

Revisión de literatura: Biopelículas a base de quitosano como potencial aplicación en empaque de alimentos

Celeste Aurora Matos González

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras
Noviembre, 2020

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

Revisión de literatura: Biopelículas a base de quitosano como potencial aplicación en empaque de alimentos

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniería en Agroindustria Alimentaria en el Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Celeste Aurora Matos González

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2020

Revisión de literatura: Biopelículas a base de quitosano como potencial aplicación en empaque de alimentos

Celeste Aurora Matos González

Resumen. El quitosano es un biopolímero que se obtiene de la desacetilación de la quitina siendo una alternativa a los polímeros sintéticos utilizados para los empaques de alimentos. La quitina se encuentra comúnmente en las especies marinas como el camarón, cangrejos, calamares y langostas. Es uno de los biopolímeros más abundantes en la naturaleza después de la celulosa. Su uso resalta entre otras películas debido a que es un biopolímero con propiedades antimicrobianas y biodegradable, lo cual hace que tenga potencial aplicación en el área de empaques y recubrimientos de alimentos. El objetivo de esta revisión de literatura fue recopilar información para proveer datos relevantes sobre las características óptimas que se necesitan para la formación de biopelículas específicamente de quitosano. Es por esto que se explicarán, las propiedades intrínsecas (grado de desacetilación (DDA), solubilidad y peso molecular) y propiedades extrínsecas (tipo de solvente y pH, temperatura y adición de otros ingredientes) que afectan al quitosano cuando se requiere desarrollar una biopelícula o recubrimiento. Asimismo, el quitosano consta de propiedades mecánicas, antimicrobiana y permeabilidad al vapor de agua que pueden ser mejoradas o potenciadas al añadir otros ingredientes compatibles con este compuesto. Dentro de algunos compuestos que se pueden utilizar destacan: plastificante (glicerol y sorbitol), óxido de Zinc (ZnO), propóleo, antocianinas, aceites esenciales e hidróxido de sodio (NaOH). Esta investigación sugiere el uso de potenciales ingredientes para la obtención de empaques o recubrimiento para alimentos.

Palabras claves: Biodegradable, desacetilación, propiedades extrínsecas, propiedades intrínsecas.

Abstract. Chitosan is a biopolymer that is obtained from the deacetylation of chitin, being an alternative to synthetic polymers used for food packaging. Chitin is commonly found in marine species such as shrimp, crabs, squid, and lobsters. It is one of the of the most abundant biopolymers in nature after cellulose. Its use stands out among other films because it is a biopolymer antimicrobial and biodegradable properties, which makes it have potential application in food packaging and coating. The aim of this literature review was to compiled information to provide relevant data about the optimal characteristics that are needed for the fabrication of biofilms specifically from chitosan. This is why the intrinsic properties (degree of deacetylation (DDA), solubility, and molecular weight) and extrinsic properties (the type of solvent and pH, temperature, and addition of other ingredients) that effect chitosan when it is required to fabricate a biofilm or coating will be explained. Likewise, chitosan has mechanical, antimicrobial and water vapor permeability properties that can be improved or enhanced by adding other ingredients compatible with this compound. Some compounds that can be used include plasticizers (glycerol and sorbitol), Zinc oxide (ZnO), propolis, anthocyanins, essential oils, and sodium hydroxide (NaOH). This research suggests the use of potential ingredients to obtain food packaging or coating.

Key words: Biodegradable, deacetylation, extrinsic properties, intrinsic properties.

ÍNDICE GENERAL

Portadilla.....	i
Página de firmas	ii
Resumen.....	iii
Índice General.....	iv
Índice de Cuadro, Figuras y Anexo	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	4
4. CONCLUSIONES	19
5. RECOMENDACIONES.....	20
6. LITERATURA CITADA.....	21
7. ANEXO.....	28

ÍNDICE DE CUADRO, FIGURAS Y ANEXO

Cuadro	Página
1. Propiedades intrínsecas del quitosano con diferentes grados de desacetilación (DDA) y concentraciones. Fuente: Zhuang <i>et al.</i> 2019.....	10

Figuras	Página
1. Estructura química de la quitina y el quitosano.....	4
2. Proceso de desacetilación de la quitina.....	5
3. Estructura química del glicerol	11
4. Ilustración de películas con quitosano puro y películas plastificadas por formación de moléculas de glicerol	12
5. Estructura química del sorbitol	13
6. Estructura química del carvacrol.....	16

Anexo	Página
1. Resumen de mezcla de aditivos para la formación de biopelículas a base de quitosano. Mejora de características se presenta a continuación. PM: propiedades mecánicas, AA: actividad antimicrobiana, P: permeabilidad	28

1. INTRODUCCIÓN

El plástico es un producto esencial en la sociedad debido a las diferentes aplicaciones que tiene en la vida diaria; son materiales sintéticos o semisintéticos producidos por procesos de polimerización (Singh y Sharma 2016). El PET (tereftalato de polietileno, por sus siglas en inglés) es el polímero más usado en plásticos, debido a que es un material muy fuerte e incoloro, además, es muy usado en la producción de botes y empaques de alimentos (Atalay *et al.* 2018). En la actualidad, la producción de plástico ha ido en aumento gradual año con año, desde 2.3 millones de toneladas en el año 1940 hasta 448 millones de toneladas para el año 2015, esperando así el doble de producción para el año 2050 (Parker 2019).

Hoy en día, el mundo sin plástico parece inimaginable debido al alto uso que se le da a este material en muchas de las rutinas diarias de la población. El mayor productor de plástico a nivel mundial es China con 60 millones de toneladas, pero esto se debe su gran población. Luego, como segundo mayor productor de plástico está Estados Unidos con 38 millones, posterior a Alemania con 14.5 millones y Brasil con 12 millones de toneladas (Ritchie y Roser 2018). El plástico tiene un impacto significativamente negativo en la vida silvestre y cuerpos de agua, ya que la mayor cantidad de los plásticos usados llegan a los océanos como destino final. El desarrollo y uso de bioplásticos es una alternativa para reducir esta contaminación, debido a que el tiempo de descomposición del bioplástico es menor comparado con el plástico sintético. Las bolsas de plástico sintético tardan aproximadamente de 10 - 20 años en descomponerse, asimismo las botellas plásticas pueden permanecer en el ambiente durante 450 años (Tapan 2019).

Los empaques son considerados el área donde más se utilizan los plásticos, con un 42% seguido del sector de las construcciones y edificios con 19% (Ritchie y Roser 2018), la diferencia se centra en que los empaques tienen un menor tiempo de uso, en cambio las construcciones tienen un extenso tiempo de vida. Los biopolímeros son polímeros de origen natural, producidos por organismos vivos, son moléculas en forma de cadenas formadas por bloques químicos repetitivos y contruidos a partir de recursos renovables, que podrían degradarse en el medio ambiente. Los biopolímeros, son muy importantes porque tienen propiedades excepcionales como la no toxicidad y la biodegradabilidad (Mohiuddin *et al.* 2017). La creación de un empaque aprovechando los biopolímeros que existen en la naturaleza, como el quitosano, daría como resultado un buen envase biodegradable, amigable con el medio ambiente, y otro beneficio que se sumaría a este plástico es el uso de desperdicio de alimentos gracias al uso de la quitina. El desarrollo de películas biodegradables basadas en fuentes renovables obtenidas de la naturaleza es la mejor forma de reducir el plástico a base de petróleo y la cantidad presente en el medio ambiente en forma de desecho. Un material es biodegradable cuando se descompone bajo la influencia de microbios en condiciones adecuadas y lo utilizan como una fuente de alimento (Ashter 2016). Según Ashter (2016), el bioplástico es completamente biodegradable, y, además, puede fabricarse a partir de una gran variedad de fuentes renovables como el quitosano.

