



Universidad de Chile

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas

Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química



**Fabricación de nano y micropartículas de  $\beta$ -quitina a partir de la pluma del calamar gigante (*Dosidicus gigas*) y evaluación de su efecto en las propiedades mecánicas y barrera al vapor de agua de películas PVOH/Quitosano**

**PROFESOR**

**CRISTIAN TAPIA VILLANUEVA**

**PATROCINANTE:**

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

**DIRECTORES DE  
MEMORIA:**

**LILIAN ELIZABETH ABUGOCH JAMES**

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

**CRISTIAN TAPIA VILLANUEVA**

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

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

**Luis Alberto Llanquileo Alarcón**

**SANTIAGO-CHILE**

**2018**

## **Dedicatoria**

*A mis Padres.*

## **Agradecimientos**

A mi profesor y director de tesis Cristian Tapia y a la profesora y co-directora de tesis Lilian Abugoch, por su disposición para ayudar, corregir y resolver los problemas que surgieron a lo largo de este trabajo, por su confianza y apoyo entregado.

A Juliette Naihual, Leonor Salamanca, Paola Vera, Isabel Romo, Migdalia Arazo y Daniel Salgado, por compartir su tiempo, sus conocimientos y buena voluntad en todo momento.

A mis padres, hermana y novia por su apoyo, ánimo, paciencia y amor.

# Índice General

## Contenido

Dedicatoria .....	II
Agradecimientos .....	III
Índice General .....	IV
Índice de tablas .....	VI
Índice de figuras .....	VII
Índice de Fórmulas y Ecuaciones .....	IX
Abreviaciones y Simbología .....	X
Resumen .....	XII
<b>1. Introducción .....</b>	<b>1</b>
1.1.1 Quitina .....	2
1.1.2 Quitosano .....	5
1.1.3 Alcohol de Polivinilo (PVOH) .....	6
1.1.4 Nanocompuestos.....	7
1.1.5 Fabricación de nanopartículas de quitina mediante ultrasonido .....	9
<b>1.2 Hipótesis .....</b>	<b>10</b>
<b>1.3 Objetivos .....</b>	<b>10</b>
1.3.1 Objetivo General.....	10
1.3.2 Objetivos Específicos .....	10
<b>2 Materiales y Métodos .....</b>	<b>11</b>
2.1.1 Materia prima.....	11
2.1.2 Materiales.....	11
2.1.3 Equipos .....	11
<b>2.2 Metodología .....</b>	<b>12</b>
2.2.1 Procedimiento de obtención de nanopartículas de $\beta$ -quitina .....	12
2.2.2 Incorporación de MpQ y NpQ en películas PVOH y PVOH/Qo.....	15
<b>3.1 Determinación de tamaño y potencial Z de nanopartículas.....</b>	<b>17</b>
<b>3.2 Evaluación de propiedades mecánicas.....</b>	<b>17</b>

3.2.1	Espesor (E) .....	17
3.2.2	Esfuerzo de tracción a la ruptura (ETR), alargamiento porcentual (A%) y Fuerza máxima de desprendimiento.....	17
<b>3.3</b>	<b>Evaluación de propiedad de barrera.....</b>	<b>19</b>
3.3.1	Grado de transmisión de vapor de agua (TVA) y permeabilidad al vapor de agua (PVA) .....	19
<b>4</b>	<b>Resultados y discusión .....</b>	<b>21</b>
<b>4.1</b>	<b>Caracterización de nanoparticulas, estabilidad en el tiempo y selección de parámetros óptimos en obtención de NpQ.....</b>	<b>21</b>
4.1.1	Determinación de tamaño y potencial Z y determinación de tiempo óptimo para diferentes periodos de trabajo .....	21
4.1.2	Estabilidad de NpQ en el tiempo.....	23
<b>4.2</b>	<b>Caracterización de películas PVOH cargadas con micropartículas de quitina ...</b>	<b>25</b>
4.2.1	Propiedades mecánicas: espesor (E), porcentaje de alargamiento (A%) y esfuerzo de tracción a la ruptura (ETR) para películas Control PVOH:Qo (100:0; 90:10; 80:20 y 70:30), PVOH:Qo MpQ128 y PVOH:MpQ530 .....	25
4.2.2	Permeabilidad al vapor de agua (PVA) para películas control PVOH:Qo (100:0; 90:10; 80:20 y 70:30) .....	29
4.2.3	Permeabilidad al vapor de agua (PVA) para películas PVOH:Qo (100:0; 90:10; 80:20 y 70:30) MpQ128.....	31
4.2.4	Propiedades mecánicas: espesor (E), porcentaje de alargamiento (A%), esfuerzo de tracción a la ruptura (ETR) y permeabilidad al vapor de agua (PVA) para películas control PVOH:Qo (100:0; 90:10; 80:20 y 70:30), PVOH70:Qo30 MpQ128 y películas PVOH:Qo NpQ.....	34
<b>5</b>	<b>Conclusiones.....</b>	<b>39</b>
<b>6</b>	<b>Bibliografía .....</b>	<b>41</b>
<b>7.</b>	<b>Anexos.....</b>	<b>49</b>

## Índice de tablas

	<u>Contenido</u>	<u>Páginas</u>
<b>Tabla 1.</b>	Propiedades fisicoquímicas de Polivinil Alcohol.	7
<b>Tabla 2.</b>	Tiempo y energía para obtener $\beta$ -quitina en ultrasonido	14
<b>Tabla 3.</b>	Incorporación de MpQ530 en una relación 1:1 (PVOH:MpQ530) en solución de 150 mL, tiempo y rpm aplicado.	16
<b>Tabla 4.</b>	Formulaciones de PVA/Qo con incorporación de MpQ128 Y NpQ al 1% y 5% en una en relación masa Quitina/Quitosano en películas de 70 g.	16
<b>Tabla 5.</b>	Caracterización (Zaverage, PDI y Potencial Z) de nanopartículas obtenidas a 20, 30 y 40 min de ultrasonido.	23
<b>Tabla 6.</b>	Estabilidad de NpQ en el tiempo, caracterización (Z Average, PDI y potencial Z) obtenidas por ultrasonido durante 30 min	24
<b>Tabla 7.</b>	Valores de pendientes obtenidas en películas control en proporciones 100:0, 90:10, 80:20 y 70:30 entre 0 - 6, 7 - 15 y 16 - 21 días para pérdida de agua.	30
<b>Tabla 8.</b>	Valores de permeabilidad al vapor de agua (PVA) obtenido en películas control elaboradas entre 0 – 6, 7 – 15 y 16 – 21 días.	31
<b>Tabla 9.</b>	Valores de pendientes obtenidas en películas control y películas con incorporación de MpQ al 1 y 5% en proporciones 90:10, 80:20 y 70:30 entre 0 – 21 días para pérdida de agua.	33
<b>Tabla 10.</b>	Valores de pendientes obtenidas para películas control 70:30, películas MpQ128 70:30 y NpQ entre 0 – 21 días para pérdida de agua.	37

## Índice de figuras

	<u>Contenido</u>	<u>Páginas</u>
<b>Figura 1.</b>	Representación esquemática de estructuras polimórficas de quitina.	2
<b>Figura 2.</b>	Morfología y estructura interna del gladius del calamar. Gladius (A). Vista ventral (B) y lateral (C). Proostracum (PR), cono (CO) y rostrum (RO). Capas de Gladius: exterior (OUT), media (MID) y capas internas (INN). Elementos estructurales: rachis (RA), placas laterales (LP), alas (W), banderas de cono (CF), vástago (ST). Asíntotas delimitadoras de elementos estructurales del gladius: asíntotas medianas (MA), laterales (LA) y marginales (KA).	3
<b>Figura 3.</b>	Estructura química de Quitina y Quitosano.	5
<b>Figura 4.</b>	Estructura química de Alcohol Polivinílico.	6
<b>Figura 5.</b>	Diagrama obtención de $\beta$ -quitina.	13
<b>Figura 6.</b>	Sonicador utilizado en elaboración de nanopartículas de quitina. A) Sonicador Q700. B) Sonda de titanio en muestra, recipiente puesto en un vaso precipitado con agua y sal. C) Panel de control: Amplitud de 40%, Tiempo total de trabajo 30 minutos, pulsación 10 segundos ON y 10 segundos OFF.	15
<b>Figura 7.</b>	Copa Húmeda.	19
<b>Figura 8.</b>	Tamaño (nm) de partículas obtenidas en tratamiento de ultrasonido en función del tiempo (min) óptimo de trabajo y PDI obtenido	22
<b>Figura 9.</b>	Caracterización películas elaboradas. (A) Espesor. (B) Porcentaje de alargamiento. (C) Esfuerzo de Tracción a la Ruptura (ETR) para películas Control PVOH:Qo (100:0 ; 90:10; 80:20 y 70:30), PVOH:Qo MpQ128 y PVOH:MpQ530.	27
<b>Figura 10.</b>	Grafica películas control Perdida de agua v/s Tiempo. (A) Película PVOH Bifásica. (B) Película PVOH90:Qo10 Trifásica. (C) Película PVOH80:Qo20 Trifásica. (D) Película PVOH70:Qo30 Trifásica. Acondicionadas a 5°C y 85 % H.R.	29

<b>Figura 11.</b>	Grafica películas PVOH:Qo MpQ128 Perdida de agua v/s Tiempo. (A) Película PVOH90:Qo10 MpQ1%. (B) Película PVOH90:Qo10 MpQ5%. (C) Película PVOH80:Qo20 MpQ1%. (D) Película PVOH80:Qo20 MpQ5%. (E) Película PVOH70:Qo30 MpQ1%. (F) Película PVOH70:Qo30 MpQ5%. Acondicionadas a 5°C y 85 % H.R Pendientes promedio del sistema Trifásico (R2 >90%). (○) Círculos, valores de perdida de agua en film en transcurso de los días. (—) Línea continua, perdida de agua promedio obtenida.	32
<b>Figura 12.</b>	Caracterización películas elaboradas. (A) Espesor. (B) Porcentaje de alargamiento. (C) Esfuerzo de Tracción a la Ruptura (ETR) para películas Control PVOH:Qo (100:0 ; 90:10; 80:20 y 70:30),PVOH70:Qo30 MpQ128 PVOH:Qo NpQ.	35
<b>Figura 13.</b>	Permeabilidad al Vapor de Agua (PVA) para película Control PVOH70:Qo30, PVOH70:Qo30 MpQ128 y PVOH:Qo NpQ. Acondicionadas a 5°C y 85 % H.R.	37

## Índice de Fórmulas y Ecuaciones

	<u>Contenido</u>	<u>Páginas</u>
<b>Ecuación 1.</b>	Alargamiento porcentual (A%)	18
<b>Ecuación 2.</b>	Esfuerzo de tracción a la ruptura (ETR)	18
<b>Ecuación 3.</b>	Área transversal inicial del film ( $A_R$ ):	18
<b>Ecuación 4.</b>	Transmisión de vapor de agua (TVA)	20
<b>Ecuación 5.</b>	Permeabilidad al vapor de agua (PVA)	20

## **Abreviaciones y Simbología**

µm	: Micrometro
PVAc	: Acetato de Vinilo
A%	: Alargamiento Porcentual
PVOH	: Alcohol de Polivinilo
HMW	: Alto Peso Molecular
cm	: Centimetro
cPs	: Centi poise
DQi	: Dispersión de quitina
ETR	: Esfuerzo de Tracción a la Ruptura
E	: Espesor
°C	: Grados Celsius
GI	: Gelificación Iónica
Hr	: Hora
HR	: Humedad Relativa
PDI	: Índice de Polidispersidad
kDa	: Kilo Daltons
kPa	: Kilo Pascales
MPa	: Mega Pascales
MpQ	: Micropartículas de β-quitina
MpQ128	: Micropartículas de β-quitina de 128µm
MpQ530	: Micropartículas de β-quitina de 530 µm
mg	: Miligramo
mL	: Mililitro

mm	: Milimetro
mV	: Milivoltios
Nm	: Nanometro
Nps	: Nanopartículas
NpQ	: Nanopartículas de $\beta$ -quitina 290 nm.
N	: Newton
PVOH:Qo	: Película Polivinil alcohol con Quitosano.
PVA	: Permeabilidad al Vapor de Agua
Mw	: Peso molecular
PVOH	: Polivinil Alcohol
% p/p	: Porcentaje peso-peso
% v/v	: Porcentaje volumen-volumen
Qo	: Quitosano
rpm	: Revoluciones por minuto
T°	: Temperatura
TPP	: Tripolifosfato de Sodio
TVA	: Transmisión de Vapor de Agua

## Resumen

Debido a la necesidad de aumentar la vida útil y mantener la calidad de diversos frutos, han surgido los envases activos elaborados de polímeros sintéticos y biopolímeros, que buscan obtener envases económicos, amigables con el medio ambiente, con buenas propiedades físicoquímicas y propiedades barreras al oxígeno y humedad. La mezcla de polivinil alcohol – quitosano (PVOH-Qo) muestra una buena compatibilidad, biodegradabilidad, con buenas propiedades físico-mecánicas pero una deficiente barrera a la humedad. Es así que en este trabajo se planteó el fabricar partículas de  $\beta$ -quitina, provenientes de la pluma del calamar, y evaluar su efecto de barrera al vapor de agua en películas de PVOH-Qo, mediante la incorporación de estas usando ultrasonido.

Las nanopartículas (Nps) de  $\beta$ -quitina generadas por ultrasonido, presentan un Z average =  $290 \pm 34$  nm, PDI= $0,46 \pm 0,03$  y potencial Z=  $39,9 \pm 0,3$  mV. La suspensión de nanopartículas presentó una estabilidad de al menos 4 semanas almacenadas a 5°C.

Las películas de PVOH-Qo fueron mezcladas en diferentes relaciones (90:10; 80:20 y 70:30) y se les incorporó micropartículas de  $\beta$ -quitina (128 y 530  $\mu$ m) y Nps (290 nm) al 1 y 5 %. Las películas se caracterizaron según sus propiedades mecánicas y propiedad barrera al vapor de agua. El espesor de las películas control aumenta a medida que se incorpora Qo variando entre  $0,030 \pm 0,006$  mm y  $0,042$  mm  $\pm 0,003$ , siendo controlado por el tamaño de partículas que se incorpora a las mezclas. El valor de ETR para la película PVOH80:Qo20 muestra una tendencia hacer mayor a las demás mezclas, con un valor de  $17,8 \pm 0,5$  MPa probablemente a una formación mayor de puentes de hidrogeno y de enlaces OH-NH<sub>2</sub> entre los polímeros en dicha proporción. El A% aumenta en la proporción 70:30 al incorporar MpQ128 pasando de  $54,6 \pm 2,9\%$  a  $115,3 \pm 10,1\%$ .

La incorporación de Qo al PVOH provoca que el comportamiento de la pérdida del vapor de agua pase de un sistema bifásico a trifásico, mientras al

agregar MpQ128 pasa de trifásico a monofásica su cinética. El valor de PVA para la película 70:30 MpQ128 5% muestran una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) con un valor de  $0,086 \pm 0,002 \text{ g} \cdot \text{mm} / (\text{KPa} \cdot \text{h} \cdot \text{m}^2)$  en comparación a su muestra control.

## **1. Introducción**

Chile desde el año 2006 ha trabajado para ser una potencia alimentaria, para lo cual se requiere generar productos con un mínimo de procesamiento, asegurando la calidad e inocuidad alimentaria (Villalobos, Rojas & Leoparati, 2006). Dado que la fruta fresca es la principal forma de exportación, existe la necesidad de generar nuevas tecnologías para aumentar la vida útil de la fruta, así han surgido los envases inteligentes o activos, que buscan mantener en buenas condiciones el fruto con una tasa de respiración baja, pérdida de peso mínimo y protegida de daños físico-mecánicos y microbiológicos (Campos, 2012).

Diversos estudios indican que en el campo de los envases activos la combinación de polímeros sintéticos con biopolímeros, es la alternativa que tiene más posibilidades de llegar al mercado. Debido a que los polímeros sintéticos derivados del petróleo presentan buenas propiedades como baja densidad, inercia, transparencia, excelentes propiedades mecánicas y bajo costo, pero tienen el grave inconveniente que no son biodegradables, convirtiéndolo en un actor principal en la contaminación medioambiental actual, debido a su nula degradación bajo el agua y su lenta biodegradación cuando es expuesto al sol (Andrady, 2003; Chiellini, 2008; Robles, 1996; Yam & Lee, 2012).

En cambio los biopolímeros tienen la gran ventaja de presentar bioactividad y ser biodegradables, pero son de mayor costo, tienen una menor disponibilidad a nivel comercial, algunas limitaciones en su tratamiento, defecto en sus propiedades mecánica-físicas, débil capacidad barrera al gas y a la humedad. Permitiendo así una disminución de firmeza y peso en el fruto, junto con provocar un aumento de la velocidad de respiración, favoreciendo su maduración. Debido a esto, es necesario crear una barrera física que aumente la concentración de CO<sub>2</sub> y disminuya la del O<sub>2</sub>, al mismo tiempo debe disminuir la pérdida de agua, para mantener su calidad y aumentar su vida útil (Ramos, Bautista, Barrera, Bosquez, Alía, & Estrada, 2010; Romero, Zamudio & Bello, 2011).

