6
Valina*	0,9
Metionina*	0,4
Cistina	0,1
Isoleucina*	0,8
Leucina*	1,2
Fenilalanina*	0,8
Lisina*	1

\* Aminoácidos esenciales. Fuente: Araneda, 2004

**ANEXO 9.2: SISTEMA DE OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE LAS PROTEÍNAS DE QUÍNOA.**

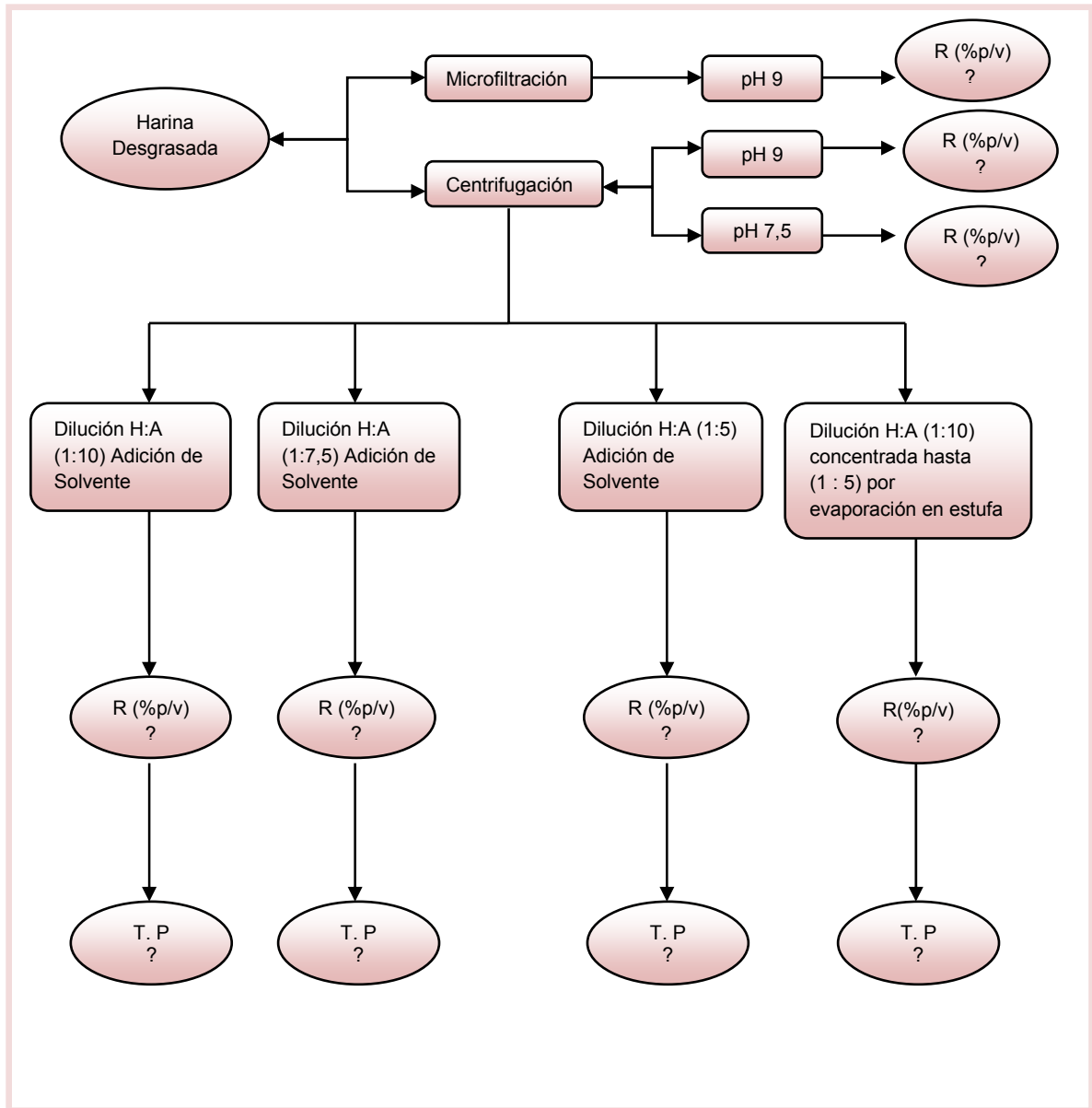


Figura 9.1. Diagrama de optimización del proceso de extracción de las proteínas de quínoa, donde H:A es (harina : agua), R es rendimiento y T.P es tiempo de proceso.

**ANEXO 9.3: MODELOS DE BET Y GAB.**

Tabla 9.3. Ecuaciones a utilizar para el modelado de las isothermas de los *films* de mezcla.

Modelo	Ecuación	Parámetros
<b>GAB</b>	$X_w = \frac{X_m \cdot C \cdot k \cdot a_w}{(1 - k \cdot a_w) \cdot (1 + (C - 1) \cdot k \cdot a_w)}$	<p><math>X_m</math>, es la humedad del producto correspondiente a la situación en que los puntos de adsorción primarios están saturados por moléculas de agua.</p> <p><math>C</math>, es la constante de Guggenheim, característica del producto y relacionada con el calor de adsorción de la monocapa.</p> <p><math>K</math>, es un factor de corrección relacionado con el calor de sorción de la multicapa.</p>
<b>BET</b>	$X_w = \frac{X_m \cdot C \cdot a_w}{(1 - a_w) \cdot (1 + (C - 1) \cdot a_w)}$	<p><math>X_m</math>, es la humedad del producto correspondiente a una capa monomolecular de agua adsorbida.</p> <p><math>C</math>, constante característica del material relacionada con el calor desprendido en el proceso de sorción.</p>

**ANEXO 9.4: MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DE FILMS DE QUITOSANO.**