La quitina es un biopolímero abundante en la naturaleza después de la celulosa (Trung *et al.* 2020). Se encuentra en la mayoría de las especies marinas, como camarones, cangrejos, calamares y langostas (Nwe *et al.* 2014). En los camarones, los desechos representan entre el 45 - 48% de su peso total, compuesto básicamente por la cabeza y el exoesqueleto (Hernández *et al.* 2018). El quitosano es un producto desacetilado de la quitina, donde se ha producido en laboratorios a partir de conchas de camarones. El resultado es una excelente opción para ser

utilizado en la creación de bioplásticos; de éste podrían obtenerse materiales multifuncionales porque tiene diferentes características como biodegradabilidad, biocompatibilidad, no toxicidad (Bernabé *et al.* 2020). Existen muchas investigaciones acerca de aplicaciones del quitosano como biopelícula (Jiang *et al.* 2016; Sabbah *et al.* 2019; Bernabé *et al.* 2020). El desarrollo de una película de quitosano tiene diferentes ventajas, dado que este material consta con una permeabilidad selectiva a los gases, excelentes propiedades mecánicas y evita el deterioro de los alimentos (Sun *et al.* 2017). Por lo tanto, el quitosano es una excelente opción para la creación de un bioplástico, biopelículas o recubrimiento de alimentos que tengan una descomposición corta en el tiempo. Además, el uso de biomateriales ayuda a disminuir el uso y la producción de plástico a base de petróleo y los desechos que este genera. La siguiente investigación es una recopilación de información científica sobre el desarrollo y aplicación de biopelículas de quitosano óptimas para empaques de alimentos. Los objetivos de esta investigación fueron:

- Elaborar una revisión bibliográfica para el desarrollo óptimo de un empaque de biopelículas a base de quitosano como empaque de alimentos.
- Discutir sobre las propiedades intrínsecas y extrínsecas del quitosano y su efecto sobre la fabricación de biopelículas.
- Plantear las aplicaciones y tendencias futuras de las biopelículas a base de quitosano.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Criterios de búsqueda

Se realizó un contenido de los temas principales que se debieron abordar en esta revisión de literatura. Se seleccionaron artículos relacionados con palabras clave como **biopelículas**, **quitosano**, **biodegradable**, se realizó una revisión de literatura donde principalmente se utilizó base de datos confiables para la búsqueda de información como: “Science-Direct”, “Springer”, “ResearchGate” y “SciELO”. Con el fin de obtener información real, con base científica para la redacción de esta revisión de literatura.

Criterios de selección de artículos

Se tomó en cuenta diferentes factores para la búsqueda de información como el año de publicación, el cual, mayormente se consideró que tuvieran un máximo de 10 años de publicado, base de dato fuente, las cuales en su mayoría fueron científicas para que la revisión de literatura tenga valor científico y relación con el tema en cuestión, los cuales se usó palabras claves relacionado con biopelículas a base de quitosano. El total de revisión literaria fue de 87 citas de diferentes fuentes, 81 de estas referencias fueron obtenidas de revistas científicas distribuidas entre inglés y español, cuatro páginas web y dos libros.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Generalidades del quitosano

Definición del quitosano. El quitosano es un biopolímero que se obtiene de la quitina, esta se encuentra comúnmente en las especies marinas como el camarón, cangrejos, calamares y langostas (Nwe *et al.* 2011). La quitina es una molécula altamente hidrofóbica e insoluble en agua y solventes orgánicos (Knidri *et al.* 2018). Sin embargo, el quitosano se produce en laboratorios, siendo considerado como el derivado N-desacetilado y no tóxico de la quitina (Nwe *et al.* 2011). El quitosano está formado por unidades repetidas de D-glucosamina y unidades N-acetil-D-glucosamina, unidas por enlaces glucosídicos β -1,4 (Younes y Rinaudo 2015) (Figura 1).

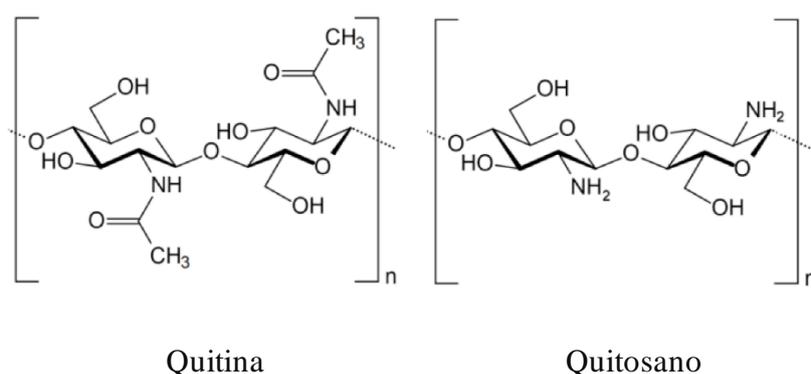


Figura 1. Estructura química de la quitina y el quitosano.
Fuente: (Ravi 2000).

Para la producción de quitosano, se debe desmineralizar y desproteínizar la quitina; esto último se realiza porque algunas personas son alérgicas a los mariscos, siendo el componente proteico, el principal culpable. Cuando se lleva a cabo la desmineralización se remueve principalmente el carbonato de calcio metabolizando, este compuesto a sales de calcio solubles en agua además de la liberación del carbono en forma de dióxido de carbono (CO₂), el cual constituye el principal compuesto inorgánico del exoesqueleto de los crustáceos, y este procedimiento se logra por medio de tratamientos con ácidos, porejemplo, usando HCl (ácido clorhídrico), HNO₃ (ácido nítrico) o H₂SO₄ (ácido sulfúrico). El producto con mayor preferencia es HCl diluido a diferentes concentraciones hasta (10% p/v) a temperatura ambiente. Posterior a esto se filtra, luego se lava hasta alcanzar la neutralización del pH con agua destilada, para finalizar se debe dejar secar (Younes y Rinaudo 2015). Por otro lado, la remoción de la proteína de la quitina se ha llevado a cabo mediante fermentación con *Bacillus subtilis* (Sini *et al.* 2007) esto debido a las propiedades proteolíticas de esta bacteria y sus metabolitos secundarios. Otra manera para realizar la desproteínización es con una amplia gama de productos químicos incluyendo NaOH (hidróxido de sodio), Na₂CO₃ (carbonato de sodio), KOH (hidróxido de potasio), K₂CO₃ (carbonato de potasio), CaOH (hidróxido de calcio), Na₂SO₃ (sulfito de sodio), Na₃PO₄ (fosfato trisódico), entre otros (Younes y Rinaudo 2015). Estas soluciones alcalinas eliminan las proteínas por sus características básicas, posteriormente la mezcla se filtra y se lava con agua desionizada para eliminar el exceso de NaOH o alguna de las otras bases usadas y finalmente se deja secar (Knidri *et al.* 2018).

El producto de mayor preferencia para realizar la remoción de proteínas es el NaOH, el cual se aplica en concentraciones de entre 0.125 - 0.5M, con una variación de temperatura hasta 160 °C, y duración del tratamiento desde minutos hasta días. Este procedimiento da como resultado la desacetilación parcial (Younes y Rinaudo 2015). Posteriormente, se realiza la desacetilación de la quitina, donde se provoca la degradación de la quitina a través de la aplicación de soluciones alcalinas con el fin de eliminar este grupo menos reactivo denominado acetilo, obteniendo de este modo el producto final, llamado quitosano (Figura 2).

El proceso de desacetilación consiste en hidrolizar la quitina en una solución al 40% de hidróxido de sodio (NaOH) a 120 °C de 1 - 3 horas, dando como resultado un quitosano a 70% de desacetilación. De este modo, el porcentaje de desacetilación es influenciado en mayor medida por el porcentaje de hidróxido de sodio contenido en la solución hidrolizadora. Siendo el quitosano soluble en medios ácidos acuosos como el ácido acético, ácido fórmico, entre otros ácidos (Ravi 2000). Sin embargo, al usar una concentración de 18% de NaOH a 86 °C, el grado de desacetilación (DDA por sus siglas en inglés) es <10%, aún después de 6 h de reacción. Por el contrario, al usar altas concentraciones de NaOH (50 - 60%) y altas temperaturas (130 - 150 °C), la desacetilación ocurre más rápido aproximadamente en 2 h. Es decir, bajo las condiciones más drásticas el peso molecular del quitosano disminuye debido a su pérdida de grupos acetilo. Como se ha explicado, la temperatura y concentración de NaOH influyen en el DDA del quitosano; el DDA aumenta al incrementar la temperatura o la concentración de NaOH (Muxika *et al.* 2017).