### 1.1.1 Quitina

La quitina es el segundo biopolímero más abundante en la naturaleza, se estima que su tasa de reposición en la biosfera duplica a la celulosa y es generada entre  $10^{10}$  a  $10^{11}$  toneladas cada año (Hernández, Águila, Flores, Viveros & Ramos, 2009; Ifuku y cols., 2011). Es un polímero lineal de poli [ $\beta$ -(1-4)-2-acetamida-2-desoxi-D-glucopiranosas] unidas por enlaces glicosídicos (Ngoc, Cong, Van & Si, 2016; Suenaga y cols, 2016). Se encuentra en la estructura de esqueletos de artrópodos, anélidos, moluscos y algas, y también está presente en las paredes celulares de algunos hongos (Campana y cols, 2007; Lu y cols, 2013). Presenta estados polimorfos, debido a diferentes disposiciones de las cadenas de polímeros, generando propiedades diversas (Fig. 1). La  $\alpha$ - y  $\beta$ -quitina, presentan una pequeña cantidad de grupos aminos C2 que pueden ser protonados en condiciones ácidas (Fan, Saito & Isogai, 2008). La  $\alpha$ -quitina, la más abundante y estable, presenta sus cadenas de polímeros en sentido antiparalelo, generando un sólido denso, insoluble en agua, capaz de adsorber y retener la humedad; la  $\beta$ -quitina presenta sus cadenas en disposición paralela, permitiendo un sólido menos denso, apariencia fibrosa, insoluble en agua, con una mayor capacidad de absorber humedad que la  $\alpha$ -quitina; mientras la  $\gamma$ -quitina presenta una disposición combinada de las ya descritas (Campana y cols, 2007; Fan, Saito & Isogai, 2008; Suenaga y cols, 2016). Es considerada un sub-producto del sector pesquero (camarones, cáscaras de cangrejo y pluma de calamar), generando un problema medio ambiental al ser desechada por la industria (Fuentes & Pastor, 2009; Lu y cols, 2013).

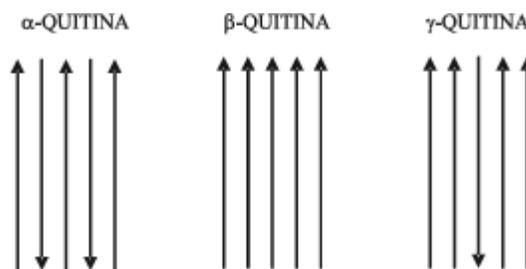
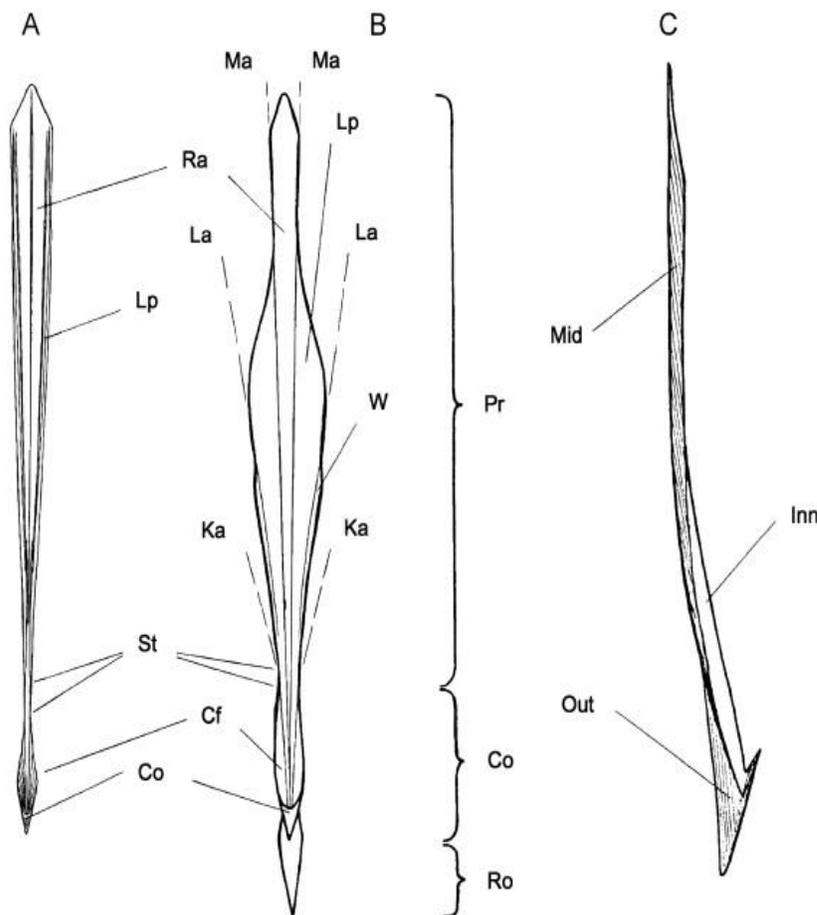


Fig. 1.- Representación esquemática de estructuras polimórficas de quitina.

La  $\beta$ -quitina es posible obtenerla de diatomeas, gusanos de tubo y pluma de calamar, siendo esta última la más utilizada (Fan, Saito & Isogai, 2008; Suenaga y cols, 2016; Ngoc y cols, 2016). La Pluma de calamar o gladius, es una concha interna transparente, ubicada dentro del manto del calamar, dividida en tres partes morfológicas; Proostracum, cono y rostrum. Se compone de capas externas, intermedias e internas (Fig. 2) (Arkhipkin, Bizikov & Fuchs, 2012; Shavandi y cols, 2017).



**Fig. 2.-** Morfología y estructura interna del gladius del calamar (Arkhipkin, Bizikov & Fuchs, 2012). Gladius (A). Vista ventral (B) y lateral (C). Proostracum (PR), cono (CO) y rostrum (RO). Capas de Gladius: exterior (OUT), media (MID) y capas internas (INN). Elementos estructurales: rachis (RA), placas laterales (LP), alas (W), banderas de cono (CF), vástago (ST). Asíntotas delimitadoras de elementos estructurales del gladius: asíntotas medianas (MA), laterales (LA) y marginales (KA).

La pluma quitinosa cumple la función de columna vertebral en el manto del calamar, apoyando sus músculos, el de las aletas y sus órganos internos, se caracteriza por ser flexible, permitiendo el movimiento propulsor de chorro (Arkhipkin, Bizikov & Fuchs, 2012). Según Arkhipkin (2012) la capa intermedia del gladius está compuesta de sustancia quitinosa dura que participa en la formación

del proostracum y del cono; La capa interna está compuesta de una sustancia quitinosa blanda y se deposita en el lado interno de la parte posterior del proostracum y dentro del cono. La capa exterior es similar en composición a la capa interna y forma el rostrum.

La  $\alpha$ -quitina se extrae de exoesqueletos de crustáceos donde se encuentra asociada a carbonato de calcio, proteínas, pigmentos y lípidos en una pequeña cantidad, lo que hace necesario un proceso de desmineralización, desproteínización y despigmentación. En la desmineralización, se utilizan soluciones ácidas, a temperaturas y tiempos variables, entre 0 – 100°C y entre 30 minutos a 48 horas, respectivamente. Para eliminar las proteínas generalmente se utiliza NaOH (1 – 10%) a temperaturas que oscilan entre los 65 – 100°C. Finalmente se realiza una extracción por disolventes o blanqueo para eliminar los pigmentos. Dichos procesos deben ser controlados para evitar la degradación de la cadena, despolimerización e hidrólisis de los grupos acetamida, lo cual afectaría el rendimiento y calidad del producto (Campana y cols, 2007; Shavandi y cols, 2017).

La pluma de calamar, contiene  $\beta$ -quitina (31 – 49%) combinada con proteínas, minerales y lípidos en pequeñas cantidades, y se encuentra libre de pigmentos. Permite eliminar el tratamiento de desmineralización y despigmentación del método convencional (Ngoc y cols, 2016). Diversos estudios han demostrado, que la  $\beta$ -quitina obtenida tiene una mayor solubilidad, mayor reactividad, mayor afinidad hacia los disolventes e hinchamiento, junto con un peso molecular más alto ( $5.300 < M_w < 11.680$  kDa) que la  $\alpha$ -quitina ( $650 < M_w < 1.036$  kDa). Además es más susceptible a la desacetilación para formar quitosano (Campana y cols, 2007; Fan y cols, 2008; Ngoc y cols, 2016; Shavandi y cols, 2016).

Actualmente, es posible en nuestro laboratorio obtener  $\beta$ -quitina a partir de la pluma del calamar, mediante un tratamiento sencillo, que consiste en la limpieza y disminución de tamaño de la pluma en primer lugar, luego se realiza la desproteínización y posterior molienda para alcanzar un diámetro de partícula promedio adecuado para la  $\beta$ -quitina. A partir de este material, se puede obtener nanopartículas de  $\beta$ -quitina mediante un tratamiento con ultrasonido (Agulló, 2004).

### 1.1.2 Quitosano

El quitosano es el principal derivado de la quitina, obtenido por desacetilación parcial de la quitina en un medio alcalino, debido a que la quitina es insoluble en todos los disolventes habituales (Rinaudo, 2006). Se considera una base débil, al tener grupos aminos primarios con un pKa de 6,3. A pH menores de 6 actúa como polielectrolito, con sus grupos aminos protonados y cargados positivamente, lo que permite su solubilización en agua (Pillai, Paul & Sharma, 2009).

Es una cadena lineal de monómeros de glucopiranosas, siendo su estructura química poli[ $\beta$ -(1-4)-2-amino-2-desoxi-D-glucopiranosas], su carbono número 2 permite diferenciarse de la quitina (Fig 3), al encontrarse desacetilado y resultando en un grupo amino (Paz y cols, 2012).

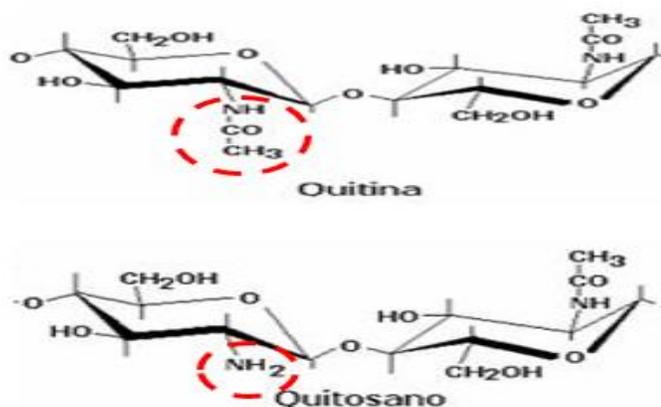
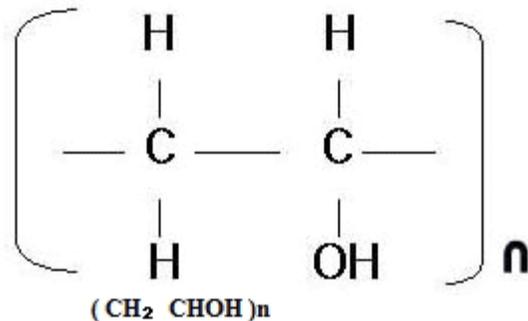


Fig. 3.- Estructura química de Quitina y Quitosano.

Posee diversas aplicaciones industriales, tales como purificación del agua, agente espesante y estabilizador del color, recuperación de materiales sólidos, clarificación y desacidificación de jugos de frutas (Shahidi, Arachichi & Jeon, 1999). Además es biocompatible, no tóxico, biodegradable, biofuncional, con actividad antimicrobiana y antifúngica, junto con tener una gran transparencia, protección frente a la radiación UV, baja permeabilidad al oxígeno y flexibilidad, mostrando un gran potencial para envase de alimentos (Aider, 2010; Bonilla y cols, 2014; Camacho, Vega & Campos, 2011; Zoffoli, Evseev, Naranjo & Rodríguez, 2015).

### 1.1.3 Alcohol de Polivinilo (PVOH)

El alcohol polivinílico (PVOH o PVA o PVAI) es una macromolécula lineal sintética, cuya producción es de varios cientos de kton/año, su estructura química se presenta en la figura 4. Forma múltiples puentes de hidrógeno, debido a los numerosos grupos hidroxilos que presenta. (Mark, 1998; Zhu, Wang, Zhu, Chang & Ye, 2015). Sus propiedades dependen de su peso molecular y grado de hidrólisis (Tabla 1). Es un material transparente e incoloro, su temperatura de transición vítrea oscila entre 70-99°C, a los 200°C se descompone y su punto de fusión es 260°C, un excesivo calor genera pérdida de agua, aumento de dureza, y pérdida en su elasticidad y capacidad de absorción de agua (Carhuapoma & Santiago, 2006; Villarquide, 2005).



**Fig. 4.-** Estructura química de Alcohol Polivinílico.

Su monómero el alcohol vinílico, no permite una polimerización directa para producir el PVOH, debido a que su termodinámica induce a convertirse espontáneamente en la forma enol de acetaldehído (Chiellini, Corti, D'Antone, & Solaro, 2003). A nivel industrial se obtiene PVOH por hidrólisis de Acetato de Vinilo (PVAc), Chiellini (2003) indica que la polimerización por radicales libres de acetato de vinilo es seguida por alcoholisis alcalina de PVAc. Es necesario controlar el tiempo de residencia durante la polimerización, velocidad de alimentación de acetato de vinilo, la cantidad de disolvente, la concentración de iniciador de

radicales y la temperatura de polimerización para manejar el peso molecular y el grado de hidrolisis del PVAc (Chiellini y cols, 2003).

**Tabla 1.-** Propiedades fisicoquímicas de polivinil alcohol

Peso molecular (Mw) e Hidrolisis (%)	Propiedades
Mw. bajo (< 25.000); Hidrolisis (70 – 80%).	Soluble en agua a T° Ambiente; Buen coloide y tensoactivo; baja viscosidad.
Mw intermedio (25.000 – 60.000); Hidrolisis (80 – 95%).	Soluble en agua (60-80°C); Buen coloide y emulsionante.
Mw alto (60.000 – 98.000); Hidrolisis (95 – 100%).	Soluble en agua (80-90°C); gran resistencia a la ruptura y alargamiento; gran viscosidad; gran resistencia y estabilidad mecánica; Buen coloide; Baja permeabilidad a gases.

El PVOH es un polímero soluble en agua, biocompatible, presenta buena resistencia química y propiedades mecánicas ligadas a la presencia de grupos OH y a su capacidad de formación de enlaces de hidrógeno. Además, sus características no tóxicas, inodoras, biodegradable, excelente formador de películas, buena propiedad barrera al oxígeno y aromas, hacen del PVOH un material con grandes aplicaciones en el envasado de alimentos (Giannakas y cols, 2016; Papadopoulou & Kalfoglou, 1997; Park, Jun & Marsh, 2001; Zhu y cols, 2015). Diversos estudios han demostrado la excelente interacción entre los polímeros de PVOH-Quitosano, obteniendo una mezcla con buenas propiedades y aplicaciones biomédicas como hidrogeles, también se han fabricado películas biodegradables, donde su microestructura no muestra separación de fases y no presenta gotitas, burbujas, poros o grietas evidenciando la buena compatibilidad de los polímeros (Bonilla, Fortunati, Atarés, Chiralt & Kenny, 2014; Carhuapoma & Santiago, 2005; Koyano, Koshizaki, Umehara, Nagura & Minoura, 2000; Ming, Yu, Lang & Chien, 2004).

#### 1.1.4 Nanocompuestos

Los nanocompuestos se presentan como una solución amigable y compatible con el medio ambiente, ayudando a disminuir los desechos y emisión de CO<sub>2</sub>

generados por los envases plásticos tradicionales, ya que, junto con proteger los alimentos y aumentar su vida útil, se presentan como una opción prometedora para mejorar las propiedades mecánicas y de barrera de biomateriales para envases (Avella y cols, 2005; Lu, Weng & Zhang, 2004; Silvestre, Duraccio & Cimmino, 2011).

La nanotecnología implica diseñar, procesar y fabricar materiales con una o más dimensiones del orden de los 100 nm o menos, como por ejemplo nanofibras de quitina o celulosa, nanotubos de carbono, nanopartículas (nanoemulsión, micelas, liposomas) (Paula & Robesonb, 2008; Sozer& Kokini, 2009).

Se ha descrito que los nanocompuestos dispersos homogéneamente dentro de la matriz polimérica, presentan una interacción óptima con la matriz lo que dificulta la movilidad de las moléculas, como el vapor de agua, de manera que deben recorrer un camino más largo y tortuoso (Azeredo, 2009; Silvestre, Duraccio & Cimmino, 2011; Sorrentino, Gorrasi & Vittoria, 2007). . Los nanomateriales son utilizados generalmente en proporciones inferiores al 5% (Paula & Robesonb, 2008; Sorrentino, Gorrasi & Vittoria, 2007).

Nanopartículas Quitosano-Timol, mediante la técnica de GI (Gelificación Iónica) Y SFD (*Spray Freeze Dispersion*), han mostrado un efecto inhibitorio sobre *Salmonella tiphymurium*, *Staphylococcus aureus* y *Botrytis cinerea*, permitiendo mejorar su permeabilidad al vapor de agua, sin afectar sus propiedades mecánicas (Medina, 2016). Además, Nanopartículas de quitosano obtenidas mediante GI usando TPP (trifosfato de sodio) incorporadas en películas de quitosano, han permitido una disminución de la permeabilidad al vapor de agua de 33,3% en cámara a 0 °C y 85% HR (Caro, 2015). Si bien las nanopartículas permiten una mejora en esta propiedad, consideramos el uso de nanopartículas de carácter hidrofóbico, tal como quitina, debieran disminuir aún más la permeabilidad al vapor de agua, que con las obtenidas con las nanopartículas hidrofílicas mencionadas.

### **1.1.5 Fabricación de nanopartículas de quitina mediante ultrasonido**

El Ultrasonido ha demostrado ser un método eficaz para la elaboración de nanoestructuras derivadas de diversos polisacáridos como quitina, quitosano y celulosa (Cherepanov & Andreeva, 2017; Lee y cols, 2016; Tang, Huang & Lim, 2003).

Las fibras de quitina son principalmente separadas por el fenómeno de cavitación. El ultrasonido genera ondas sonoras que son propagadas en el medio acuoso provocando ciclos de alta y baja presión. Durante la baja presión se forman pequeñas burbujas, debido al cambio de estado de líquido a gaseoso al alcanzar la presión de vapor, dichas burbujas aumentan su tamaño al absorber energía sonora. Cuando las burbujas no pueden absorber más energía colapsan violentamente creando ondas de choques y turbulencias, además de un ambiente inusual de altas presiones y temperatura elevada (Lu y cols, 2013; Shchukin, Skorb, Belova & Möhwald, 2011; Tang y cols, 2003). El impacto permite aumentar la dispersibilidad de las partículas y desintegrar las fibras natural y puede ser regulado por medio de la intensidad y frecuencia del ultrasonido (Sozer & Kokini, 2009; Zhao & Fenga, 2007).