Aunque el quitosano puro tiene baja solubilidad en medios acuosos, como se mencionó anteriormente, en medios ácidos acuosos los grupos aminos se convierten en cationes (positivo) de amonio, permitiéndole actuar con diversos tipos de moléculas, aumentando la hidrofilia y mejorando su solubilidad en agua (Salama *et al.* 2020), esto último sucede cuando el DDA del quitosano alcanza 50% o más.

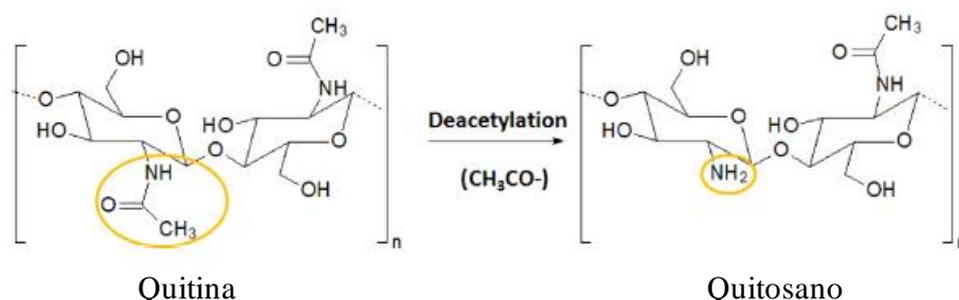


Figura 2. Proceso de desacetilación de la quitina.

Fuente: (Muxika *et al.* 2017).

Uso de quitosano como material de empaque o recubrimiento de alimentos. La industria alimentaria emplea empaques y otros tipos de recubrimientos con el fin de proteger al alimento de su posible exposición a las condiciones ambientales y microorganismos que están presentes en el medio ambiente. El uso de empaques y recubrimientos a base de quitosano ayudan a la preservación de la calidad de los alimentos extendiendo su vida de anaquel, debido a las propiedades antimicrobianas intrínsecas del biopolímero. Aunque el quitosano solo es soluble en soluciones ácidas, es un material que tiene buena afinidad con el agua debido a los grupos polares en su molécula, como los grupos hidróxido (OH) y amina (NH₂). Debido a esta afinidad, cuando se suspende una película de quitosano en agua se alcanza el hinchamiento máximo de

la película (mediante la absorción del líquido), que a su vez se vuelve gelatinosa (Pavinatto *et al.* 2019). El hinchamiento es una limitante en el desarrollo de empaques a base de quitosano, principalmente ocurre por alimentos que presentan un alto contenido de humedad o alta actividad de agua, lo cual impacta en la firmeza de la película. Es por ello, que su aplicación es limitada para el recubrimiento de alimentos; como por ejemplo, cuando se emplea para el empaque de frutas y vegetales, el quitosano debe modificarse a nivel químico a fin de reducir su solubilidad y lograr su adherencia a la superficie (Pavinatto *et al.* 2019). La alta capacidad de hinchamiento, la baja solubilidad en agua y las propiedades mecánicas pueden ser contrarrestadas mediante el uso de compuestos químicos como lo son glicerol, antocianinas, óxido de zinc (ZnO), hidróxido de sodio (NaOH), aceites esenciales y propóleo. Para procesar biopelículas existen cuatro técnicas que tienen amplia utilización en alimentos, las cuales se describen a continuación:

Fundición. Es la técnica más usada para el procesamiento de películas, esta consiste en disolver la sustancia en este caso el quitosano en una solución ácida como, por ejemplo, una solución de ácido acético. Después se adicionan materiales funcionales que mejoran las propiedades del quitosano (glicerol y antocianinas). Seguidamente, se agita para la obtención de una solución homogénea; para la eliminación de partícula insolubles y burbujas, se filtra o centrifuga la mezcla y, se vierte en un fondo nivelado (platos Petri, placas de vidrio, placas de aluminio, entre otros). Finalmente, se seca la mezcla a temperatura ambiente o en un horno y no queda más que despegar la biopelícula (Wang *et al.* 2018).

Revestimiento o recubrimiento. Usada frecuentemente con ayuda de otras herramientas, como un pincel, espátula o rociado. Para las herramientas de pincel y espátula existen dos tipos de recubrimiento: el recubrimiento directo, en la superficie de los alimentos, donde se limita el crecimiento de microorganismos. Por otro lado, el recubrimiento indirecto, en la superficie de empaques, reduciendo la permeabilidad al vapor de agua del empaque, en este caso se crea una doble capa. Para lograr un revestimiento de rociado se utiliza un pulverizador de aire comprimido o un pulverizador de mochila que asperja la solución sobre el producto. Este método puede ser combinado con otro tratamiento de preservación de alimentos como por ejemplo irradiación gamma y envasado en atmósfera modificada, causando de este modo una disminución en la población microbiana y manteniendo la calidad de los alimentos. Una ventaja de los revestimientos sobre la fundición es que reduce más la oxidación lipídica de los alimentos (Wang *et al.* 2018) por disminuir en mayor medida el intercambio de oxígeno.

Inmersión. Es otra técnica para la creación de biopolímeros. Dicha técnica crea películas uniformes sobre los alimentos, ya que consiste en sumergir los alimentos en la solución de quitosano. Posterior a la extracción de los alimentos de la solución se forma una capa uniforme sobre estos, la cual los protegerá del ambiente externo a través de un aislamiento. Estas películas son capaces de aliviar el daño por frío, disminuir la variación de color, mantener buena calidad y retrasar la descomposición, lo que ayuda a prolongar significativamente la vida útil. Una de las ventajas de esta técnica es que no se necesitan grandes equipos para llevarlo a cabo, siendo de alta eficacia para la conservación de los alimentos (Wang *et al.* 2018).

Extrusión. Provee características importantes, debido a que da como resultado una película con buenas propiedades mecánicas y actividad antimicrobiana. Esta, se realiza mediante la extrusión de gránulos de quitosano o mayormente con mezcla de otros materiales, como es el almidón, los cuales se hacen pasar a través de un doble tornillo, formando una matriz plana. Cuando se aumenta el quitosano en esta técnica, disminuye la resistencia a la ruptura y el alargamiento, pero se mejora la permeabilidad de agua (Wang *et al.* 2018).

Propiedades antimicrobianas del quitosano. El quitosano ofrece capacidad limitada para eliminar o inhibir el crecimiento de microorganismos, es por esto que se han realizado diversas investigaciones, principalmente sobre modificaciones químicas, con el objetivo de mejorar su actividad antimicrobiana (Pires *et al.* 2013). El quitosano consta de cargas catiónicas (positivas) que son las responsables de unirlo a los componentes aniónicos (negativos) en las membranas bacterianas, como los grupos fosforilo de los componentes fosfolípidos, proteína, aminoácidos y varios lipopolisacáridos, todo esto a través de atracciones electrostáticas seguidas de la ruptura del control de la permeabilidad de la membrana celular del microorganismo que se desea inhibir. Es por esto que, el quitosano solo es capaz de inhibir el crecimiento microbiano en medios ácidos, ya que el polímero tiene cargas positivas (Salama y Hesemann 2017). Asimismo, las propiedades antimicrobianas del quitosano pueden aumentar cuando se le añade grupos funcionales tales como alquilamonio catiónico, funciones de carboxilato aniónico, grupos que contienen tiol, así también con grupos alquilo, fenilo y bencilo (Sahariah y Masson 2017).

La eficacia antimicrobiana del quitosano está relacionada con el peso molecular. Un quitosano con peso molecular >60kDa puede inhibir el crecimiento de varios grupos de bacterias Gram negativas y Gram positivas, además, se ha encontrado actividad antifúngica en quitosano con concentración mínima inhibitoria (MIC por sus siglas en inglés) entre 10 - 2500 µg/mL (Sahariah y Masson 2017). La actividad antimicrobiana aumenta al incrementar el peso molecular para Gram positivas (*S. aureus*), debido a que el quitosano en la superficie de la célula puede formar una membrana polimérica, que inhibe la entrada de nutrientes a la célula. Sin embargo, para las Gram negativas (*E. coli*), la actividad antimicrobiana aumenta cuando se disminuye el peso molecular debido a que el quitosano de menor peso molecular ingresa a la célula a través de penetración, por la capa lipídica (negativa) de las Gram negativa (Dutta *et al.* 2009).