Este proyecto pretende obtener nanopartículas de  $\beta$ -quitina a partir de la pluma de calamar, mediante extracción de la quitina y posterior tratamiento de molienda y ultrasonido. Posteriormente se pretende evaluar el efecto de estas Nps incorporadas en películas PVOH:Qo en sus propiedades mecánicas y de barrera a la humedad.

## **1.2 Hipótesis**

Películas elaboradas en mezclas alcohol polivinílico/quitosano (PVOH/Qo) cargadas con nanopartículas/micropartículas de  $\beta$ -quitina (NpQ) actuarán como una efectiva barrera a la humedad, sin afectar significativamente sus propiedades mecánicas.

## **1.3 Objetivos**

### **1.3.1 Objetivo General**

- Fabricar películas alcohol polivinílico/quitosano cargadas con nano/micropartículas de  $\beta$ -quitina y evaluar las propiedades mecánicas y de barrera a gases.

### **1.3.2 Objetivos Específicos**

- Fabricar y caracterizar nanopartículas de  $\beta$ -quitina (NpQ) a partir de la pluma del calamar.
- Elaborar películas PVOH/Qo incorporando micropartículas de quitina (MpQ) y nanopartículas de  $\beta$ -quitina (NpQ).
- Evaluar propiedades mecánicas de películas PVOH/Qo incorporadas las MpQ y NpQ.
- Evaluar pérdida de agua y permeabilidad al vapor de agua (PVA) de películas PVOH/Qo incorporadas las MpQ y NpQ.

## **2 Materiales y Métodos**

### **2.1.1 Materia prima**

- Pluma de calamar (*Dosidicus gigas*), proveniente de la empresa Nippon Meat Packers Inc (Chile) y Cia. Ltda con su marca propia Andemar, V región, Chile.
- Alcohol polivinílico:  $M_w$  de; grado de hidrolización %; viscosidad cPs.

### **2.1.2 Materiales**

- Quitosano de alto peso molecular (HMW), SIGMA-ALDRICH (USA) 419419-250G, con un grado de desacetilación >75% y una viscosidad entre 800-2000 cPs.
- Placas Petri 145 x 20 greiner bio one.
- Hidróxido de sodio, Merck, Index-No: 011-002-00-6.
- Ácido acético, Merck, Index-No: 607-002-00-6.

### **2.1.3 Equipos**

- Lloyd Instruments Limited, Lloyd LR-5K. Hampshire, Inglaterra.
- Tamizador ERWEKA, modelo AR 400.
- Cámara LabTech, modelo LHT-0150E.
- Agitador magnético: Hot plate Stirrer LABTECH, Model LMS-1003.
- Agitador de paleta Bosch MSM6A3R Mixxo Cordless.
- Balanza analítica Radwag, modelo WTB 3000.
- Reactor Karl Kurt Juchheim D-54470.
- Centrifuga de canasto Martin Christ Osterode Harz.
- Molino de cuchillas Retsch GMBH SR-2.
- Estufa Heraeus D-63450 Hnau, Alemania.
- Liofilizador: ILSHINBIOBASE, modelo FD5508.
- pH-metro: JENWAY 370.
- Cafetera Krups, modelo GVX242/6WB – 5213 R.

- Shaker Polyscience Dual Action, 042901.
- Ultrasonido Q700 (20 kHz; 700 W; QSonica, Estados Unidos).
- Zetasizer: Modelo NanoS4700, Malvern Instruments.

## **2.2 Metodología**

### **2.2.1 Procedimiento de obtención de nanopartículas de $\beta$ -quitina**

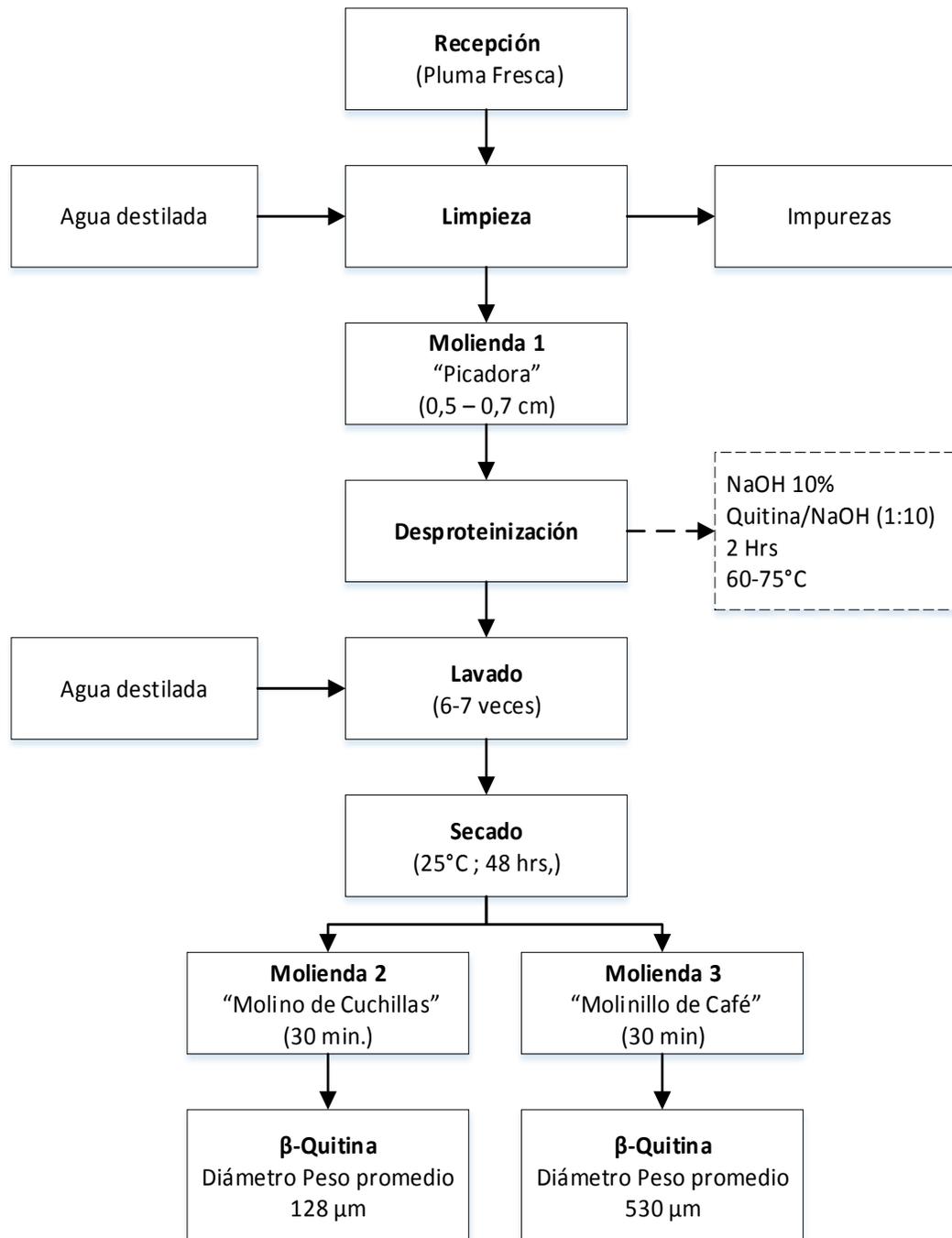
#### **2.2.1.1 Obtención de $\beta$ -quitina a partir de pluma de calamar**

La pluma fresca fue sometida a un proceso de limpieza manual y un posterior lavado con agua fría, para eliminar restos de colágeno e impurezas, luego se realizó la reducción de tamaño por molienda para estandarizarla a un tamaño entre 0,5 - 0,7 cm de diámetro en una picadora (Ad6011 Moulinex). En el reactor (Karl Kurt Juchheim D-54470) a 280 rpm se llevó a cabo la desproteización de la materia prima por medio de una solución de hidróxido de sodio al 10% en una relación de 1:10 (Quitina:NaOH) durante 2 horas a una temperatura de 60-75°C, eliminando la espuma generada por la incorporación de aire, debido a la desnaturalización de las proteínas y su posterior adsorción en la interface agua-aire actuando como surfactante. Luego del proceso, la mezcla se llevó a pH neutro con sucesivos lavados (6-7 lavados) en agua destilada en la centrífuga de canasto (Martin Christ Osterode Harz). Se mantuvo en estufa (Heraeus Instrumenyts UT6200) a una temperatura de 25°C por 48 horas para eliminar el exceso de agua (Fig 5).

#### **2.2.1.2 Obtención de micropartículas de $\beta$ -quitina (MpQ)**

Una fracción de  $\beta$ -quitina seca fue sometida a un proceso de molienda por 30 min en el molino de cuchillas (Retsch GMBH SR-2) y la fracción restante a un molinillo de café (Krupps GVX242/6WB – 5213 R) para luego realizar un análisis granulométrico en una batería de tamices HEBRO de 20, 30, 35, 40, 50, 60, 80 y 100 número de malla por 20 minutos en un agitador a 125 RPM (Erweka AR-400) para obtener una acción uniforme y resultados reproducibles, alcanzando un

diámetro de partícula peso promedio aproximado de 128  $\mu\text{m}$  en el molino de cuchillas y 530  $\mu\text{m}$  en molinillo de café para la  $\beta$ -quitina (Fig. 5).



**Fig. 5.-** Diagrama obtención de  $\beta$ -quitina.

### 2.2.1.3 Preparación de dispersión de $\beta$ -quitina/Agua

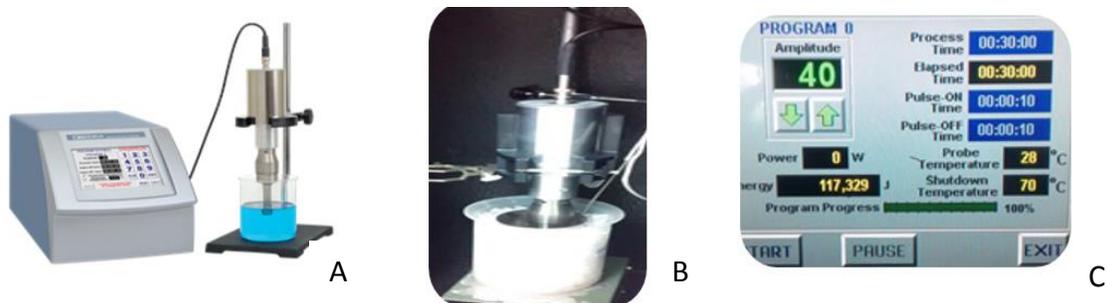
Se utilizó la metodología reportada por Fan y cols (2008). Con la harina de quitina obtenida (128  $\mu$ m), se realizó una mezcla quitina (30 mg) y agua (30 mL). La dispersión de quitina (DQi) obtenida se lleva a pH 3-4 mediante ácido acético utilizando el pH-metro y agitación magnética a temperatura ambiente. La DQi se preparó y utilizó cada día al momento requerido.

### 2.2.1.4 Obtención de nanopartículas a partir de DQi

La DQi es sometida a ultrasonido por 20, 30 y 40 min de trabajo (Qsonica Modelo Q700) con una amplitud de 40%, bajo un ciclo de trabajo del 50% (es decir, ciclos de pulsaciones de 10 segundos ON y 10 segundos OFF) con una sonda de titanio de 1/2" (12,7 mm) de diámetro. El recipiente que contenía la muestra fue puesto en un vaso precipitado con agua y sal, con el fin de disminuir el calor generado durante el proceso (Lu y cols., 2013) (Fig. 6). Posteriormente fue filtrada obteniéndose nanopartículas de  $\beta$ -quitina (NpQ) de aproximadamente 290 nm, en el tiempo óptimo establecido.

**Tabla 2.-** Tiempo y energía para obtener  $\beta$ -quitina en ultrasonido.

TRATAMIENTO ULTRASONIDO	ENERGÍA (J) – TIEMPO (MIN)		
Pulsos on-off	Tiempo (min)		
(Segundos)	20	30	40
10-10	59.338 J	88.716 J	118.976 J
Potencia (w)	49	49	50
Watts (W)	280	280	280
Energía Eléctrica (J)	336.000	504.000	672.000



**Fig. 6.-** Sonicador utilizado en elaboración de nanopartículas de quitina. A) Sonicador Q700. B) Sonda de titanio en muestra, recipiente puesto en un vaso precipitado con agua y sal. C) Panel de control: Amplitud de 40%, Tiempo total de trabajo 30 minutos, pulsación 10 segundos ON y 10 segundos OFF.

## 2.2.2 Incorporación de MpQ y NpQ en películas PVOH y PVOH/Qo

### 2.2.2.1 Preparación de películas alcohol de polivinilo/quitosano (PVOH/Qo)

Se utilizó la metodología reportada por Bonilla y cols., (2014). El PVOH fue diluido en agua destilada al 1,5% (p/p) con agitación magnética durante 3 horas a 90°C. El quitosano fue diluido al 0,15% (p/p) en agua con ácido acético (1% v/v) con agitación magnética durante 12 horas a 40°C. Las películas se obtuvieron al mezclar PVOH y Qo en diversas proporciones, donde se incorporó gradualmente Qo en PVOH. Se realizaron 3 formulaciones, los números indican la relación en masa de PVOH:Qo (PVA90:Qo10, PVA80:Qo20 y PVA70:Qo30).

Todas las formulaciones fueron preparadas usando ultrasonido (Q700 20 kHz; 700 W; Qsonica, Estados Unidos) con 40% de amplitud durante 5 min, a temperatura ambiente, y pulsaciones de 10 s ON y 10 s OFF con una sonda de titanio de ½" (12,7 mm) de diámetro (Lu y cols., 2013). Con el fin de eliminar las burbujas presentes en la solución, se utilizó una bomba de vacío durante el tiempo necesario para llevar a cabo dicha labor. Las formulaciones fueron puestas en placas Petri de 145 x 20 mm y llevadas a una estufa a 40°C y 40 HR (LabTech) para ser secadas por 4 días.

### 2.2.2.2 Incorporación de MpQ (530 $\mu\text{m}$ ) en película PVOH

El PVOH fue diluido en agua destilada al 1,5% (p/p) con agitación magnética durante 3 horas a 90°C, como indica Bonilla y cols., (2014) con ciertas modificaciones. Las micropartículas de quitina de 530  $\mu\text{m}$  (MpQ530) se incorporaron en una relación 1:1 en relación en masa PVOH:MpQ530, en una solución total de 150 mL. La dispersión se preparó usando un mezclador de alta cizalla (Shaker Polyscience Dual Action, 042901, Estados Unidos) bajo tres condiciones que se indican en la tabla 2.

**Tabla 3.-** Incorporación de MpQ530 en una relación 1:1 (PVOH:MpQ530) en solución de 150 mL, tiempo y rpm aplicado.

Tratamiento	Tiempo (Min)	RPM
1	15	125
2	20	125
3	20	150

### 2.2.2.3 Incorporación de MpQ (128 $\mu\text{m}$ ) y NpQ en película PVOH/Qo

Utilizando las tres formulaciones de películas ya mencionadas de PVOH:Qo (90:10; 80:20; 70:30), se incorporaron micropartículas de  $\beta$ -quitina de 128 $\mu\text{m}$  (MpQ128) y nanopartículas de  $\beta$ -quitina (NpQ) de 290 nm al 1% y 5% en una relación en masa Quitina/Quitosano, obteniéndose así 12 formulaciones posibles (tabla 3). Para incorporar MpQ128 y NpQ (rendimiento de 36%, resultados no mostrados) se preparó una solución al 1% de MpQ128 en PVOH, posteriormente se agitó en vortex para luego tomar alícuota correspondiente al 1% y 5%.

**Tabla 4.-** Formulaciones de PVA/Qo con incorporación de MpQ128 y NpQ al 1% y 5% en una en relación masa Quitina/Quitosano en películas de 70 g.

PVOH %	Qo %	PVOH (g)	Qo (g)	1%	5%
90	10	63	7	1,05	5,25
80	20	56	14	2,10	10,05
70	30	49	21	3,15	15,75

### **3 Caracterización de nanopartículas**

#### **3.1 Determinación de tamaño y potencial Z de nanopartículas**

Las NpQ se sometieron a medición de tamaño (Z Average), índice de polidispersidad (PDI) y potencial Z, a través de difracción de luz dinámica (Zetasizer, NanoS4700, Malvern Instruments©). Para ello se utilizó 1 mL de las muestras tratadas, las cuales fueron depositadas en una cubeta capilar plegada de polietileno, donde se realizó la medición. Los análisis se realizaron bajo condiciones estándares (dispersante: agua, T°: 25°C, laser 633 nm).

#### **3.2 Evaluación de propiedades mecánicas**

##### **3.2.1 Espesor (E)**

Cada película fue marcada con 9 puntos de medición para determinar con un micrómetro (Mitutoyo 293340) su espesor.

##### **3.2.2 Esfuerzo de tracción a la ruptura (ETR), alargamiento porcentual (A%) y Fuerza máxima de desprendimiento**

Se usó la norma Oficial Chilena Nch1151.Of.76, equivalente a la norma internacional ISO R1184-1970, con algunas modificaciones. El ensayo se realizó a 3 películas por formulación, para lo cual se cortaron celdas de 10 mm de ancho y 50 mm de largo, se realizaron las mediciones con una celda de 50 N. Las celdas fueron puestas entre dos mordazas a una distancia de 4 cm, luego las celdas fueron estiradas y se registraron aquellas que se partieron en la zona media, tomando en cuenta la curva de fuerza versus distancia de alargamiento hasta el punto de ruptura de la celda (Lloyd Instruments Limited, Lloyd LR-5K. Hampshire, Inglaterra). Se calcularon el A% y el ETR de acuerdo a las siguientes ecuaciones:

- Alargamiento porcentual (A%):

$$A\% = \frac{D_f - D_i}{D_i} * 100 \quad (1)$$

Donde:

A% = Alargamiento porcentual.

D<sub>f</sub> = Distancia de alargamiento hasta la ruptura, en mm.

D<sub>i</sub> = Distancia inicial entre las líneas de referencia, en mm.

- Esfuerzo de tracción a la ruptura (ETR):

$$ETR = \frac{C}{A_R} \quad (2)$$

Donde:

ETR: Esfuerzo de tracción a la ruptura (N/mm<sup>2</sup>).

C: Carga máxima en la ruptura del film (N).

A<sub>R</sub>: Área transversal inicial del film (mm<sup>2</sup>).

- Área transversal inicial del film (A<sub>R</sub>):

$$A_R = \varepsilon * A \quad (3)$$

Donde:

A<sub>R</sub>: Área transversal inicial del film (mm<sup>2</sup>).

ε: Espesor del film (mm<sup>2</sup>).

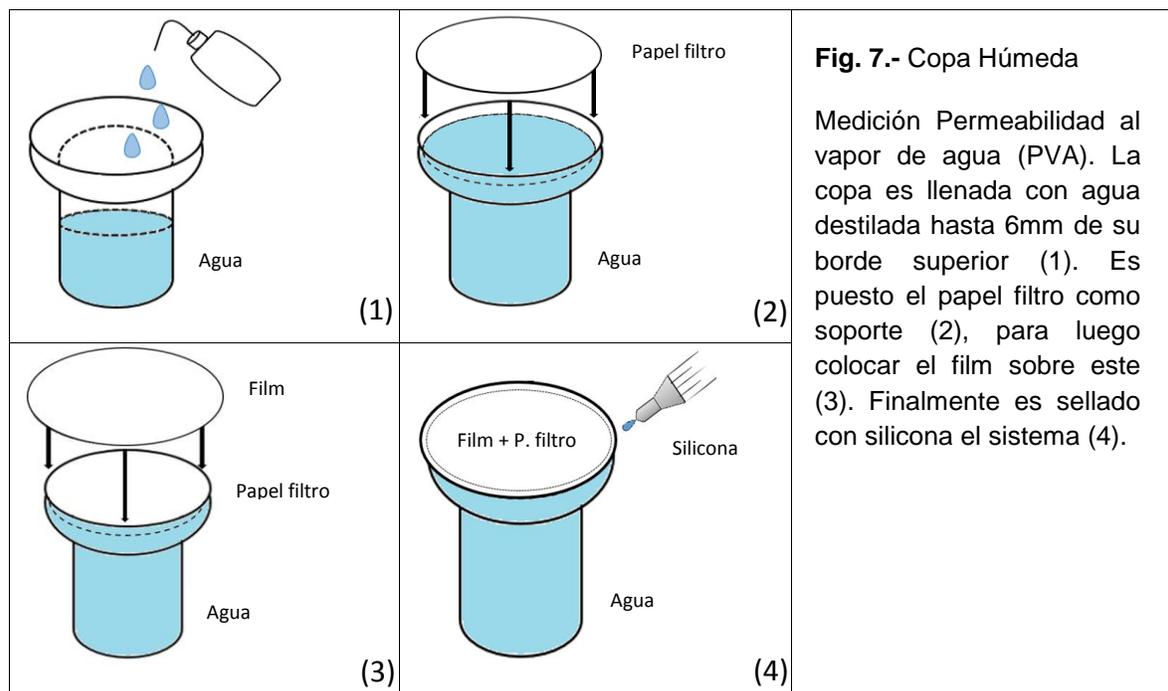
A: Ancho del film (mm<sup>2</sup>).

### 3.3 Evaluación de propiedad de barrera

#### 3.3.1 Grado de transmisión de vapor de agua (TVA) y permeabilidad al vapor de agua (PVA)

Se utilizó el método de la copa húmeda, de acuerdo a la Norma Chilena Oficial NCh2098.Of2000, equivalente a las normas ASTM D1653-93 y DIN 52615, utilizando 3 film de cada formulación.

Fueron llenadas las copas con agua destilada hasta alcanzar una distancia de 6 mm medidos desde el borde superior, sobre el cual se montó un papel filtro de igual diámetro, para luego colocar un film de película. Posteriormente, fueron sellados los bordes de contacto entre el film y la copa con silicona (Fig. 7).



Las copas fueron puestas en una cámara de frío a 5° C y 85% H.R., por un periodo de 21 días, se registró su cambio de peso cada 24 horas utilizando una balanza electrónica (Chyo, modelo mj-300, Japón).

Para la determinación de TVA, se utilizó pendiente obtenida del gráfico cambio de masa de copa vs tiempo, la cual representa la estabilización de la difusión de vapor de agua a través de las películas por unidad de tiempo, normalizada por

el área de las películas utilizadas. Además al considerar las diferencias de presiones generadas en los lados opuestos de la película (interior de la copa 100% H.R. y cámara de frío 85% H.R.), medidos en kPa es posible determinar el PVA, como se muestra en las siguientes ecuaciones:

- Transmisión de vapor de agua (TVA):

$$TVA = \frac{\Delta m}{t * A} \quad (4)$$

Donde:

TVA: Grado de transmisión de vapor de agua ( $g * m^{-2} * h^{-2}$ ).

$\Delta m$ : Cambio de masa ocurrido en el tiempo (g).

t: Tiempo entre mediciones (h).

A: Área de ensayo de la muestra ( $m^2$ ).

- Permeabilidad al vapor de agua (PVA):

$$PVA = \frac{\Delta m * \epsilon}{t * A * \Delta p} \quad (5)$$

Donde:

PVA: Permeabilidad al vapor de agua ( $mm * g * kPa^{-1} * m^{-2} * h^{-2}$ ).

$\Delta m$ : Cambio de masa ocurrido en el tiempo (g).

t: Tiempo entre mediciones (h).

A: Área de ensayo de la muestra ( $m^2$ ).

$\epsilon$ : Espesor del film ( $mm^2$ ).

$\Delta p$ : S ( $R1 - R2$ ).

S: Presión de saturación de vapor de agua a la temperatura del ensayo (kPa). R1 es la humedad relativa (%) de la parte con mayor presión de vapor y R2 es la humedad relativa (%) de la parte con menor presión de vapor.

### 3.3.1.1 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se analizaron mediante un análisis de varianza ( $p < 0,05$ ) y se empleó la prueba de Tuckey para la comparación de medias. Se utilizó el programa estadístico STATGRAPHICS Centurion XV ®.

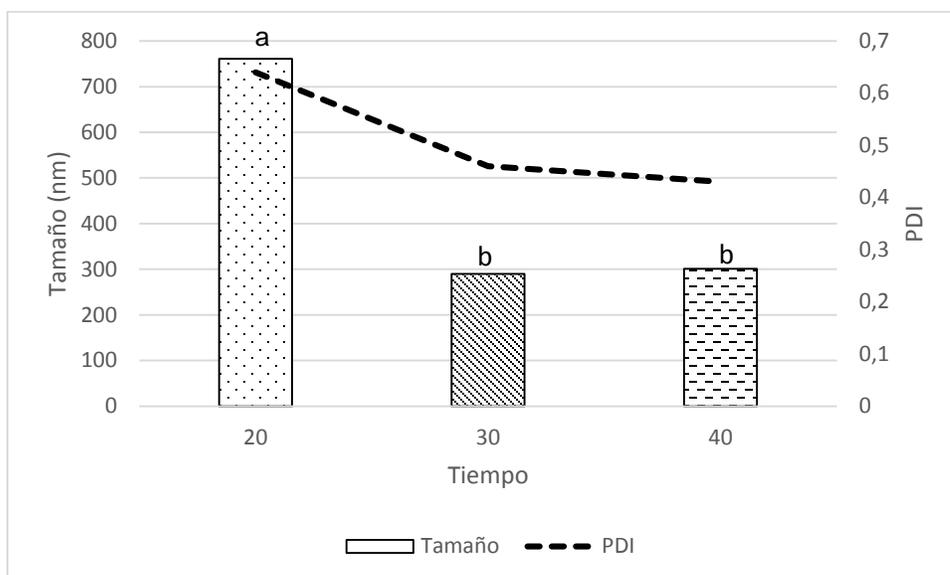
## **4 Resultados y discusión**

### **4.1 Caracterización de nanopartículas, estabilidad en el tiempo y selección de parámetros óptimos en obtención de NpQ.**

Fueron caracterizadas NpQ elaboradas a diversos tiempos de trabajo en ultrasonido (20, 30 y 40 minutos) mediante la determinación del tamaño, potencial z y PDI. Se consideró como el mejor tratamiento aquel que permitió obtener NpQ de menor tamaño y de mayor estabilidad en el tiempo.

#### **4.1.1 Determinación de tamaño y potencial Z y determinación de tiempo óptimo para diferentes periodos de trabajo**

En la tabla 5 se muestran los valores de Z average, PDI y potencial Z obtenidos para los diferentes tiempos de proceso de la Dqi en Ultrasonido. Se obtuvieron valores de Z average de  $761 \pm 112$ ;  $290 \pm 34$  y  $301 \pm 30$  nm para tiempos de ultrasonicación de 20, 30 y 40 minutos respectivamente (Fig. 8). Se observó una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) del tamaño de NpQ para los tiempos de 30 y 40 minutos (sin existir diferencia significativa entre ellos ( $p > 0,05$ )), en relación a los 20 minutos. Un mayor tiempo de exposición a ultrasonido de baja frecuencia (20 kHz), con una amplitud fija de 40%, provocó una mayor utilización de energía eléctrica en el proceso. Durante la aplicación de ultrasonido en la Dqi la energía eléctrica se transforma en otros tipos de energía. Mamvura, Iyuke y Paterson (2018) demostraron que la conversión de energía es baja en ultrasonido de baja frecuencia, en promedio 26% de energía eléctrica a acústica y 9% de eléctrica a cavitacional, valores similares a otros autores. Un aumento en la amplitud de trabajo, se traduce en burbujas de mayor tamaño que inducen un colapso con gran cizalla, aumentando la degradación en polímeros sintéticos de forma no lineal (Mamvura, Iyuke & Paterson, 2018). Propiedades como la presión de vapor, aumento de temperatura, viscosidad e interacción entre partículas pueden variar durante el proceso de ultrasonido, afectando la linealidad en la degradación a mayor tiempo de trabajo, no mostrando diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre los 30 y 40 min aplicados de tratamiento (Sathiskumar & Madras, 2011).



**Fig. 8.-** Tamaño (nm) de partículas obtenidas en tratamiento de ultrasonido en función del tiempo (min) óptimo de trabajo y PDI obtenido. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

La desintegración ocurrida en la  $\beta$ -quitina, al estar compuesta por microfibrillas inserta en una matriz proteica, las cuales se encuentran unidas por enlaces de hidrogeno y fuerzas de Van der Waals (Lu, Weng & Zhang, 2004; Lu y cols., 2013), es posible por la gran presión y temperatura alcanzada en el proceso de cavitación, permitiendo una mayor degradación de los enlaces, al aplicar una mayor energía. Además, al ajustar el pH entre 3-4 de la solución, aumentan las fuerzas repulsivas de las nanofibras optimizando el trabajo de cavitación y obteniendo una dispersión transparente, debido a que permite protonar el C2 de la quitina de pKa 6,3 (Fan, Saito & Isogai, 2008; Tischer, Sierakowski, Westfahl & Tischer, 2010; Wijesena y cols, 2015).

Para los valores del PDI existe una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) del proceso de 20 minutos de trabajo, al compararlo con 30 y 40 minutos de trabajo en ultrasonido, siendo los valores de  $0,64 \pm 0,01$ ;  $0,46 \pm 0,03$  y  $0,43 \pm 0,07$  respectivamente, demostrando que un mayor tiempo de trabajo en el ultrasonido permite una mayor reducción de tamaño de las partículas y como consiguiente partículas menos polidispersas. La polidispersidad en valores cercanos a 0 indica que la muestra es monodispersa y valores cercanos a 1 indica que presenta una

gran variedad de tamaños (Acevedo y cols, 2015). Por lo tanto los valores obtenidos en este trabajo presenta una polidispersidad media, que se ve disminuida con el mayor tiempo de trabajo con ultrasonido.

El potencial Z muestra valores positivos que variaron entre +40 mV a +42 mV, menores a los reportados por Fan y cols. (2008) y Aklog y cols. (2016) quienes obtuvieron altas cargas superficiales de más de +60 mV y +54 mV respectivamente. Las  $\beta$ -quitina presentaron un potencial Z positivo esperado, ya que posee un pKa de 6,3 en su pequeña cantidad de grupo amino C2, los cuales son completamente cationizados por el ácido acético utilizado para llevar a pH ácido la solución, permitiendo una dispersión estable por repulsión electrostática (Aklog y cols, 2016; Fan, Saito & Isogai, 2008). Para una suspensión acuosa de polímeros, se ha demostrado que valores superiores a  $|\pm 30|$  mV permiten tener una solución estable en el tiempo (Hartig y cols., 2007).

El tiempo de trabajo óptimo en ultrasonido seleccionado fue de 30 min, ya que, presentó un menor tamaño de partículas, un tiempo mayor de tratamiento no disminuyó más el tamaño ni mejoró el PDI.

**Tabla 5.-** Caracterización (Z Average, PDI y Potencial Z) de nanopartículas elaboradas a 20, 30 y 40 min en ultrasonido.

Tiempo (min)	Z Average (nm)	PDI	Potencial Z (mV)
20	761 <sup>a</sup> ± 112	0,64 <sup>a</sup> ± 0,01	40,9 <sup>a</sup> ± 0,8
30	290 <sup>b</sup> ± 34	0,46 <sup>b</sup> ± 0,03	39,9 <sup>a</sup> ± 0,3
40	301 <sup>b</sup> ± 30	0,43 <sup>b</sup> ± 0,07	42,2 <sup>a</sup> ± 0,8

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

#### 4.1.2 Estabilidad de NpQ en el tiempo

Se evaluó la estabilidad de las NpQ elaboradas con un tiempo de ultrasonicación (tabla 6) de 30 minutos. Se realizaron 5 mediciones durante 1 mes donde se puede observar que desde el día 1 hasta la semana 4 no hay diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en su Z average (Tabla 6.), mostrando estabilidad en su

tamaño, (Acevedo, Trujillo, Graü & Beloso, 2015). Tampoco se observan diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en el PDI y potencial Z.

**Tabla 6.-** Estabilidad de NpQ en el tiempo, caracterización (Z Average, PDI y potencial Z) obtenidas por ultrasonido durante 30 min.

Tiempo (semanas)	Z Average (nm)	PDI	Potencial Z (mV)
0	303 <sup>a</sup> ± 68	0,51 <sup>a</sup> ± 0,07	+39,0 <sup>a</sup> ± 2,2
1	304 <sup>a</sup> ± 67	0,52 <sup>a</sup> ± 0,09	+39,3 <sup>a</sup> ± 2,7
2	353 <sup>a</sup> ± 12	0,55 <sup>a</sup> ± 0,14	+41,6 <sup>a</sup> ± 4,3
3	354 <sup>a</sup> ± 34	0,60 <sup>a</sup> ± 0,06	+42,1 <sup>a</sup> ± 1,9
4	400 <sup>a</sup> ± 28	0,68 <sup>a</sup> ± 0,02	+40,6 <sup>a</sup> ± 1,2

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

El tamaño de las NpQ no superó los 450 nm, sus valores de PDI ( $< 0,7$ ) y potencial Z (20 – 50 mV) se encontraron dentro de los rangos de estabilidad y funcionalidad, por lo tanto las nanopartículas generadas por ultrasonido fueron óptimas para ser utilizadas en películas para envases (Müller, Jacobs & Kayser, 2001).

## **4.2 Caracterización de películas PVOH cargadas con micropartículas de quitina**

Se elaboraron películas PVOH:MpQ530 (Sección 2.2.2.2) a diferentes tiempo y rpm de trabajo, también se fabricaron películas PVOH:Qo MpQ128 y PVOH:Qo NpQ cargadas al 1% y 5% en relación en masa al quitosano de PMW utilizado (Sección 2.2.2.3). Las películas se caracterizaron mediante su espesor (E), porcentaje de alargamiento (A%), esfuerzo de tracción a la ruptura (ETR), pérdida de agua y permeabilidad al vapor de agua (PVA).

### **4.2.1 Propiedades mecánicas: espesor (E), porcentaje de alargamiento (A%) y esfuerzo de tracción a la ruptura (ETR) para películas Control PVOH:Qo (100:0; 90:10; 80:20 y 70:30), PVOH:Qo MpQ128 y PVOH:MpQ530**

En la figura 9 es posible apreciar el espesor y las propiedades mecánicas de las películas control generadas por alcohol de polivinilo puro (PVOH 100), PVOH/ quitosano (PVOH:Qo) en diferentes relaciones (90:10 ; 80:20 ; 70:30) y la incorporación de micropartículas en dos tamaños (128 y 530  $\mu\text{m}$ ). La figura 9A muestra el espesor de las películas generadas, en donde no se encuentran diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en espesor entre las películas control. Se observó un incremento en el espesor a medida que se agrega Qo en las películas, siendo la película PVOH la de menor espesor ( $0,030 \pm 0,006$  mm) hasta la película PVOH:Qo con un 30% de Qo la de mayor espesor ( $0,042$  mm  $\pm 0,003$ ). La literatura indica que el espesor de las películas tiende a aumentar cuando la proporción de Qo en la película aumenta, debido al empaque polimérico que adopta, ya que, al estar cargada positivamente inhibe la proximidad entre sus cadenas, generando capas de hidratación anchas, formando películas más gruesas. Así cuando mayor es la relación de Qo, se obtiene una matriz más abierta (mayor grosor), que aquellas conformadas con un polímero neutro como el PVOH (Bonilla y cols, 2013).