Cuando el quitosano presenta un mayor DDA o un mayor número de grupos amino libres mejora la actividad antimicrobiana frente a diferentes cepas de hongos, bacterias Gram positivas y Gram negativas. Es decir, el DDA influye en la actividad antimicrobiana, asimismo se espera que un quitosano con mayor DDA, con más cargas positivas, tenga actividad antimicrobiana más fuerte mayormente en la inhibición de *E. coli* y *S. aureus* (Jung *et al.* 2010). Según Dutta *et al.* (2009), la propiedad antimicrobiana del quitosano se ve potenciada con una mayor densidad de carga y solubilidad que se da a través de una desacetilación.

Al desacetilar una molécula de quitosano se aumentan las cargas positivas de ésta, lo que influye en una relación directa en la disminución del pH. Al momento de exponer los microorganismos a un medio ácido creado por el quitosano desacetilado se le somete a un estrés en el medio afectando directamente su replicación (Dutta *et al.* 2009) y por ende una disminución en el contenido de microorganismos. Por lo tanto, con mayor desacetilación, mayor es el control generado por el quitosano.

Aplicaciones antimicrobianas. En investigaciones anteriores, se ha utilizado quitosano con un grado de desacetilación de 75%, para la evaluación de actividad antifúngica de las películas. Esto se llevó a cabo por contacto directo con muestras de pan, las cuales fueron selladas con las diferentes muestras, utilizando en este caso polietileno de baja densidad (LDPE, por sus siglas en inglés). Todas las muestras fueron envasadas y almacenadas a 25 °C y 59% de humedad relativa. En la muestra con LDPE se presentó un crecimiento de hongos después de tres días de almacenamiento. El crecimiento de hongos en las películas que contenían quitosano puro se detectó el crecimiento de hongos hasta el día cinco. Sin embargo, al agregar extracto de semilla

de uva (0.5, 1 y 1.5%) en las muestras de quitosano (1.5% v/v) la actividad antifúngica aumentó. El crecimiento de hongos se observó hasta el día ocho cuando a la película de quitosano se le agregó una concentración de 0.5% v/v de extracto de semilla de uva, no obstante, para la muestra empacada con quitosano y una concentración de 1% v/v de extracto de semilla de uva los hongos se presentaron al día nueve. Finalmente, las muestras con 1.5% de extracto de semilla de uva exhibieron presencia de hongos al día 10 (Tan *et al.* 2015). Este efecto fue debido a los grupos NH₂, C-O y compuestos aromáticos/fenólicos. El grupo NH₂ se libera durante la interacción con los hongos (Jha 2020). Además de antifúngica, las biopelículas de quitosano mostraron propiedades antimicrobianas contra *E. coli* y *P. auruginosa* cuando el contenido de extracto de semilla de uva alcanzó en la solución de quitosano más de 0.5 mL/g y 1 mL/g, respectivamente. Debido a que no se detectaron células viables dentro de las primeras 24 h se estima que la eficacia en la inhibición antimicrobiana podría llegar hasta 120 h. Esta eficacia se deriva gracias a los polifenoles de las antocianinas como flavan-3-ols y flavonoles que son capaces de suprimir algunos factores de virulencia microbiana como reducción de la motilidad del enjambre bacteriano (Wang *et al.* 2019).

Propiedades intrínsecas y extrínsecas del quitosano para la formación de biopelículas

Propiedades intrínsecas

Peso molecular. Esta propiedad influye en la formación de la película debido a que a un mayor peso molecular del quitosano da como resultado un aumento en la resistencia a la tracción y un alargamiento a la ruptura más bajo. Además de aumentar la absorción de humedad de las películas (Liu *et al.* 2012). La resistencia a la tracción se da cuando la película ejerce firmeza mientras se le somete a estiramiento ejerciendo fuerza en direcciones contraria hasta el punto antes que esta se rompe. El alargamiento se define como el porcentaje de estiramiento que sufre la película comparando el antes y después de ejercer la presión de estiramiento. Estos resultados son debido a una red de entrelazamiento de moléculas que se forma durante la creación de la película de quitosano, la cual aumenta a medida que incrementa el peso molecular (Nunthanid *et al.* 2001). Otra característica afectada por el peso molecular es la permeabilidad al vapor de agua, esta propiedad aumenta con el aumento del peso molecular. Es de gran importancia debido a que el agua o humedad del ambiente provoca deterioro en los alimentos (Liu *et al.* 2014). Es por esto por lo que para disminuir la permeabilidad de la biopelícula se agregan agentes plastificantes.

Solubilidad. El quitosano tiene baja solubilidad en agua, debido a esto para su solubilización se necesita un medio ácido-acuoso, por debajo de un pH igual a 6.5, lo que da paso a la elaboración de la biopelícula (Roy *et al.* 2017). La solubilidad del quitosano sucede por la protonación del grupo funcional -NH₂ (grupo amino) en la posición C-2 de las unidades repetidas de D-glucosamina (Weinhold *et al.* 2009). Es decir, por la unión desordenada de iones de hidrógeno entre las cadenas de polímero adyacentes, lo que da como resultado una disposición de empaquetamiento suelta y facilita la penetración e hidratación del agua, esta característica no depende del peso molecular, sin embargo, si está relacionado con el DDA (Sahariah y Masson 2017).

Grado de desacetilación (DDA). El DDA determina algunas características del quitosano, dentro de las cuales se puede mencionar la solubilidad y la biodegradabilidad entre otras. En consecuencia, mientras disminuye el DDA, disminuye la solubilidad (Wang *et al.* 2008) debido a la cantidad de grupos NH₃ que tiene la molécula. Generalmente las películas con baja

solubilidad se usan para envasado de alimento y las que presentan alta solubilidad para recubrimientos donde la película y el alimento se consumen juntos (Gomaa *et al.* 2018). Asimismo, otra propiedad que depende del DDA es la cristalinidad, mientras aumenta el DDA mayor es el grado de cristalinidad, esto es debido a que al aumentar el DDA se pierden ramificaciones de acetilo lo que provoca mayor flexibilidad (Yuan *et al.* 2011). A mayor cristalinidad en una película, menor permeabilidad al vapor de agua (WVP por sus siglas en inglés). Sin embargo, Van *et al.* (2015) expusieron que la permeabilidad aumenta cuando el DDA aumenta, esto sucede cuando la evaluación se realiza variando el pH del solvente y el tipo de ácido (fórmico, láctico, acético y propiónico), los cuales influyen indirectamente en la permeabilidad de la biopelícula. Por otro lado, la resistencia a la tracción también es una característica mecánica que se ve afectada por el DDA, mientras aumenta el DDA los valores aumentan ligeramente. Sin embargo, los valores del alargamiento a la ruptura se reducen, debido a un aumento en la rigidez de las cadenas de quitosano, ya que al perder más acetilos, pierde las ramificaciones lo que resulta en una película más firme como lo estableció Zhuang *et al.* (2019), y se resume en el Cuadro 1. En cambio, los ángulos de contacto de la película de quitosano disminuyen al aumentar el DDA, lo que indica mayor hidrofilia para la película final (Yuan *et al.* 2011).

Concentración de quitosano (relación sólido-líquido). El efecto de la concentración de quitosano sobre las propiedades fisicoquímicas y mecánicas de las biopelículas ha sido estudiado por diferentes autores, Sin embargo, no existe un consenso sobre las cantidades óptimas para la elaboración. En algunos estudios se estableció que para la preparación de una solución de quitosano se pueden emplear diferentes proporciones de los ingredientes, por ejemplo, se puede agregar 2% (w/v) de quitosano en polvo en una solución ácido-acuosa de ácido acético al 1% (v/v), agitándolo durante 4 h a 800 rpm (Sun *et al.* 2017). Por otro lado, Wu *et al.* (2019) sugiere agregar 1.5% (w/v) de quitosano, dispersándolo en una solución de 0.5% (v/v) de ácido acético, agitándolo con un agitador magnético. Sin embargo, también se puede añadir 1% (w/v) en agua acidificada con ácido acético al 1% (v/v), para la emulsión se utiliza un procesador ultrasónico UP 400S (Hielscher, Alemania) acoplado a un sonotrodo S7 (punta de titanio, diámetro 7mm y longitud 100mm), tomando en cuenta que la temperatura no subiera de 40°C (Fernández-Pan *et al.* 2015). Finalmente, Liu *et al.* (2012) disolvió 2% (w/v) de quitosano en una solución de ácido acético al 5% (v/v), agitar con un agitador magnético. A medida aumenta la concentración de quitosano en una biopelícula no se observa un cambio en las propiedades mecánicas de las biopelículas (Zhuang *et al.* 2019), como se observa en el Cuadro 1. Por otro lado, la solubilidad de la película aumenta al incrementar la concentración de quitosano, esto debido a que hay mayor hidrofilia del quitosano por su naturaleza hidrofílica (Gomaa *et al.* 2018). La permeabilidad al vapor de agua aumenta al incrementar la concentración de quitosano, esto influye en una biopelícula áspera y gruesa, por lo que provoca la creación de más agujeros y de mayor tamaño (Ngo *et al.* 2020).