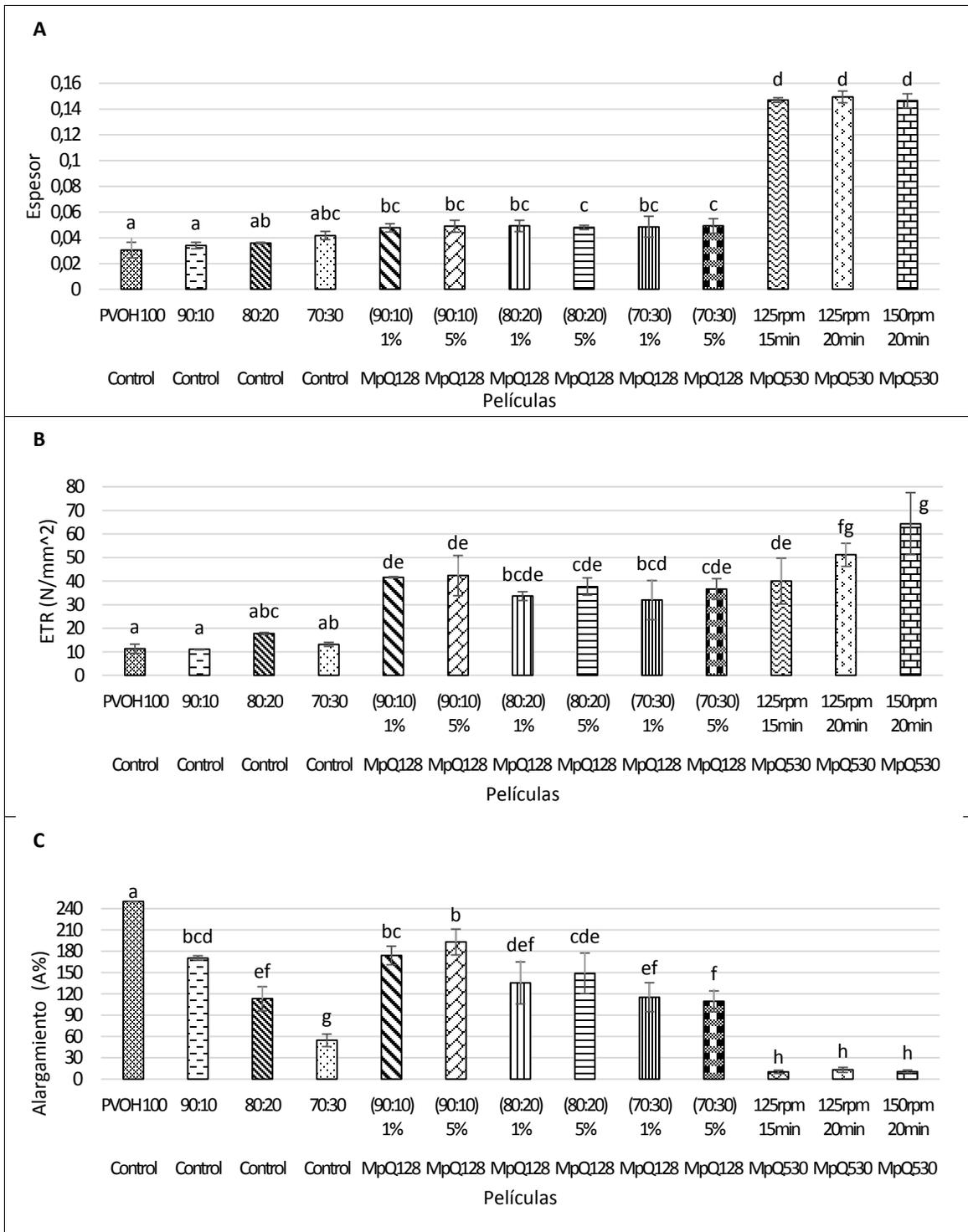
Las películas PVOH:Qo con incorporación de MpQ128 al 1% y 5% no mostraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en su espesor, mostrando un valor que

osciló entre 0,048 – 0,049 mm. Para las películas PVOH:Qo MpQ530 se obtuvo un espesor promedio de 0,148 mm, no mostrando diferencias significativas ( $p>0,05$ ) entre sí. El grosor de las películas depende de su composición, método de preparación y secado (Ma y cols, 2017). Así en las mezclas PVOH:Qo micropartículas el espesor de las películas se controla mediante el tamaño de las partículas de quitina (128 y 530  $\mu\text{m}$ ), no mostrando gran oscilación en los grosores de películas generadas con cada tipo de micropartícula y mostrando una diferencia significativa ( $p<0,05$ ) en las películas con MpQ530 con el resto de las películas generadas. Además se observó un espesor significativamente menor ( $p<0,05$ ) para las películas control de PVOH y al incorporar Qo en menor porcentaje con valores de  $0,030 \pm 0,006$  mm y  $0,034 \pm 0,003$  mm respectivamente, al no presentar micropartículas en su composición y al estar compuestas principalmente con polímeros de carácter neutro, en comparación con las películas PVOH:Qo MpQ128 (Bonilla y cols, 2013; Ma y cols, 2017).

Las propiedades mecánicas obtenidos (Figura 9B y 9C), los valores de esfuerzo de tracción a la ruptura (Fig. 9B) para las películas control, no mostraron diferencias significativas ( $p>0,05$ ) entre sí, aunque se observó que la película PVOH80:Qo20 con  $17,8 \pm 0,5$  MPa muestra una tendencia al tener un ETR mayor a las demás mezclas, dicho fenómeno se puede explicar debido a una formación mayor de puentes de hidrogeno y de enlaces OH-NH<sub>2</sub> entre los polímeros en dicha proporción, mejorando la interacción entre el PVOH y Qo en las películas (Bonilla y cols, 2014; Ma y cols, 2017).

Las mezclas PVOH:Qo MpQ128 no presentaron diferencias significativas ( $p>0,05$ ) en sus valores de ETR, pero al compararlas con las películas control de la misma proporción, se observó un incremento significativo ( $p<0,05$ ) del ETR, película PVOH90:Qo10 presentó diferencias significativa ( $p<0,05$ ) con todas las películas PVOH:Qo MpQ128.

Finalmente, para las películas generadas con incorporación de MpQ530 se observa que la mezcla generada a menor rpm por 15 minutos en el mezclador de



**Fig 9.-** Caracterización películas elaboradas. (A) Espesor. (B) Porcentaje de alargamiento. (C) Esfuerzo de tracción a la ruptura (ETR) para películas control PVOH:Qo (100:0 ; 90:10; 80:20 y 70:30), PVOH:Qo MpQ128 y PVOH:MpQ530. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

alta cizalla presenta un ETR de  $39,9 \pm 9,7$  MPa, siendo significativamente inferior ( $p < 0,05$ ) a los obtenidos por el tratamiento a 125 RPM y 20 minutos ( $51,1 \pm 4,9$  MPa) y al tratamiento de 150 RPM y 20 minutos ( $64,4 \pm 13,1$  MPa), una mayor rigidez en las películas podría deberse al aumento en la formación de puentes de hidrógenos entre los polímeros, debido a una velocidad de agitación superior y aumento de temperatura en el medio, al realizar el tratamiento por un tiempo más prolongado (Shahbazi y cols, 2016).

La flexibilidad y extensibilidad de las películas se mide como el alargamiento porcentual (A%). En las películas control se obtuvo una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) a medida que la relación de Qo en las mezclas va en aumento. Costa-Júnior y cols., (2009) reporta un valor similar para películas de PVA puro (248 %), mientras Bonilla indica que la incorporación de Qo en películas PVA:Qo disminuyó significativamente ( $p < 0,05$ ) el alargamiento porcentual de las películas, dado el menor alargamiento porcentual de las películas puras de Qo., debido a los enlaces que interactúan entre los grupos  $-OH$  del PVA y los grupos  $-NH_2$  del Qo. (Bahrami y cols, 2003; Bonilla y cols, 2014).

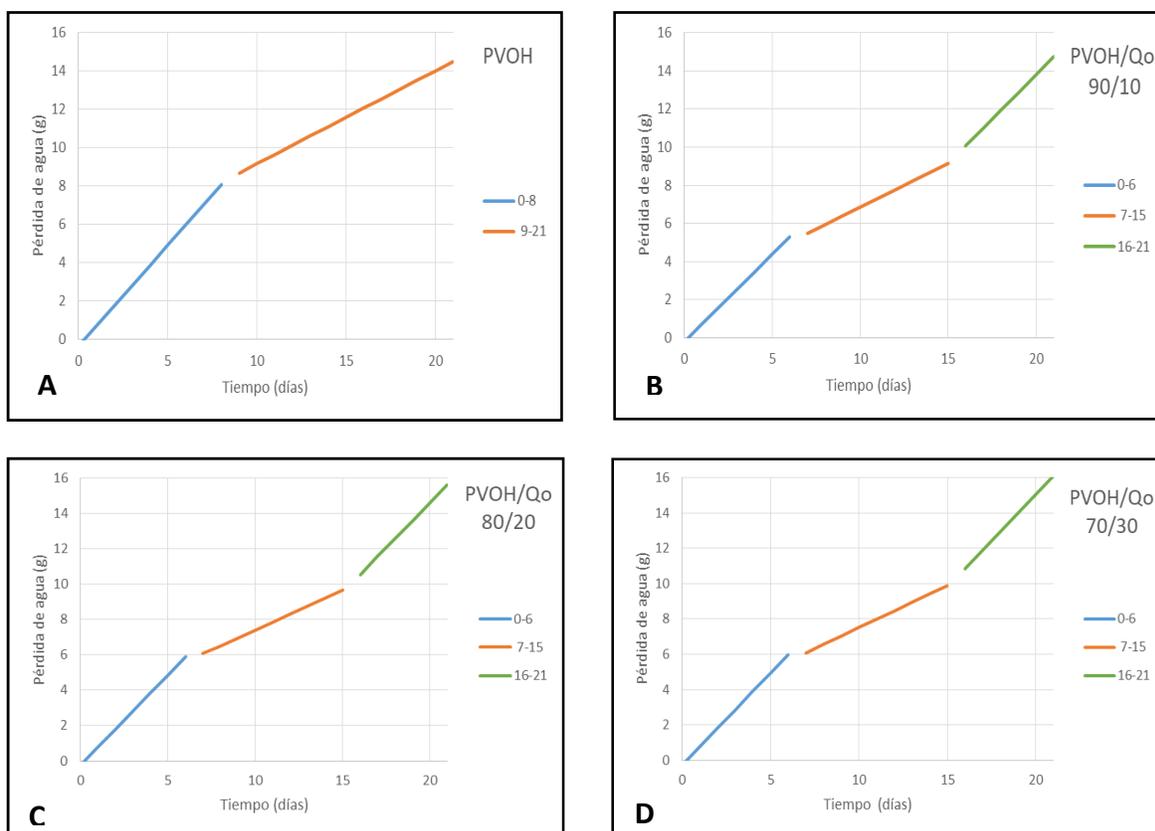
Las películas PVOH:Qo MpQ128 presentan una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) a medida que se agregó Qo a la mezcla. No se observaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) al agregar 1% o 5% de MpQ a las mezclas. Con respecto al control en las mismas proporciones para PVOH:Qo 90:10 y 80:10 al 1% y 5% no se encontraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ). En cambio, para 70:30 se observó un aumento significativo ( $p < 0,05$ ) al agregar MpQ128 al 1% y 5%, pasando desde un valor de  $54,6 \pm 2,9\%$  a  $115,3 \pm 10,1\%$  y  $109,7 \pm 3,5\%$  respectivamente.

Las películas PVOH:Qo MpQ530 no presentaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en su A% entre sí, al cambiar las rpm y el tiempo de mezclado. En todos los casos, se obtuvieron los más bajos porcentajes de alargamiento comparado con las otras películas. Es posible que un tamaño mayor de partículas evite una distribución homogénea y genere agregados, lo que provocaría la aparición de nuevo puntos de ruptura, junto con una menor movilidad de la cadena de polímeros, aumentando su rigidez, por dicho motivo no presentan características requeridas

para ser utilizadas en películas para envases (sambudi, Kim & Park, 2016; sebtí y cols, 2007).

#### 4.2.2 Permeabilidad al vapor de agua (PVA) para películas control PVOH:Qo (100:0; 90:10; 80:20 y 70:30)

Es posible observar en la figura 10 que la película conformada únicamente con PVOH, presenta un comportamiento bifásico en su interpretación grafica de 21 días para su pérdida de vapor de agua, al incorporar Qo en un 10, 20 y 30 %, su comportamiento pasa a trifásico.



**Fig. 10.-** Grafica perdida de agua v/s tiempo en películas control. (A) Película PVOH. (B) Película PVOH90:Qo10. (C) Película PVOH80:Qo20. (D) Película PVOH70:Qo30. Acondicionadas a 5°C y 85 % H.R

El film 100% PVOH presenta una pérdida de agua pronunciada desde el día 1 al 8, luego su pendiente disminuye desde el día 9 al 21. Al incorporar Qo en la película de PVOH se genera un cambio en la cinética de perdida de agua del film

de PVOH, así presentó una pérdida de agua pronunciada hasta el día 6, luego desde el día 7 al 15 la velocidad de pérdida de agua fue menor, para aumentar nuevamente desde el día 16 pasando de un comportamiento bifásico a trifásico. En la tabla 7 se comparan pendientes para periodos similares, para las cuatro muestras control generadas, para periodo de 7 – 15 de película PVOH, fue tomada una pendiente hipotética.

**Tabla 7.-** Valores de pendientes obtenidas en películas control en proporciones 100:0, 90:10, 80:20 y 70:30 entre 0 - 6, 7 - 15 y 16 - 21 días para pérdida de agua.

Muestra	Película	Periodo (Días)		
		0 - 6	7 - 15	16 - 21
		Pendiente (g/día)	Pendiente (g/día)	Pendiente (g/día)
PVOH	100/0	1,054 <sup>a</sup> ± 0,123	0,611 <sup>a</sup> ± 0,07	0,485 <sup>a</sup> ± 0,058
PVOH/Qo	90/10	0,92 <sup>a</sup> ± 0,07	0,461 <sup>b</sup> ± 0,028	0,935 <sup>b</sup> ± 0,034
PVOH/Qo	80/20	1,016 <sup>a</sup> ± 0,059	0,448 <sup>b</sup> ± 0,033	1,019 <sup>b</sup> ± 0,051
PVOH/Qo	70/30	1,037 <sup>a</sup> ± 0,042	0,475 <sup>b</sup> ± 0,018	1,057 <sup>b</sup> ± 0,031

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Para el periodo inicial de 0 a 6 días las muestras control no presentaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) para sus pendientes de pérdida de agua, entre los días 7 y 15 la pendiente de la película 100% PVOH fue significativamente superior ( $p < 0,05$ ) con un valor de 0,611 g/día, en comparación a los valores de 0,461 g/día, 0,448 g/día y 0,475 g/día para cuando se incorpora Qo al 10, 20 y 30% respectivamente. Para el periodo final de 16 a 21 días el film elaborado de PVOH presenta un valor de 0,485 g/día, siendo significativamente inferior ( $p < 0,05$ ), a los valores obtenidos para la pérdida de agua de las demás películas control. Lo anterior se ve reflejado en tabla 8, donde se muestra que el PVA obtenido entre 0 a 6 no muestra diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre muestras, entre 7 a 15 días el PVA de película PVOH es significativa superior ( $p < 0,05$ ) a las demás muestras control, y posteriormente de 16 a 21 días, película sin Qo presenta un PVA significativamente inferior ( $p < 0,05$ ) a películas con incorporación de Qo. La

proporción a la cual se incorporó Qo en las películas, no muestra diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) a lo largo de los 21 días de análisis del PVA.

Bonilla y cols., (2014) indicaron que la incorporación de Qo en la mezcla genera un ensanchamiento de las cadenas de polímeros, debido a las capas de hidratación más amplias de Qo, provocando una matriz más abierta y menos densa, lo que favorecería la migración del vapor de agua, pero a la vez se forman grandes cantidades de enlaces entre OH y NH<sub>2</sub>, los que limitarían la velocidad de transferencia de las moléculas de agua, reflejándose en un menor valor de PVA, lo cual queda se demuestra entre el día 7 y 15 de estudio, posteriormente al día 21 la pérdida de agua en los film elaborados no muestran diferencias significativas ( $p > 0,05$ ).

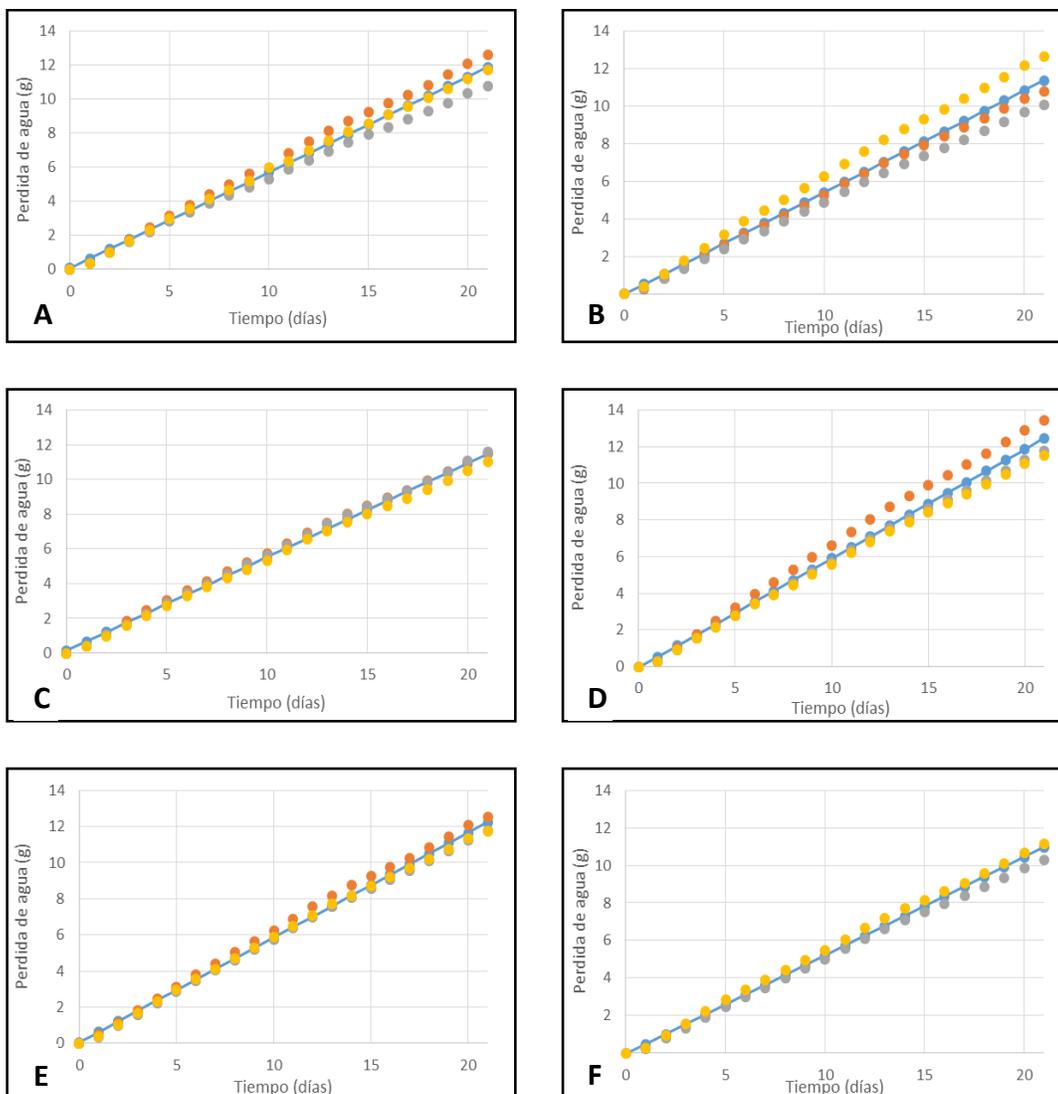
**Tabla 8.-** Valores de permeabilidad al vapor de agua (PVA) obtenido en películas control elaboradas entre 0 – 6, 7 – 15 y 16 – 21 días.

Muestra	Película	Periodo (Días)		
		0 - 6	7 - 15	16 - 21
		PVA (g*mm/KPa*h*m <sup>2</sup> )	PVA (g*mm/KPa*h*m <sup>2</sup> )	PVA (g*mm/KPa*h*m <sup>2</sup> )
PVOH	100/0	0,221 <sup>a</sup> ± 0,037	0,128 <sup>a</sup> ± 0,023	0,102 <sup>a</sup> ± 0,019
PVOH/Qo	90/10	0,156 <sup>a</sup> ± 0,017	0,078 <sup>b</sup> ± 0,003	0,159 <sup>b</sup> ± 0,019
PVOH/Qo	80/20	0,187 <sup>a</sup> ± 0,021	0,083 <sup>b</sup> ± 0,010	0,188 <sup>b</sup> ± 0,018
PVOH/Qo	70/30	0,158 <sup>a</sup> ± 0,020	0,072 <sup>b</sup> ± 0,009	0,161 <sup>b</sup> ± 0,018

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

#### 4.2.3 Permeabilidad al vapor de agua (PVA) para películas PVOH:Qo (100:0; 90:10; 80:20 y 70:30) MpQ128.

En primera instancia a las películas control generadas de PVOH:Qo se incorporó quitina en tamaño de 128 µm para evaluar su comportamiento y efecto en la pérdida de agua (Fig. 11). La incorporación de micropartículas de quitina (MpQ128) al 1 y 5% en películas control PVOH:Qo, cambió la cinética de pérdida de agua de un comportamiento trifásico a monofásico.



**Fig. 11.-** Grafica perdida de agua v/s tiempo en películas PVOH:Qo MpQ128. (A) Película PVOH90:Qo10 MpQ1%. (B) Película PVOH90:Qo10 MpQ5%. (C) Película PVOH80:Qo20 MpQ1%. (D) Película PVOH80:Qo20 MpQ5%. (E) Película PVOH70:Qo30 MpQ1%. (F) Película PVOH70:Qo30 MpQ5%. Acondicionadas a 5°C y 85 % H.R pendientes promedio del sistema trifásico ( $R^2 > 90\%$ ). (○) Círculos, valores de perdida de agua en film en transcurso de los días. (—) Línea continua, perdida de agua promedio obtenida.

La velocidad de pérdida de agua disminuyó al incorporar MpQ128 a las películas control (Tabla 9), film PVOH90:Qo10 presentó una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) al incorporar en un 5% MpQ128, la película PVOH80:20 disminuyó significativamente ( $p < 0,05$ ), al agregar al 1 y 5% MpQ128, mientras película control PVOH70:Qo30 con un valor de  $0,726 \pm 0,011$  g/día muestra

diferencia significativas ( $p < 0,05$ ) al incorporar al 1 y 5% MpQ con valores de  $0,580 \pm 0,021$  g/día y  $0,526 \pm 0,007$  g/día respectivamente, siendo el film con mayor disminución en su velocidad de pérdida de agua.

**Tabla 9.-** Valores de pendientes obtenidas en películas control y películas con incorporación de MpQ al 1 y 5% en proporciones 90:10, 80:20 y 70:30 entre 0 – 21 días para pérdida de agua.

Periodo (Días) 0 - 21			Periodo (Días) 0 - 21			Periodo (Días) 0 - 21		
Muestra	Película	Pendiente (g/día)	Muestra	Película	Pendiente (g/día)	Muestra	Película	Pendiente (g/día)
Control	90:10	$0,677^a \pm 0,024$	Control	80:20	$0,695^a \pm 0,040$	Control	70:30	$0,726^a \pm 0,011$
MpQ128	1%	$0,563^{ab} \pm 0,046$	MpQ128	1%	$0,540^b \pm 0,013$	MpQ128	1%	$0,580^b \pm 0,021$
MpQ128	5%	$0,544^b \pm 0,063$	MpQ128	5%	$0,596^b \pm 0,052$	MpQ128	5%	$0,526^c \pm 0,007$

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

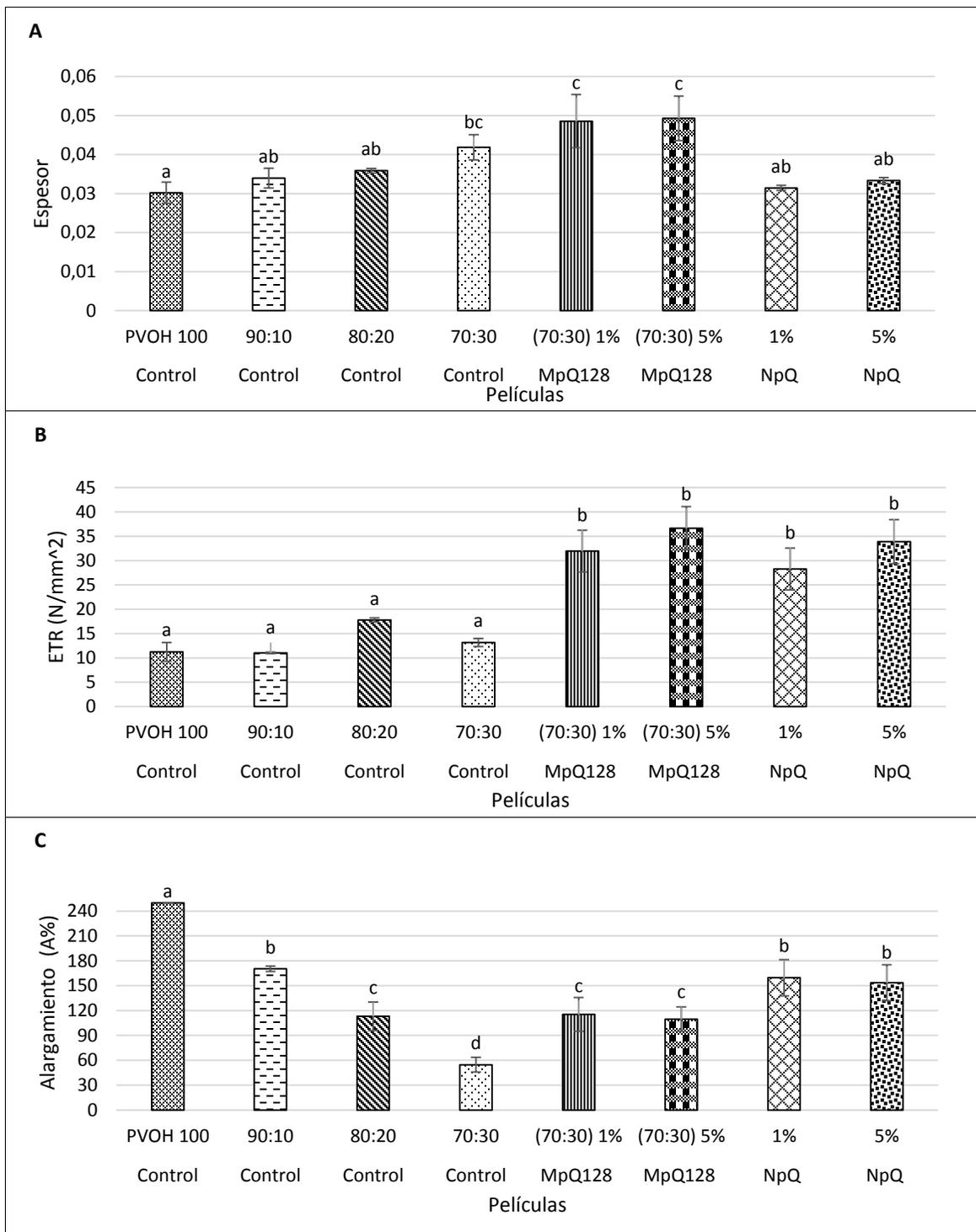
Al incorporar MpQ128 a las películas PVOH:Qo, la velocidad de pérdida de agua disminuyó, lo cual se puede atribuir a una menor cantidad de espacios vacíos en la matriz, sumada a la generación de enlaces OH-NH<sub>2</sub>, proporcionando una trayectoria tortuosa y más larga, y al ser un material hidrofóbico la quitina disminuye el desplazamiento del vapor de agua en medio de la matriz de la película. (Ebrahimzadeh, Ghanbarzadeh & Hamishehkar, 2016).

Posterior al análisis de las propiedades mecánicas y velocidad de pérdida de agua de las películas control y al incorporar MpQ128, las películas seleccionadas fueron PVOH70:Qo30, debido a que su espesor no aumentó significativamente ( $p > 0,05$ ) y permite una mayor incorporación de Qo y NpQ, también su ETR y A% aumenta significativamente ( $p < 0,05$ ) al incorporar 5% de MpQ128, y 1 y 5% MpQ128 respectivamente, lo que generó películas más resistente y flexibles, al mismo tiempo su velocidad de pérdida de agua presenta una disminución significativamente mayor al incorporar MpQ128 al 5%. Al trabajar con dimensiones a nanoescala mejoren aún más los resultados que se obtienen de forma convencional con microcomponentes, al generarse una sinergia entre los nanocompuestos utilizados (Bonilla y cols., 2014; Paula & Robesonb, 2016).

#### **4.2.4 Propiedades mecánicas: espesor (E), porcentaje de alargamiento (A%), esfuerzo de tracción a la ruptura (ETR) y permeabilidad al vapor de agua (PVA) para películas control PVOH:Qo (100:0; 90:10; 80:20 y 70:30), PVOH70:Qo30 MpQ128 y películas PVOH:Qo NpQ**

En la figura 12 se presenta el espesor y las propiedades mecánicas de las películas generadas PVOH:Qo con nanopartículas de quitina (NpQ) al 1% y 5% comparadas con las películas control y películas PVOH:Qo MpQ128 con 30% de Qo. La figura 12A muestra el espesor de las películas mencionadas, las películas PVOH:Qo NpQ al 1% y 5% tienen un espesor de  $0,031 \pm 0,001$  y  $0,033 \pm 0,001$  respectivamente, no presentando diferencias significativas en su espesor ( $p > 0,05$ ) entre ellas. El espesor de las películas con NpQ no presentó un tamaño significativamente diferente ( $p > 0,05$ ) a las películas control generadas, demostrando que la adición de nanopartículas no afectó el grosor de las películas (Sebti y cols, 2007), mientras presentó un espesor significativamente ( $p < 0,05$ ) menor a las películas PVOH:Qo MpQ128, mostrando que el tamaño de partículas de mayor tamaño (128  $\mu\text{m}$ ) controla el grosor de las películas como menciona Ma y cols., (2017), en comparación a la incorporación de partículas de tamaño nanométrico (290 nm).

El ETR se diferencia en dos partes, por un lado las películas control y por otro lado se obtuvo un ETR significativamente mayor ( $p < 0,05$ ) para las películas con incorporación de MpQ128 y NpQ, no mostrando diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) al variar el tamaño de las partículas y el porcentaje en el cual fueron agregadas. Al comparar sólo las películas control, con la incorporación de MpQ128 y NpQ en la proporción PVOH70:Qo30, disminuyendo el universo a comparar, fue posible obtener un aumento significativo total al incorporar partículas a las películas. La mejora del esfuerzo de tracción a la ruptura se produce probablemente por una



**Fig 12.-** Caracterización para películas control PVOH:Qo (100:0 ; 90:10; 80:20 y 70:30), PVOH70:Qo30 MpQ128 y PVOH:Qo NpQ elaboradas. (A) Espesor. (B) Porcentaje de alargamiento. (C) Esfuerzo de tracción a la ruptura (ETR). Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

mayor interacción intermolecular entre la  $\beta$ -quitina incorporada con la matriz PVOH:Qo (Akhavan, Khoylou & Ataeivarjovi, 2017).

El alargamiento porcentual (A%), disminuye para las películas control a medida que se incorpora Qo en las mezclas (Fig. 12A). Por otro lado al añadir MpQ128 y NpQ a las mezclas de películas no presentaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) al incorporar su concentración en 1% o 5%, pero al comparar las películas PVOH70:Qo30 con las películas con igual relación PVOH:Qo con MpQ128 y con NpQ se observan aumentos significativos ( $p > 0,05$ ) de su A% a medida que disminuye el tamaño de quitina en la mezcla. Una sobresaturación de los puntos activos para la incorporación de quitina en la matriz de la película, genera un efecto plastificante de las partículas incorporadas, disminuyendo la fuerza de atracción entre los polímeros, afectando el volumen libre de las partículas y separando las cadenas, este efecto se vería aumentando al disminuir el tamaño de las partículas incorporadas, al generarse una sinergia entre los nanocompuestos utilizados (Cano y cols, 2016; Paula & Robesonb, 2008).

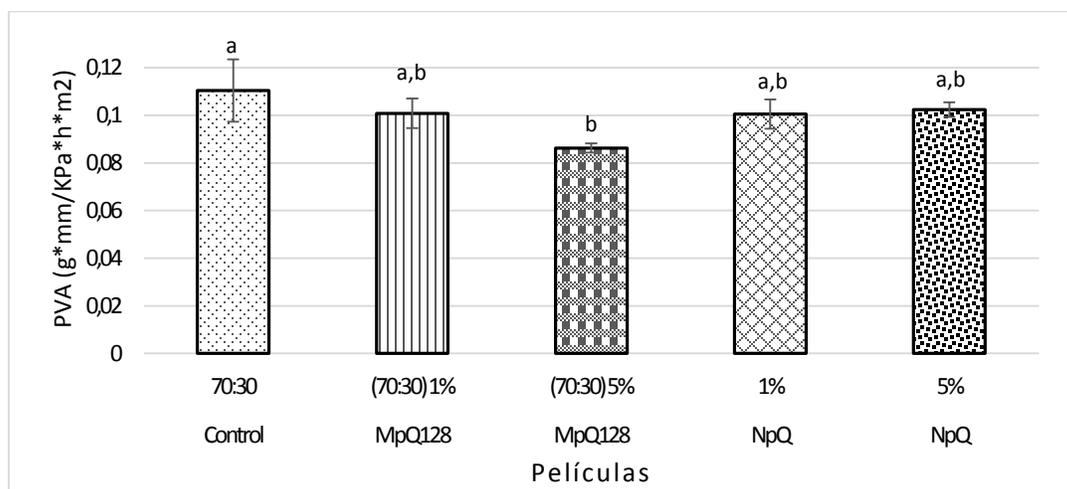
Como fue mencionado la incorporación de Qo a la película de PVOH puro, disminuyó significativamente su velocidad de pérdida de agua entre los 7 y 15 días, la incorporación de quitina en micropartículas en la relación 70:30 mostró una disminución mayor al agregar MpQ128 al 5% en su velocidad de pérdida de agua y se esperaba que dicha disminución fuera aún mayor al agregar quitina en tamaño nanométrico (Tabla 10). Sin embargo, al incorporar NpQ al 1% y 5% la velocidad de pérdida de agua es de  $0,610 \pm 0,036$  g/día y  $0,586 \pm 0,031$  respectivamente, no mostrando diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) con los obtenidos con MpQ128 al 1% ( $0,580 \pm 0,021$  g/día) y 5% ( $0,526 \pm 0,007$  g/día). Los valores de PVA para película con MpQ128 en 5% muestran una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) con un valor de  $0,086 \pm 0,002$  g\*mm/(KPa\*h\*m<sup>2</sup> en comparación  $0,110 \pm 0,013$  g\*mm/(KPa\*h\*m<sup>2</sup> de la muestra control, demás películas no muestran diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre sí. La tortuosidad generada no es mayor al incorporar de NpQ a las películas y no se restringe aún más la tasa de transferencia de moléculas de agua.

Probablemente la agregación de nanopartículas de  $\beta$ -quitina en las películas es afectada por la baja solubilidad que presenta la quitina, siendo un material insoluble en la mayoría de los solventes, impidiendo una dispersión uniforme en la solución, generando partículas inmiscibles y aglomeradas con propiedades deficientes (Avella y cols, 2005; Azeredo, 2009; Sorrentino, Gorrasi & Vittoria, 2007).

**Tabla 10.-** Valores de pendientes obtenidas para películas control 70:30, películas MpQ128 70:30 y NpQ entre 0 – 21 días para pérdida de agua.

Periodo (Días) 0 - 21		
Muestra	Película	Pendiente (g/día) Media $\pm$ DE
Control	70:30	0,726 <sup>a</sup> $\pm$ 0,011
MpQ128	1%	0,580 <sup>bc</sup> $\pm$ 0,021
MpQ128	5%	0,526 <sup>c</sup> $\pm$ 0,007
NpQ	1%	0,610 <sup>b</sup> $\pm$ 0,036
NpQ	5%	0,586 <sup>bc</sup> $\pm$ 0,031

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).