Cuadro 1. Propiedades intrínsecas del quitosano con diferentes grados de desacetilación (DDA) y concentraciones. Fuente: Zhuang *et al.* 2019.

Muestra	Permeabilidad al vapor de agua ($\frac{g \cdot mm}{m^2 \cdot d \cdot Kpa}$)	Resistencia a la tracción (MPa)	Alargamiento a la ruptura (%)	Solubilidad (%)
1-0.9	115.43 ± 2.55 ^{Cb}	28.86 ± 3.41 ^{Aa}	54.31 ± 6.14 ^{Ba}	8.21 ± 0.52 ^{Aa}
1-1.2	104.14 ± 2.00 ^{Ca}	32.44 ± 5.87 ^{Aa}	51.00 ± 8.24 ^{Ba}	11.11 ± 0.06 ^{Ac}
1-1.5	151.81 ± 3.46 ^{Bc}	31.62 ± 2.80 ^A	68.83 ± 5.13 ^{Bb}	10.13 ± 1.19 ^{Ab}
2-0.9	62.19 ± 0.35 ^{Aa}	29.70 ± 5.88 ^A	44.54 ± 6.76 ^{Aa}	13.16 ± 1.65 ^{Cb}
2-1.2	94.41 ± 1.96 ^{Bb}	33.35 ± 5.37 ^{AB}	49.83 ± 8.38 ^{Ba}	12.10 ± 0.32 ^{Ba}
2-1.5	95.13 ± 1.84 ^{Ab}	31.89 ± 2.88 ^{Aa}	49.31 ± 3.98 ^{Aa}	13.86 ± 0.38 ^{Bb}
3-0.9	63.19 ± 1.00 ^{Aa}	32.96 ± 6.77 ^{Aa}	41.66 ± 8.69 ^{Aa}	10.89 ± 0.16 ^{Ba}
3-1.2	77.22 ± 1.00 ^{Ab}	37.79 ± 4.08 ^{Ba}	38.66 ± 4.38 ^{Aa}	12.36 ± 0.73 ^{Bb}
3-1.5	95.51 ± 1.77 ^{Ac}	36.71 ± 4.21 ^{Ba}	43.54 ± 4.50 ^{Aa}	15.99 ± 0.07 ^{Cc}

1= Quitosano con DDA de 81%, 2= Quitosano con DDA de 88.1%, 3 =Quitosano con DDA de 95.2%.

0.9= 0.9% de quitosano, 1.2= 1.2% de quitosano 1.5= 1.5% de quitosano.

Diferentes letras mayúsculas en la misma concentración indicaron diferencias en el nivel $p \leq 0.05$ fueron significativas, diferentes letras minúsculas en el mismo grado de desacetilación (DDA) indicaron diferencias en el nivel $p \leq 0.05$ fueron significativas.

Propiedades extrínsecas

Tipo de solventes y pH. Para la fabricación de recubrimientos o biopelículas, el quitosano se disuelve en solventes adecuados, mayormente en agua ligeramente acidificada (haciendo uso de ácido fórmico, ácido láctico, ácido acético y ácido propiónico), por debajo de un pH de 6.5. Asimismo, se puede utilizar algún tipo de plastificante, para incrementar la flexibilidad de la biopelícula. La formación de biopelículas se produce debido a la formación de cadenas e interacciones formadas, como por ejemplo la unión de hidrógeno (puentes de hidrógeno). La cual es muy importante para la formación de estructuras de polisacáridos, las interacciones de las cadenas dan como resultado una película frágil, por esta razón son utilizados agentes plastificantes para mejorar las propiedades mecánicas. Algunos ejemplos de estos plastificantes son algunos polioles (glicerol, sorbitol y polietilenglicol), azúcares (glucosa y sacarosa) y lípidos (Myong *et al.* 2006), los cuales impactan sobre el aumento de la flexibilidad.

Temperatura. El quitosano tiene un alto punto de fusión, por esto el medio-temperatura influye en la solubilidad del quitosano para la posible formación de la biopelícula. Las soluciones ácidas pueden destruir el enlace intra-hidrógeno del quitosano y de este modo reducir la temperatura de fusión de la molécula (Zhang *et al.* 2019). Cuando la solución de quitosano tiene presencia de ácido acético la temperatura de fusión puede llegar a ser 57.8 °C (Bonilla *et al.* 2013). Este fenómeno se observa a medida que aumenta la cantidad de ácido en la solución por encima del 20% en peso. Además, debido al cizallamiento y al calentamiento al que se somete la solución, se destruyen los cristales del quitosano, porque se rompen los enlaces de hidrógenos inter e intramoleculares (Zhang *et al.* 2019).

Modificaciones químicas. El quitosano posee grupos funcionales reactivos y es de naturaleza polisacárida, lo que le da una ventaja al momento de realizar modificaciones químicas. En los grupos amino libres en unidades desacetiladas se pueden provocar reacciones químicas como alquilación, cuaternización, reacciones con aldehídos y cetonas, etc. En los grupos hidroxilos en los carbonos C3 y C6 en unidades acetiladas o desacetiladas se llevan a reacciones como N-ftaloilo, enlaces de hidrógeno con átomos polares, reticulación (Knidri *et al.* 2018).

La cuaternización del quitosano se logra mediante la adición de la funcionalidad de amonio cuaternario, esta adición ayuda a mejorar las actividades antimicrobianas y antifúngicas. La sustitución de N se realiza girando el grupo amino (-NH₂) en sal de amonio cuaternario (Cheah *et al.* 2019). La alquilación se lleva a cabo mediante una reacción amino reductora realizada por medio de intermedios de base de Schiff (grupo funcional que posee doble enlace carbono-nitrógeno, con el átomo de nitrógeno conectado a un grupo alquilo, pero sin hidrógeno) entre los grupos amino del quitosano y aldehídos y cetonas, además de la reducción de los intermedios de base de Schiff (iminas) con borohidruro de sodio o cianoborohidruro de sodio. La alquilación le proporciona mayor solubilidad en medio ácidos al quitosano (Madera-Santana *et al.* 2018). El N-ftaloil quitosano se usa ampliamente para las reacciones de modificación controlada del quitosano, luego de esta reacción se puede eliminar este grupo introduciendo un grupo atractor de electrones (-NO₂, -Cl) en el anillo aromático ftaloilo, desprotegiendo el grupo amino, esta adición aumenta la actividad antifúngica contra *Rhizoctonia cerealis*, *Fusarium oxysporum* y *Botrytis cinerea*. Además, se mejoró la actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *E. coli* (Hu *et al.* 2016).

Adición de otros ingredientes

Películas de quitosano con glicerol. El glicerol presenta biocompatibilidad con el quitosano y, por lo tanto, puede usarse para hacer recubrimientos y películas para protección de alimentos y empaques comestibles. En comparación con el quitosano puro, las películas a las que se le adiciona glicerol (poliol hidrofóbico) actuando como agente plastificante, tienden a ser más hidrofóbicas. El glicerol, por sus tres grupos hidroxilo (OH) (Figura 3), irrumpe en la interacción de las moléculas de quitosano específicamente entre los puentes creados por dos grupos amino (NH₂) del quitosano los cuales crean puentes de hidrógeno entre sí. Esta interacción aumenta la característica amorfa del quitosano proveyendo flexibilidad, hidrofobicidad y traslucidez a la biopelícula (Chen *et al.* 2018).