**Fig. 13.-** Permeabilidad al vapor de agua (PVA) para película control PVOH70:Qo30, película PVOH70:Qo30 MpQ128 y PVOH:Qo NpQ. Acondicionadas a 5°C y 85 % H.R. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

El glicerol se presenta como un disolvente ecológico con buenas propiedades físico-químicas con una gran capacidad para solubilizar compuestos orgánicos e inorgánicos, utilizado para dispersar e inmovilizar nanopartículas (Favier, Pla &

Gomez, 2017). Se ha demostrado que una matriz de PVOH-glicerol estabiliza nanocompuestos metálicos, por medio de la interacción de los grupos hidroxilo del glicerol con la superficie de los nanocompuestos (Dobrovolný y cols, 2017). Además la adición de 20% (v/v) de glicerol en nanopartículas de quitosano-timol (NQoT) logran una adecuada dispersión, permitiendo su incorporación en películas quitosano-extracto proteico acuoso de quinoa (Qo/EPQ), sin embargo, afecta el tamaño de partícula (Z-average), PDI y potencial Z, por lo que sería interesante evaluar su potencial uso en nanopartículas de  $\beta$ -quitina, como afecta su estabilización, propiedades mecánicas y barrera al vapor de agua (Caro, 2015).

## 5 Conclusiones

- Es posible obtener  $\beta$ -quitina, proveniente de la pluma de calamar en el Laboratorio de Operaciones Unitarios, Facultades de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, de la Universidad de Chile, a través de un proceso de limpieza, molienda, desproteínización por medio de una base fuerte y lavados sucesivos con agua destilada.
- El tiempo óptimo de trabajo en ultrasonido para obtener Nps de  $\beta$ -quitina es de 30 minutos, los cuales permiten obtener partículas de  $290 \pm 34$  nm de tamaño, PDI  $0,46 \pm 0,03$  y Potencial Z  $39,9 \pm 0,8$  mV.
- Las Nps fueron estables por 4 semanas, presentando un tamaño final de  $400 \pm 28$  nm, PDI de  $0,68 \pm 0,02$ , y potencial Z de  $+40,6 \pm 1,2$ , la estabilidad de estos parámetros en el tiempo aseguran su funcionalidad para su aplicación en películas.
- La incorporación de NpQ no afectó el espesor de las películas de PVOH:Qo, mientras que al incorporar partículas de mayor tamaño (128 y 530  $\mu\text{m}$ ), el espesor de las películas aumentó, independiente del porcentaje de incorporación y tratamiento de ultrasonido aplicado.
- El uso de cizalla con mayor rpm y tiempo de proceso permitió obtener películas más rígidas.
- La incorporación de Qo en las películas disminuyó el A%, mientras la incorporación de MpQ128 permite una reducción menos aguda en el A%.
- Películas PVOH presentan comportamiento bifásico en su pérdida de agua, al incorporar Qo es trifásico, disminuyendo la velocidad de pérdida entre los 7 a 15 días de observación.

- Películas PVOH:Qo presentaron comportamiento trifásico en su pérdida de agua, al incorporar MpQ es monofásico, disminuyendo la velocidad de pérdida en las tres formulaciones generadas al agregar MpQ128 al 5% y al agregar MpQ128 al 1 % disminuye en la relación 80:20 y 70:30 PVOH:Qo.
- Las películas PVOH70:Qo30 fueron más resistente y flexibles al incorporar MpQ128, mostrando una disminución de la pérdida de agua durante los 21 días al agregar MpQ128.
- La incorporación de NpQ en las películas 70:30 no influye en su espesor, su ETR no varía al compararlo con que las películas con MpQ128 y su A% mejora significativamente al compararlo con su película control y con incorporación de MpQ128. El valor de PVA no disminuye al agregar NpQ al 1 y 5%, manteniendo valores similares a los mostrados por las películas con MpQ128, presumiblemente por la baja solubilidad que presenta la  $\beta$ -quitina en medios acuosos.
- La incorporación de glicerol en películas PVOH:Qo NpQ permitiría una adecuada dispersión de las nanopartículas en el film, con el fin de disminuir PVA generado.

## 6 Bibliografía

- Acevedo, A., Trujillo, L., Graü, M. & Belloso, O. (2015). "Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: Physicochemical characterization and antimicrobial properties". *Food Hydrocolloids*, Vol. 45, pp. 168-177.
- Agulló, E. (2014). QUITINA Y QUITOSANO: obtención, caracterización y aplicaciones. Pontificia Universidad Católica del Perú, Peru. 312 p.
- Aider, M. (2010). "Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review". *LWT - Food Science and Technology*, Vol. 43 (6), pp. 837-842.
- Akhavan, A., Khoylou, F. & Ataeivarjovi, E. (2017). "Preparation and characterization of gamma irradiated Starch/PVA/ZnO nanocomposite films". *Radiation Physics and Chemistry*, Vol. 138, pp. 49-53.
- Aklog, Y., Nagae, T., Izawa, H., Morimoto, M., Saimoto, H. & Ifuku, S. (2016). "Preparation of chitin nanofibers by surface esterification of chitin with maleic anhydride and mechanical treatment". *Carbohydrate Polymers*, Vol. 153, pp. 55-59.
- Andrady, A. (2003). "PLASTICS AND THE ENVIRONMENT". New Jersey, United States of America: Editorial Wiley Interscience.
- Arkhipkin, A., Bizikov, V. & Fuchs, D. (2012). "Vestigial phragmocone in the gladius points to a deepwater origin of squid (Mollusca: Cephalopoda)". *Deep-Sea Research*, Vol. 61, pp. 109-122.
- Avella, M., Vlieger, J., Errico, M., Fischer, S., Vacca, P. & Volpe, M. (2005). "Biodegradable starch/clay nanocomposite films for food packaging applications". *Food Chemistry*, Vol. 93 (3), pp. 467-474.
- Azeredo, H. (2009). "Nanocomposites for food packaging applications". *Food Research International*, Vol. 42 (19), pp. 1240-1253.
- Bahrami, S., Kordestani, S., Mirzadeh, H. & Mansoori, P. (2003). "Poly (vinyl alcohol) - Chitosan blends: Preparation, Mechanical and Physical Properties". *Iranian Polymer Journal*, Vol. 12(2), pp. 139-146.

- Bonilla, J., Atarés, L., Vargas, M. & Chiralt, A. (2013)- “Properties of wheat starch film-forming dispersions and films as affected by chitosan addition”. *Journal of Food Engineering*, Vol. 114, pp. 303-312.
- Bonilla, J., Fortunati, E., Atarés, L., Chiralt, A. & Kenny, J. (2014). Physical, structural and antimicrobial properties of poly vinyl alcohol-chitosan biodegradable films. *Food hydrocolloids*, Vol. 35, pp. 463-470.
- Camacho, E., Vega, J. & Campos, A. (2011). “Uso de nanomateriales en polímeros para la obtención de bioempaques en aplicaciones alimentarias”. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, Vol. 77, pp. 292-306.
- Campana, S., Britto, D., Curti, E., Abreu, F., Cardoso, M., Battisti, M., Sim, P., Goy, R., Signini, R. & Lavall, R. (2007). “EXTRAÇÃO, ESTRUTURAS E PROPIEDADES DE  $\alpha$ - E  $\beta$ -QUITINA”. *Quimica Nova*, Vol. 30 (3), pp. 644-650.
- Campos, P. (diciembre de 2012). “Arándanos: Análisis temporada 2012-2013 y perspectivas futuras. *Revista Frutícola*”. Número 3, pp. 4-8.
- Cano, A., Cháfer, M., Chiralt, A. & Gonzalez, Ch. (2016). “Development and characterization of active films based on starch-PVA, containing silver nanoparticles”. *Food Packaging and Shelf Life*, Vol. 10, pp. 16-24.
- Carhuapoma, W. & Santiago, J. (2005). “CARACTERIZACIÓN DE HIDROGELES DE QUITOSANO-ALCOHOL POLIVINÍLICO OBTENIDOS POR RADIACIÓN GAMMA”. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, Vol. 6, pp. 45-51.
- Caro, N. (2015). “Incorporación mediante tecnología de inyección térmica de nanopartículas con agentes antimicrobianos a películas de quitosano y proteína de quínoa con potencial aplicación en frutas frescas”. (Tesis para optar al Grado de Doctor en Nutrición y Alimentos). Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- Cherepanov, P. & Andreeva, D. (2017). “Phase structuring in metal alloys: Ultrasound-assisted top-down approach to engineering of nanostructured catalytic materials”. *Ultrasonics Sonochemistry*, Vol. 35, pp. 556-562.

- Chiellini, E., Corti, A., D'Antone, S. & Solaro, R. (2003). "Biodegradation of poly (vinyl alcohol) based materials". *Progress in Polymer Science*, Vol. 28, pp. 963-1014.
- Chiellini, E. (2008). "*Environmentally Compatible Food Packaging*". Cambridge, England: Editorial Woodhead Publishing Limited.
- Costa-Júnior, E., Barbosa-Stancioli, E., Mansur, A., Vasconcelos, W. & Mansur, H. (2009). "Preparation and characterization of chitosan/poly(vinyl alcohol) chemically crosslinked blends for biomedical applications". *Carbohydrate Polymers*, Vol. 76, pp. 472-481.
- Dobrovolný, K., Ulbrich, P., Švecová, M., Rimpelová, S., Malinčík, J., Kohout, M., Svoboda, j. & Bartůňke, V. (2017). "Copper nanoparticles in glycerol-polyvinyl alcohol matrix: In situ preparation, stabilisation and antimicrobial activity". *Journal of Alloys and Compounds*, Vol. 697, pp. 147-155.
- Ebrahimzadeh, S., Ghanbarzadeh, B. & Hamishehkar, H. (2016). "Physical properties of carboxymethyl cellulose based nano-biocomposites with Graphene nano-platelets". *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 84, pp. 16-23.
- Fan, Y., Saito, T. & Isogai, A. (2008). "Preparation of Chitin Nanofibers from Squid Pen  $\beta$ -Chitin by Simple Mechanical Treatment under Acid Conditions". *Biomacromolecules*, Vol.9, pp. 1919-1923.
- Favier, I., Pla, D. & Gómez, M. (2017). "Metal-based nanoparticles dispersed in glycerol: An efficient approach for catalysis". *Catalysis Today*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cattod.2017.06.026>
- Fuentes, L. & Pastor, A. (2009). "PREPARACIÓN, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE PELÍCULAS DE QUITOSANO PROVENIENTE DE CALAMAR GIGANTE "Dosidicus gigas" PARA USO MÉDICO". *Revista de la Sociedad Química del Perú*, Vol. 75 (1), pp. 3-11.
- Giannakas, A., Vlach, M., Salmas, C., Leontiou, A., Katapodis, P., Stamatis, H., Barkoula, N. & Ladavos, A. (2016). "Preparation, characterization, mechanical, barrier and antimicrobial properties of chitosan/PVOH/clay nanocomposites". *Carbohydrate Polymers*, Vol. 140, pp. 408–415.

- Hartig, S., Greene, R., Dikov, Mi., Prokop, A. & Davidson, J. (2007). “Multifunctional Nanoparticulate Polyelectrolyte Complexes”. *PHARMACEUTICAL RESEARCH*, Vol. 24 (12), pp. 2353-2369
- Hernández, H., Águila, E., Flores, O., Viveros, E. & Ramos, E. (2009). “Obtención y caracterización de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón”. *Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Superficies y Materiales*, Vol. 22 (3), pp. 57-60.
- Ifuku, S., Nogi, M., Abe, K., Yoshioka, M., Morimoto, M., Saimoto, H. & Yano, H. (2011). “Simple preparation method of chitin nanofibers with a uniform width of 10–20 nm from prawn shell under neutral conditions”. *Carbohydrate Polymers*, Vol. 84, pp. 762-764.
- Koyano, T., Koshizaki, N., Umehara, H., Nagura, M. & Minoura, N. (2000). “Surface states of PVA/chitosan blended hydrogels”. *Polymer*, Vol. 41, pp. 4461-4465.
- Lee, H., Yildiz, G., Santos, L., Jiang, S., Andrade, J., Engeseth, N. & Feng, N. (2016). “Soy protein nano-aggregates with improved functional properties prepared by sequential pH treatment and ultrasonication”. *Food Hydrocolloids*, Vol. 55, pp. 200-209.
- Lu, Y., Sun, Q., She, X., Xia, Y., Liu, Y., Li, J. & Yang, D. (2013). “Fabrication and characterisation of  $\alpha$ -chitin nanofibers and highly transparent chitin films by pulsed ultrasonication”. *Carbohydrate Polymers*, Vol. 98 (2), pp. 1497-1504.
- Lu, Y., Weng, L. & Zhang, L. (2004). “Morphology and Properties of Soy Protein Isolate Thermoplastics Reinforced with Chitin Whiskers”. *Biomacromolecules*, Vol. 5, pp. 1046-1051.
- Ma, Q., Du, L., Yang, Y. & Wang, L. (2017). “Rheology of film-forming solutions and physical properties of tara gum film reinforced with polyvinyl alcohol (PVA)”. *Food Hydrocolloids*, Vol. 63, pp. 677-684.
- Mamvura, T., Iyuke, S. & Paterson, A. (2018). Energy changes during use of high-power ultrasound on food grade surfaces. *South African Journal of Chemical Engineering*, Vol. 25, pp. 62-73.

- Mark, J. (1998). "Polymer Data Handbook". Editorial New York Oxford University Press.
- Medina, E. (2016). "Diseño y evaluación de recubrimientos en base a proteínas de Quínoa y Quitosano que contienen agentes naturales nanoparticulados para su aplicación en frutillas". (Tesis para optar al Grado de Doctor en Nutrición y Alimentos). Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- Ming, J., Yu, W., Lang, T. & Chien, M. (2004)." Evaluation of chitosan/PVA blended hydrogel membranes". *Journal of Membrane Science*, Vol. 236, pp. 39-51.
- Müller, R., Jacobs, C., y Kayser, O. (2001). "Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy rationale for development and what we can expect for the future". *Advanced Drug Delivery Reviews*, Vol. 47, pp. 3–19.
- Ngoc, H., Cong, N., Van, N. & Si, T. (2016). "Preparation and characterization of high purity  $\beta$ -chitin from squid pens (*Loligo chinesis*)". *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 93 (A). pp. 442-447.
- Papadopoulou, C & Kalfoglou, N. (1997). "Compatibility study of binary and ternary PVOH/polyolefin blends". *Polymer*, Vol. 38, pp. 4207-4231
- Park, S., Jun, S. & Marsh, K. (2001). "Physical properties of PVOH/chitosan-blended films cast from different solvents". *Food Hydrocolloids*, Vol. 16, pp. 499-502
- Paula, D., & Robeson, L. (2008). "Polymer nanotechnology: Nanocomposites". *Polymer*, Vol. 49 (15), pp. 3187-3204.
- Pillai, C., Paul, W. & Sharma, Ch. (2009). "Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation". *Progress in Polymer Science*, Vol. 34 (7), pp. 641-678.
- Paz, N., Fernández, M., López, O., Nogueira, A., García, C., Pérez, D., Tobella, J., Oca, Y. & Díaz, D. (2012). "OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DE QUITOSANO DERIVADA DE LA QUITINA DE LANGOSTA". *Revista Iberoamericana de Polímeros*, Vol. 13 (3), pp. 103-116.
- Ramos, M., Bautista, S., Barrera, L., Bosquez, E., Alia, I. & Estrada, M. (2010). "Compuestos Antimicrobianos Adicionados en Recubrimientos

Comestibles para Uso en Productos Hortofrutícolas”. *Revista Mexicana de fitopatología*, Vol. 28 (1), pp. 44-57.

- Rinaudo, M. (2006). “Chitin and chitosan: Properties and applications”. *Progress in Polymer Science*, Vol. 31 (7), pp. 603-632.
- Robles, M. (1996). “*Diseño gráfico de envases: guía y metodología*”. Lomas de Santa Fe, México: Editorial Universidad Iberoamericana, A.C.
- Romero, C., Zamudio, P. & Bello, L. (2011). “Antimicrobiano en películas de almidón oxidado de plátano: Efecto sobre la actividad antibacteriana, microestructuras, propiedades mecánicas y barrera. *Revista mexicana de Ingeniería Química*, Vol. 10 (3), pp. 445-453.
- Sambudi, N., Kim, M. & Park, S. (2016). “The formation of web-like connection among electrospun chitosan/PVA fiber network by the reinforcement of ellipsoidal calcium carbonate”. *Materials Science and Engineering C*, Vol. 60, pp. 518-525.
- Sathiskumar, P & Madras, G. (2011). Polymers Degradation and stability. *Materials Science and Engineering C*, Vol. 96, pp. 1695-1701.
- Sebti, I., Chollet, E., Degraeve, P., Noel, C., y Peyrol, E. (2007). Water sensitivity antimicrobial and physicochemical analyses of edible films based on HPMC and/or chitosan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 55, pp. 693-699.
- Shahbazi, M., Rajabzadeh, G., Rafe, A., Ettelaie, R. & Ahmadi, S. (2016). “The physico-mechanical and structural characteristics of blend film of poly(vinyl alcohol) with biodegradable polymers as affected by disorder-to-order conformational transition”. *Food Hydrocolloids*, Vol. 60, pp. 393-404.
- Shahidi, F., Arachchi, J. & Jeon, Y. (1999). “Food applications of chitin and chitosans”. *Trends in Food Science & Technology*, Vol. 10 (2), pp. 37-51.
- Shavandi, A., Hu, z., Teh, S., Zhao, J., Carne, A., Bekhit, A. & Bekhit, A (2017). “Antioxidant and functional properties of protein hydrolysates obtained from squid pen chitosan extraction effluent”. *Food Chemistry*, Vol. 227, pp.194-201.