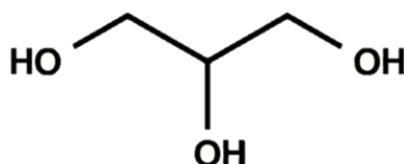


Figura 3. Estructura química del glicerol.

Fuente: (Pavinatto *et al.* 2019).

Al agregar glicerol las moléculas de éste interactúan y se unen a las moléculas de quitosano, dejando expuesto a los grupos hidrofóbicos C-H, lo cual dificulta la formación de redes de enlace de hidrógeno intermoleculares (Monte *et al.* 2018). El ángulo de contacto de las películas

con glicerol es cercano a 120° aun manteniéndose durante 5 segundos, sin embargo, una película de quitosano puro consta de un ángulo de contacto de alrededor de 50° , lo que indica el aumento en la hidrofobia al agregar este compuesto (Pavinatto *et al.* 2019). Al utilizar una solución acuosa para la formación de biopelículas a base de quitosano, el agua desempeña un papel importante en el proceso de plastificación primaria de estas películas debido a que sus moléculas penetran en las moléculas del quitosano aumentando las distancias entre las cadenas. Este proceso provoca una destrucción de los enlaces de hidrógeno. Sin embargo, las moléculas de agua y los grupos N-H o O-H del quitosano forman un nuevo enlace de hidrógeno (Ma *et al.* 2019). Esto da lugar a un proceso que permite el segundo paso del proceso de plastificación, la distancia que existe entre las cadenas del quitosano facilita la penetración de las moléculas del glicerol, donde se forman enlaces de hidrógeno entre las moléculas del polímero y el plastificante. Mediante el aumento de la distancia al introducir el plastificante, las macromoléculas pueden deslizarse mejor provocando una molécula más flexible por la extensión de las interacciones (Figura 4) (Pavinatto *et al.* 2019).

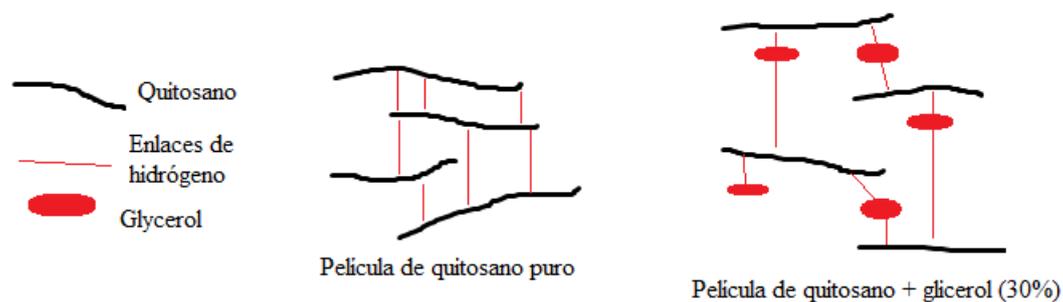


Figura 4. Ilustración de películas con quitosano puro y películas plastificadas por formación de moléculas de glicerol.

Fuente: (Pavinatto *et al.* 2019).

Las características físicas del quitosano son afectadas por el glicerol cuando existe un sobrante. Según Jiang *et al.* (2016), cuando se le agrega glicerol a la película de quitosano la opacidad disminuye debido a la desorganización de las moléculas al crearse una molécula amorfa. Sin embargo, cuando se aumenta de 30 - 40% de glicerol aumenta la opacidad debido a que hay exceso de glicerol, dando como resultado la opacidad de la película y la disminución en la resistencia a la tracción. La disminución en la resistencia de tracción ocurre debido a la adición de plastificante, por ejemplo, glicerol al quitosano, que se encarga de disminuir los enlaces de hidrógeno. En este caso, el grupo hidroxilo del glicerol irrumpe entre los enlaces de hidrógeno, lo cual mejora la distancia intermolecular en la biopelícula, lo que da como resultado mayor flexibilidad en la película y una reducción la resistencia a la tracción disminuye (Sumarni *et al.* 2017).

Película de quitosano con sorbitol. La adición de polioles mejora las propiedades físicas de las películas debido a la reducción de las fuerzas de fricción entre las cadenas de los polímeros. El glicerol es el más usado por su eficiencia de plastificación y la disponibilidad en el mercado, ayudando a las propiedades mecánicas de la biopelícula (Liu *et al.* 2013). Sin embargo, el sorbitol mejora propiedades fisicoquímicas y estabilidad térmica de las películas de quitosano, además de que proporciona una estructura más ordenada a la matriz del quitosano (Ma *et al.* 2018). Agregar sorbitol a una película de quitosano afecta sus propiedades mecánicas (Figura 5). Al igual que el glicerol, el sorbitol disminuye la resistencia a la tracción y aumenta el

alargamiento a la ruptura. Este fenómeno ocurre debido a que el sorbitol, interfiere con las cadenas de quitosano, es decir, rompe los enlaces de hidrógeno entre las moléculas de quitosano, lo que facilita la movilidad entre diferentes moléculas mejorando la flexibilidad (Liu *et al.* 2014). Se ha reportado que el porcentaje de elongación aumenta de 10.8 - 42.4% siendo más flexibles si se compara con una película de quitosano puro (Martínez-Camacho *et al.* 2010). Estas películas aumentan la cristalinidad debido a la movilidad de las cadenas al interrumpir los enlaces de hidrógeno, sin embargo, cuando se incrementa la concentración de sorbitol a 50% esta característica se ve obstaculizada por el alto contenido de sorbitol en la película (Ma *et al.* 2018).

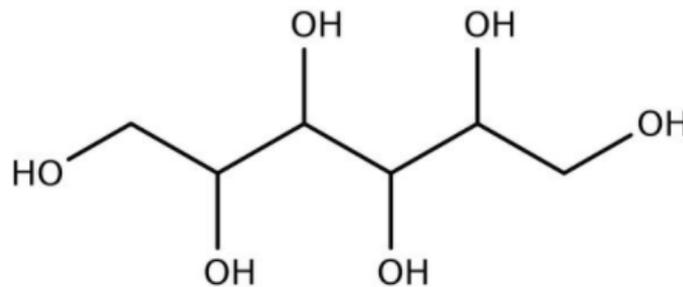


Figura 5. Estructura química del sorbitol.
Fuente: (Dai *et al.* 2020).

Comparado con las películas de glicerol, el sorbitol posee más regiones polares debido a que la cadena de esta estructura es más larga. La movilidad de los ingredientes que se agreguen a una película de quitosano que tenga glicerol es mayor, lo que facilita la formación de enlaces de hidrógenos. De este mismo modo, las películas con glicerol podrían contener más humedad que una de sorbitol, debido que la afinidad del glicerol por el agua es mayor que la del sorbitol. Dicho fenómeno se debe a la cantidad de carbonos que posee la molécula, además que la película a la que se le agrega sorbitol consta con una estructura más compacta debido a su tamaño lo que reduce su interacción con el agua (Stachowiak *et al.* 2020).

Película de quitosano con propóleo. Para la extracción de propóleo, según el método de (Siripatrawan *et al.* 2013), se debe utilizar etanol al 30% con una temperatura de 50 °C para obtener la mayor extracción de compuestos fenólicos. El quitosano con un grado de desacetilación de 95% al agregarle propóleo en un porcentaje de 0 - 20% aumenta la resistencia a la tracción. Este resultado es debido a las interacciones que existen entre los componentes del propóleo (ácidos fenólicos y sus ésteres), lo cuales conservan sus características polares con los grupos hidrofílicos presentes en el quitosano. Estas interacciones se adhieren fuertemente cadena a cadena, lo que resulta en una resistencia más efectiva a la tensión mecánica (Siripatrawan y Vitchayakitti 2016). Por otro lado, el alargamiento a la ruptura también aumenta al incrementar las concentraciones de propóleo de 0 - 10%. Sin embargo, este efecto no es lineal, ya que disminuye al añadirle propóleo al 20%, esta disminución se debe a la posible formación de cristales por el exceso de propóleo en la matriz del quitosano, lo que resulta en una reducción de flexibilidad de la película (Pastor *et al.* 2010). La permeabilidad al vapor de agua se reduce al agregar propóleo, esto debido a que los compuestos polifenólicos encajan en la matriz del quitosano y establecen interacciones de tipo covalente con grupos reactivos de quitosano, es decir, estos nuevos enlaces limitan la disponibilidad de los enlaces de hidrógeno resultando en una menor afinidad de las películas de quitosano hacia el agua (Wu *et al.* 2013).

El propóleo tiene efecto en la actividad antibacteriana de las películas sobre *E. coli*, *L. monocytogenes* y *S. enteritidis*, generalmente cuando su concentración es de 10% (Correa-Pacheco *et al.* 2019).

Película de quitosano con óxido de zinc (ZnO). Añadir nanopartículas de ZnO a las películas de quitosano provocan un leve aumento en el grosor de estas, pero una disminución en el contenido de agua, ya que al añadir las nanopartículas de ZnO se crea una interacción intermolecular fuerte entre ambas matrices. Es por esto que se limita el movimiento del quitosano y, por lo tanto, promueve rigidez (Malini *et al.* 2015). Dicho de otro modo, las nanopartículas de ZnO reducen la absorción de agua debido a que son capaces de formar una red tridimensional en la matriz de quitosano. El ZnO actúa como reticulante entre las cadenas de quitosano, lo cual reduce la movilidad e interacción de las cadenas intramoleculares (Naamani *et al.* 2016).

Las películas con quitosano con adición de nanopartículas de ZnO tienen una gran ventaja antimicrobiana y según Vicenti *et al.* (2010), incentivando pérdida de viabilidad de los microorganismos de la especie *Staphylococcus aureus*. Las nanopartículas se internalizan en las bacterias provocando una inhibición en el metabolismo energético, por lo tanto, alteran y causan disfunción en la membrana provocando así su muerte. La energía celular se reduce debido a que existe una disminución en los niveles de trifosfato de adenosina (ATP), la molécula de energía. Una ventaja del efecto antimicrobiano se basa en que las cargas bacterianas totales son negativas debido a la formación excesiva de grupos carboxilos, en cambio las nanopartículas de ZnO contienen carga positiva en una suspensión de agua. Por lo tanto, las cargas inversas mejoran las fuerzas electrostáticas, que funcionan como un enlace entre las nanopartículas y la superficie bacteriana y da como resultado una membrana celular dañada (Sirelkhatim *et al.* 2015) y una viabilidad reducida. Asimismo, cuando existe mayor cantidad de nanopartículas de ZnO, existe un resultado de películas menos blandas, es decir, al aumentar el porcentaje de nanopartículas se forma una película más dura y por ende menos flexible (Jayasuriya *et al.* 2013).

En las propiedades mecánicas de una película de quitosano con nanopartículas de ZnO se obtiene mayor resistencia a la tracción comparado con una película de quitosano puro, esto debido a que cuando las nanopartículas son incorporadas en las películas de quitosano se forma una estructura tridimensional intermolecular resultando en una película más rígida debido a que los movimientos de relajación se encuentran interrumpidos. Sin embargo, el alargamiento a la ruptura de la película de quitosano con nanopartículas de ZnO disminuye, esto debido a la interacción del quitosano con las nanopartículas del ZnO (Mujeeb *et al.* 2018). Además, la permeabilidad al vapor de agua disminuye, por lo dicho anteriormente, el ZnO interacciona con la molécula de quitosano, provocando la compactación de la biopelícula (Wang *et al.* 2019).

Película de quitosano con hidróxido de sodio (NaOH). Una película de quitosano con NaOH se elabora mediante la inmersión de la película en una solución de NaOH. Este contacto afecta el DDA de las películas, aumentando a medida se incrementa la concentración de NaOH. Una película de quitosano-NaOH es insoluble en agua, mientras más cantidad de NaOH se le agregue a la película, menor es el hinchamiento provocado por la adición agua. Con la presencia de NaOH se crea una deprotonación, provocando un aumento en los grupos aminos no cargados, estos grupos fortalecen los enlaces de hidrógeno, causando una disminución de la solubilidad del quitosano (Takara *et al.* 2015).

Asimismo, al aumentar la cantidad de NaOH se aumenta la fragilidad, esto debido al aumento de las interacciones entre las cadenas de polisacáridos, lo cual provoca una película más compacta y menos deformable. Debido a la formación de enlaces de hidrógeno y a la desacetilación, es decir, una disminución en los grupos N-acetilo se obtiene una película más compacta (Takara *et al.* 2015). Por otro lado, la permeabilidad del vapor de agua disminuye debido a la neutralización de la película por el aumento de la compactación.

Asimismo, el grosor de las biopelículas se reduce al sumergirla en NaOH, ya que la interacción de NaOH y quitosano aumentan, dando como resultado una disminución de la distancia entre las cadenas de quitosano lo que provoca un menor grosor durante el tratamiento de neutralización. La adición de NaOH a las biopelículas juega un papel importante en la resistencia a la tracción, ya que a medida se aumenta el tiempo de inmersión en NaOH, incrementa la resistencia que presenta y exhiben mayor rigidez comparadas con una película de quitosano normal. De este modo la solución de NaOH, especialmente a altas concentraciones, podría conducir a una mejora en las propiedades mecánicas, debido a las mayores interacciones con el quitosano. Esto debido a que la mayoría de los grupos $-NH_3^+$ (amoníaco) en la cadena de quitosano se deprotonan en grupos $-NH_2$ (amida) por iones $-OH$ cuando entran en contacto con NaOH. Finalmente, para la preparación de la película de quitosano se usa el ácido acético como disolvente, de este modo, el ácido se neutraliza con el NaOH y se elimina haciendo un enjuague con agua destilada en pisseta (Chang *et al.* 2019).

Las películas elaboradas con quitosano puro son capaces de absorber bastante agua, esto debido a los grupos amino e hidroxilo disponibles del quitosano. Estas películas simples contienen un 16.7% en peso de agua. Sin embargo, la inmersión de la película en NaOH reduce la cantidad de grupos amino no cargados de quitosano y da como resultado un fortalecimiento de los enlaces de hidrógeno, causando una disminución en la solubilidad del quitosano (Boura-Theodoridou *et al.* 2020). Sin embargo, aplicar NaOH a la película de quitosano reduce la actividad antimicrobiana del quitosano, debido a que este compuesto da como resultado la deprotonación del quitosano, reduciendo las interacciones electrostáticas entre los grupos amino (carga positiva) y los componentes aniónicos (negativos) de los microorganismos (Boura-Theodoridou *et al.* 2020).

Película de quitosano con antocianinas. Según Wang *et al.* (2019), el grosor de las películas con antocianinas comparado con películas de quitosano puro es mayor, debido a que las antocianinas se combinan estrechamente con los grupos hidroxilos de las cadenas de quitosano a través de interacciones intermoleculares, reduciendo el cambio en el espesor de la película e induciendo a una estructura compacta.

En un estudio previo, se reportó que al agregar un contenido de 3% de antocianinas (provenientes de berenjena morada), el contenido de humedad aumenta si se compara contra una película de quitosano puro. Sin embargo, cuando el contenido de antocianinas es menor a 3% el contenido de humedad es menor, esto debido a las interacciones entre los grupos aminos e hidroxilo del quitosano con las antocianinas del extracto de berenjena morada, lo que limita las interacciones de quitosano-agua (Yong *et al.* 2019). En cambio, el aumento de humedad cuando se le agregan antocianinas al quitosano está relacionado por la naturaleza hidrofílica de estas, en las cuales existen más sitios polares para absorber la humedad del entorno (Gutierrez *et al.* 2019). Por otro lado, la permeabilidad al vapor de agua es una de las características más importante debido a la influencia directa sobre las reacciones de deterioro en los alimentos envasados. Al agregar antocianinas a las biopelículas de quitosano se disminuye la permeabilidad, esto se debe a que las interacciones intermoleculares establecidas entre las

antocianinas y el quitosano disminuyen la afinidad del quitosano hacia las moléculas de agua (Yong *et al.* 2019). Por otra parte, el aumento de antocianinas incrementa la resistencia a la tracción, y esto se debe a la formación de enlaces de hidrógeno entre grupos hidroxilo/amino del quitosano y polifenoles. Además, la elongación muestra una tendencia similar a la resistencia de tracción. Sin embargo, cuando se le agrega más de 3% de antocianinas, se crea una tendencia anti plastificante, debido a que se limita el movimiento de las cadenas del quitosano, lo que provoca una disminución en la flexibilidad de la película (Yong *et al.* 2019).