- Shchukin, D., Skorb, E., Belova, V. & Möhwald, H. (2011). “Ultrasonic Cavitation at Solid Surfaces”. *Advanced materials*, Vol, 23, pp. 1922–1934.
- Silvestre, C., Duraccio, D. & Cimmino, S. (2011). “Food packaging based on polymer nanomaterials”. *Progress in Polymer Science*, Vol. 36 (12), pp. 1766-1782.
- Sorrentino, A., Gorrasi, G. & Vittoria, V. (2007). “Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications”. *Trends in Food Science & Technology*, Vol. 18 (2), pp. 84-95.
- Sozer, N. & Kokini, J. (2009). “s”. *Trends in Biotechnology*, Vol. 27 (2), pp. 82-89.
- Suenaga, S., Nikaido, N., Totani, K., Kawasaki, K., Ito, Y., Yamashita, K. & Osada, M. (2016). “Effect of purification method of  $\beta$ -chitin from squid pen on the properties of  $\beta$ -chitin nanofibers”. *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 91, pp. 987-993
- Tang, E., Huang, M & Lim, L. (2003). “Ultrasonication of chitosan and chitosan nanoparticles”. *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 265 (1), pp. 103-114.
- Tischer, P., Sierakowski, M., Westfahl, H. & Tischer, C (2010). “Nanostructural Reorganization of Bacterial Cellulose by Ultrasonic Treatment”. *Biomacromolecules*, Vol. 11, pp. 1217–1224.
- Villalobos, P., Rojas, A. & Leporati, M. (2006). “Chile Potencia Alimentaria: Compromiso con la nutrición y salud de la población”. *Revista chilena de nutrición*, Vol. 33, pp. 232-237.
- Villarquide, A. (2005). “La pintura sobre telas II: Alteraciones, materiales y tratamientos de restauración”. San Bartolomé: Editorial Nerea.
- Wijesena, R., Tissera, N., Kannangara, Y., Lin, Y., Amaratunga, G. & Silva, K. (2015). “A method for top down preparation of chitosan nanoparticles and nanofibers”. *Carbohydrate Polymers*, Vol. 117, pp. 731-738.
- Yam, K., & Lee, D. (2012). “*Emerging Food Packaging Technologies: Principles and Practice*”. Cambridge, England: Editorial Woodhead Publishing Limited.

- Zhao, H & Fenga, X. (2007). "Ultrasonic technique for extracting nanofibers from nature materials". *Applied Physics Letters*, Vol. 90. doi: 10.1063/1.2450666
- Zhu, Y., Wang, H., Zhu, J., Chang, L. & Ye, L. (2015). "Nanoindentation and thermal study of polyvinylalcohol/graphene oxide nanocomposite film through organic/inorganic assembly". *Applied Surface Science*, Vol. 349, pp. 27-34.
- Zoffoli, J., Evseev, A., Naranjo, P. & Rodriguez, J. (2015). El futuro de los biopolímeros en el envase de frutas. Departamento de Fruticultura y Enología, Laboratorio Poscosecha, Número 52, p. 40-43.

## 7. Anexos

**Anexo 1:** Imágenes procedimientos de obtención de  $\beta$ -quitina.

Materia Prima



Limpieza



Reducción de Tamaño



Desproteínización



Neutralización y secado



Molienda



$\beta$ -quitina



## **Anexo 2:**

- A. Tabla de espesor para películas Control PVOH:Qo (100:0; 90:10; 80:20 y 70:30), PVOH:Qo MpQ128 y PVOH:MpQ530

<b>Películas</b>	<b>Espesor (E) (mm) Media±DE</b>
Control PVOH 100	0,030 <sup>a</sup> ± 0,006
Control 90:10	0,034 <sup>a</sup> ± 0,003
Control 80:20	0,036 <sup>ab</sup> ± 0,001
Control 70:30	0,042 <sup>abc</sup> ± 0,003
MpQ128 (90:10) 1%	0,048 <sup>bc</sup> ± 0,003
MpQ128 (90:10) 5%	0,048 <sup>bc</sup> ± 0,005
MpQ128 (80:20) 1%	0,048 <sup>bc</sup> ± 0,004
MpQ128 (80:20) 5%	0,049 <sup>c</sup> ± 0,002
MpQ128 (70:30) 1%	0,048 <sup>bc</sup> ± 0,008
MpQ128 (70:30) 5%	0,049 <sup>c</sup> ± 0,006
MpQ530 125rpm 15min	0,147 <sup>d</sup> ± 0,002
MpQ530 125rpm 20min	0,150 <sup>d</sup> ± 0,005
MpQ530 150rpm 20min	0,147 <sup>d</sup> ± 0,006

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

**B.** Tabla porcentaje de alargamiento (A%) y esfuerzo de tracción a la ruptura (ETR) para películas Control PVOH:Qo (100:0; 90:10; 80:20 y 70:30), PVOH:Qo MpQ128 y PVOH:MpQ530.

<b>Películas</b>	<b>Alargamiento Porcentual (A) (%) Media±DE</b>	<b>Esfuerzo de Tracción a la ruptura (ETR) (MPa) Media±DE</b>
Control PVOH 100	250,0 <sup>a</sup> ± 0,1	11,3 <sup>a</sup> ± 1,9
Control 90:10	170,4 <sup>bcd</sup> ± 3,3	11,0 <sup>a</sup> ± 0,1
Control 80:20	113,1 <sup>ef</sup> ± 17,1	17,8 <sup>abc</sup> ± 0,5
Control 70:30	54,6 <sup>g</sup> ± 8,9	13,2 <sup>ab</sup> ± 0,8
MpQ128 (90:10) 1%	174,1 <sup>bc</sup> ± 13,2	41,6 <sup>de</sup> ± 0,3
MpQ128 (90:10) 5%	192,9 <sup>b</sup> ± 18,1	42,4 <sup>de</sup> ± 8,5
MpQ128 (80:20) 1%	135,3 <sup>def</sup> ± 29,7	33,6 <sup>bcde</sup> ± 1,9
MpQ128 (80:20) 5%	148,9 <sup>cde</sup> ± 28,5	37,7 <sup>cde</sup> ± 3,6
MpQ128 (70:30) 1%	115,3 <sup>ef</sup> ± 20,2	31,9 <sup>bcd</sup> ± 8,3
MpQ128 (70:30) 5%	109,7 <sup>f</sup> ± 14,6	36,7 <sup>cde</sup> ± 4,4
MpQ530 125rpm 15min	10,1 <sup>h</sup> ± 2,3	39,9 <sup>de</sup> ± 9,7
MpQ530 125rpm 20min	13,1 <sup>h</sup> ± 3,6	51,1 <sup>fg</sup> ± 4,9
MpQ530 150rpm 20min	10,7 <sup>h</sup> ± 2,1	64,4 <sup>g</sup> ± 13,1

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

**C.** Tabla Permeabilidad al Vapor de Agua (PVA) para películas Control PVOH:Qo (100:0; 90:10; 80:20 y 70:30), PVOH:Qo MpQ128 y PVOH:MpQ530.

<b>Películas</b>	<b>PVA (g*mm/(KPa*h*m<sup>2</sup>)) Media±DE</b>
Control PVOH 100	0,2006 <sup>a</sup> ± 0,013
Control 90:10	0,1394 <sup>bcd</sup> ± 0,012

Control 80:20	0,1302 <sup>bcd</sup> ± 0,010
Control 70:30	0,1275 <sup>bcd</sup> ± 0,018
MpQ128 (90:10) 1%	0,1139 <sup>bcd</sup> ± 0,026
MpQ128 (90:10) 5%	0,0980 <sup>de</sup> ± 0,011
MpQ128 (80:20) 1%	0,0918 <sup>e</sup> ± 0,007
MpQ128 (80:20) 5%	0,1053 <sup>cde</sup> ± 0,017
MpQ128 (70:30) 1%	0,1014 <sup>cde</sup> ± 0,010
MpQ128 (70:30) 5%	0,0958 <sup>de</sup> ± 0,019
MpQ530 125rpm 15min	0,1570 <sup>b</sup> ± 0,010
MpQ530 125rpm 20min	0,1504 <sup>b</sup> ± 0,004
MpQ530 150rpm 20min	0,1451 <sup>bc</sup> ± 0,015

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

- D. Tabla espesor para películas Control PVOH:Qo (100:0; 90:10; 80:20 y 70:30), PVOH70:Qo30 MpQ128 y películas PVOH:Qo NpQ.

<b>Películas</b>	<b>Espesor (E) (mm) Media ± DE</b>
Control PVOH 100	0,030 <sup>a</sup> ± 0,006
Control 90:10	0,034 <sup>ab</sup> ± 0,003
Control 80:20	0,036 <sup>ab</sup> ± 0,001
Control 70:30	0,042 <sup>bc</sup> ± 0,003
MpQ128 (70:30) 1%	0,049 <sup>c</sup> ± 0,008
MpQ128 (70:30) 5%	0,049 <sup>c</sup> ± 0,006
NpQ 1%	0,031 <sup>ab</sup> ± 0,001
NpQ 5%	0,033 <sup>ab</sup> ± 0,001

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

E. Tabla porcentaje de alargamiento (A%) y esfuerzo de tracción a la ruptura (ETR) y Permeabilidad al Vapor de Agua (PVA) para películas Control PVOH:Qo (100:0; 90:10; 80:20 y 70:30), PVOH70:Qo30 MpQ128 y películas PVOH:Qo NpQ.

<b>Películas</b>	<b>Alargamiento Porcentual (A) (%) Media±DE</b>	<b>Esfuerzo de Tracción a la ruptura (ETR) (MPa) Media±DE</b>
Control PVOH 100	250,0 <sup>a</sup> ± 0,1	11,3 <sup>a</sup> ± 1,9
Control 90:10	170,4 <sup>b</sup> ± 3,3	11,0 <sup>a</sup> ± 0,1
Control 80:20	113,1 <sup>c</sup> ± 17,1	17,8 <sup>a</sup> ± 0,5
Control 70:30	54,6 <sup>d</sup> ± 8,9	13,2 <sup>a</sup> ± 0,8
MpQ128 (70:30) 1%	115,3 <sup>c</sup> ± 20,2	31,9 <sup>b</sup> ± 4,3
MpQ128 (70:30) 5%	109,7 <sup>c</sup> ± 14,6	36,7 <sup>b</sup> ± 4,4
NpQ 1%	159,5 <sup>b</sup> ± 21,8	28,3 <sup>b</sup> ± 4,2
NpQ 5%	153,6 <sup>b</sup> ± 21,6	33,9 <sup>b</sup> ± 4,5

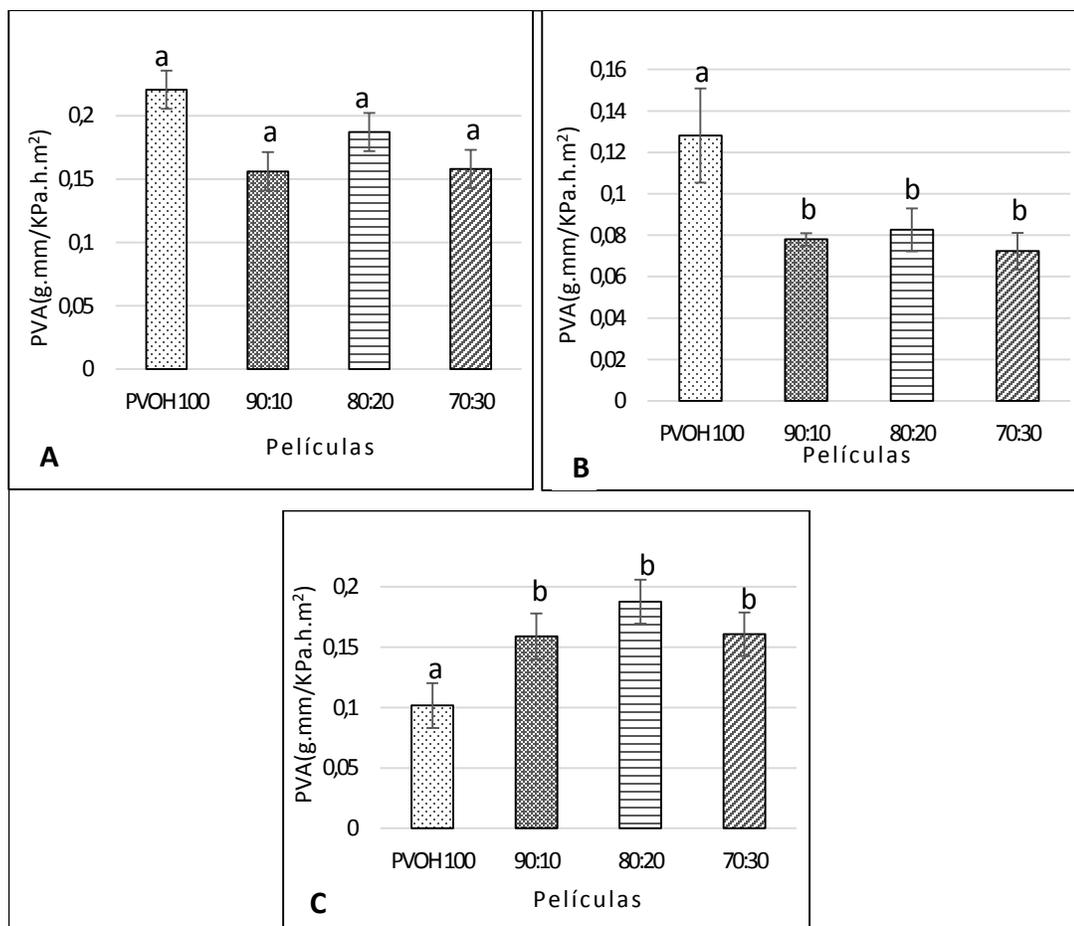
Letras distintas indican diferencias significativas (p<0,05).

F. Tabla Permeabilidad al Vapor de Agua (PVA) para películas Control PVOH:Qo (100:0; 90:10; 80:20 y 70:30), PVOH70:Qo30 MpQ128 y películas PVOH:Qo NpQ

<b>Películas</b>	<b>PVA (g*mm/(KPa*h*m<sup>2</sup>)) Media±DE</b>
Control PVOH 100	0,2006 <sup>a</sup> ± 0,013
Control 90:10	0,1394 <sup>b</sup> ± 0,012
Control 80:20	0,1302 <sup>bc</sup> ± 0,080
Control 70:30	0,1275 <sup>bc</sup> ± 0,018
MpQ128 (70:30) 1%	0,1014 <sup>c</sup> ± 0,010
MpQ128 (70:30) 5%	0,0958 <sup>c</sup> ± 0,019
NpQ 1%	0,1005 <sup>c</sup> ± 0,006
NpQ 5%	0,1029 <sup>c</sup> ± 0,003

Letras distintas indican diferencias significativas (p<0,05).

**Anexo 3:** Grafica PVA para Películas Control. (A) PVA para Películas Control de 0 – 6 días. (B) PVA para Películas Control de 7 – 15 días a. (C) PVA para Películas Control de 15 – 21 días.



Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

#### ANEXO 4.

##### A. Tabla de análisis de película PVOH, comparación de pendientes y recta simulada.

PVOH									
0-8			9-21			0-21 (Simulado)			
copas	r	m	n	r	m	n	r	m	r2
27	0,990	0,917	-0,364	0,991	0,425	3,652	0,980	1,617	0,96019305
10	0,994	1,156	-0,357	0,997	0,541	4,556	0,981	1,292	0,96245107
31	0,992	1,088	-0,334	0,995	0,489	4,673	0,979	1,365	0,95832587
<b>prom</b>		1,05361	-0,3515	0,4850549		4,29341			
<b>DE</b>		0,1228	0,01588	0,0579529		0,55883			
<b>CV</b>		11,6549	4,51749	11,947707		13,0161			
<b>p8/p21</b>		2,17215							

##### B. Tabla de análisis de película PVOH90:Qo10, comparación de pendientes y recta simulada.

90/10												
0-6			7-15			16-21			0-21			r
copas	r	m	n	r	m	n	r	m	n	r	r2	m
34	0,994	0,991	-0,244	0,999	0,488	2,518	0,99947	0,93757143	-4,2609	0,992	0,991603	0,695
4	0,994	0,919	-0,214	0,998	0,433	2,407	0,99966	0,968	-5,6239	0,989	0,9872128	0,649
29	0,995	0,851	-0,216	0,997	0,462	1,756	0,99975	0,89928571	-4,8226	0,992	0,9901164	0,686
<b>prom</b>		0,92036	-0,2249	0,4611111		2,22704	0,93495238		-4,9025			
<b>DE</b>		0,07037	0,01685	0,0279316		0,4115	0,03443193		0,685			
<b>CV</b>		7,64573	7,49349	6,0574618		18,4773	3,68274695		13,9725			
<b>p6/p15</b>		1,99596			<b>p15/p21</b>		0,49319					

C. Tabla de análisis de película PVOH80:Qo20, comparación de pendientes y recta simulada.

80/20												
0-6				7-15			16-21			0-21 simulado		
copas	r	m	n	r	m	n	r	m	n	r	r <sup>2</sup>	m
17	0,994	0,981	-0,259	0,997	0,430	2,828	1,000	1,009	-5,982	0,9953	0,990576534	0,678
11	0,995	1,084	-0,200	0,997	0,486	3,053	1,000	1,074	-5,908	0,995	0,990897685	0,740
20	0,994	0,981	-0,191	0,996	0,428	2,872	1,000	0,975	-5,472	0,9950	0,990011643	0,666
prom		1,0156	-0,2168	0,44811		2,91781	1,019		-5,787			
DE		0,05918	0,03646	0,03297		0,11928	0,051		0,276			
CV		5,82697	16,8193	7,35657		4,0881	4,955		4,763			
p6/p15		2,26639		p15/p21		0,43963						

D. Tabla de análisis de película PVOH70:Qo30, comparación de pendientes y recta simulada.

70/30												
0-6				7-15			16-21			0-21 simulado		
copas	r	m	n	r	m	n	r	m	n	r	r <sup>2</sup>	m
12	0,995	1,062	-0,189	0,998	0,487	2,750	1,000	1,024	-5,337	0,9950	0,990083821	0,723
25	0,994	1,062	-0,252	0,998	0,484	2,917	1,000	1,060	-5,827	0,995	0,990887647	0,738
19	0,993	0,989	-0,311	0,997	0,455	2,623	1,000	1,086	-7,043	0,995	0,990748116	0,716
prom		1,03738	-0,2508	0,47528		2,76343	1,057		-6,069			
DE		0,04227	0,06145	0,01803		0,14765	0,031		0,878			
CV		4,07471	24,4966	3,79396		5,34317	2,967		14,473			
p6/p15		2,18268		p15/p21		0,44983						