La calidad de un producto alimenticio está altamente influenciada por el cambio de pH que sufre cuando se expone a una temperatura establecida y tiempo durante el cual se encuentra expuesto a este ambiente específico. Se han elaborado empaques inteligentes los cuales son capaces de detectar indirectamente cuando existe un cambio de pH en los alimentos cuando estos se someten a temperaturas inadecuadas. La aplicación de antocianinas en un empaque se emplea para detectar este cambio de pH. Pereira *et al.* (2015) sometieron películas de quitosano con antocianinas a diferentes pH (desde 1.0 - 12.0 pH) y observaron que el color se veía influenciado en las muestras, donde variaba desde rojo brillante a verde brillante. Cuando la película estuvo sometida a un pH de 7, se mostró un color azul. Una aplicación potencial de este empaque es en leche o productos lácteos, ya que tiene un pH ligeramente ácido, de este modo cuando es almacenada a temperaturas mayores de refrigeración comienza a descomponerse. La contaminación microbiana y la acumulación de ácido láctico aumentan y provocan un descenso en el pH, el cual puede ser monitoreado con un empaque inteligente con antocianinas (Pereira *et al.* 2015).

Carvacrol. Es un componente natural de plantas aromáticas y aceites esenciales como los del orégano y tomillo (Vincenzi *et al.* 2004). La estructura molecular del carvacrol se presenta en la Figura 6. Se ha reportado que la adición de carvacrol en las películas de quitosano produce opacidad y colores ligeramente amarillos dando una distribución homogénea en la película resultante. Sin embargo, agregar carvacrol no afecta en el grosor de las películas (Fernández-Pan *et al.* 2015).

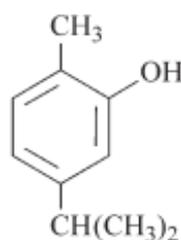


Figura 6. Estructura química del carvacrol.
Fuente: (Vincenzi *et al.* 2004).

Por otro lado, cuando se agrega carvacrol disminuye la permeabilidad del vapor de agua, debido a las partes polares que este posee. El cambio en permeabilidad es un factor importante puesto que una alta permeabilidad provocaría una hinchazón a causa de la sorción del vapor de agua (Kurek *et al.* 2014). De acuerdo con Kurek *et al.* (2014) el carvacrol causa permeabilización celular, pero lleva a cabo modificaciones en la morfología celular, es decir, las bacterias después de tener contacto con el carvacrol cambian su estructura superficial. Asimismo, en niveles subletales el carvacrol impide el desarrollo de flagelos en *E.coli* O157:H7 (Burt *et al.* 2007), impidiendo de este modo la movilidad de las células. Cabe resaltar que las películas son activas

aún con baja concentración de carvacrol. El carvacrol provoca en las películas de quitosano una eficacia antimicrobiana contra *Escherichia coli*, *Salmonella* entérica, *Bacillus subtilis* y *Listeria innocua*. El efecto del carvacrol depende mucho de la concentración, y a concentraciones bajas, puede no existir el efecto antimicrobiano contra todas las bacterias antes mencionadas. Si la concentración es <0.04% (w/w) la película se muestra ineficiente ante *Bacillus subtilis* (Kurek *et al.* 2014).

Según Fernández-Pan *et al.* (2015), para la liberación de carvacrol a partir de las películas de quitosano, se realiza con una simulación en alimentos, para lo cual podría usarse aceite de oliva y etanol como medios polares y no polares. En un estudio previo, se reportó que más del 50% del carvacrol es liberado en 2 horas de contacto con el aceite de oliva. Por otro lado, al usar etanol (96%), más del 80% es liberado en 30 minutos. Aunque el carvacrol es de alta hidrofobicidad su migración es más rápida hacia el solvente polar (etanol) esto debido a que comienza con la difusión de moléculas de contacto líquido en la matriz, lo que resulta en un debilitamiento de la red y cambios de estructura. Luego, el carvacrol se esparce a través de las matrices de quitosano hacia los solventes por gradiente de concentración. El aceite de oliva fue más lento debido a la lenta liberación en el medio, el acceso limitado del aceite de oliva a la matriz de quitosano mantuvo la estructura cerrada del quitosano, por lo que se redujo la movilidad del carvacrol quedando atrapado y limitando así su difusión y migración al disolvente. En cuanto a las propiedades mecánicas de la película se observa una disminución en resistencia a la tracción y en el alargamiento a la ruptura esto debido a la poca movilidad del compuesto en la biopelícula de quitosano, este componente induce a discontinuidades estructurales (Rubilar *et al.* 2013).

Aplicaciones de las biopelículas a base de quitosano

Aplicaciones y tendencias futuras de las biopelículas de quitosano

Unas de las principales aplicaciones para las que se usa el quitosano son los recubrimientos, las cuales son capas que pueden aplicarse directamente sobre la superficie de los alimentos. El quitosano es un ejemplo de un recubrimiento comestible, el cual se ha estudiado para prolongar la vida útil de las frutas y vegetales (Dehghani *et al.* 2018). Estos recubrimientos en cárnicos mejoran su calidad al retrasar la pérdida de humedad, mejorar la apariencia, reducir la oxidación y decoloración de lípidos. Además, en frutas y vegetales el recubrimiento con quitosano ayuda a retrasar la maduración y la pérdida de agua, reduciendo la descomposición. Estos recubrimientos sirven como barrera al oxígeno y dióxido de carbono (Dutta *et al.* 2009), además de sus propiedades antimicrobianas intrínsecas que actúan como estresante en la replicación de los microorganismos.

Algunas tendencias con las biopelículas del quitosano que se pueden mencionar son la incorporación de ingredientes con el objetivo de potenciar sus aplicaciones. Sin embargo, estos ingredientes deben considerarse que sean de origen natural, para poder mantener un envase o recubrimiento biodegradable, y poder lograr un empaque comestible. Varias opciones para lograr este tipo de biopelícula son: extractos naturales de plantas, con abundantes compuestos fenólicos o los aceites esenciales, teniendo una gran influencia en las propiedades antimicrobianas y antioxidantes en la biopelícula, logrando un empaque más ecológico (Souza *et al.* 2019).

Otra tendencia emergente es agregar compuestos a nanoescala en las biopelículas de quitosano (montmorillonita, nanocelulosa, nanopartículas de óxido metálico) de este modo se logra

interactuar química o físicamente con la cadena polimérica, buscando modificar las propiedades intrínsecas. Finalmente, de este modo se impacta positivamente sobre la resistencia al agua, propiedades mecánicas y de permeabilidad (Pires *et al.* 2018).

La producción de biopelículas a base de quitosano aún no se ha llevado a escala industrial. Los procedimientos ya conocidos podrían unirse a otras tecnologías que permitan el desarrollo del mismo a grande escala, para reconocer si existe la posibilidad de su uso a nivel industrial (Wang *et al.* 2018). Otras aplicaciones del quitosano son en aguas residuales, la adsorción es una buena técnica eficaz para la eliminación de colorantes, olores y contaminantes orgánicos. En agricultura, el quitosano es un producto natural que actúa como excelente alternativa a los plaguicidas sintéticos; cosméticos, es usado como matriz polimérica antimicrobiana para protector solar; fabricación de papel, el quitosano es usado para mejorar los procesos de fabricación de papel, al su estructura ser parecida con la celulosa promueve la formación de uniones fuertes es decir una hoja de papel resistente; y, por último, textiles antibacterianos en los cuales es utilizado ampliamente el quitosano (Muxika *et al.* 2017).

4. CONCLUSIONES

- Se realizó una revisión de literatura, en la cual se recopilaron 87 referencias, que incluyeron 81 revistas científicas tanto en inglés como en español, cuatro páginas web y dos libros.
- El quitosano se ve afectado por las propiedades intrínsecas y extrínsecas, por lo que, es necesario realizar estudios preliminares con los cuales se pueda encontrar las características que se necesitan en el empaque a realizar.
- El quitosano es un material potencial para la sustitución de plástico sintético, además, tiene otras ramas de aplicación como son agricultura y farmacéutica.

5. RECOMENDACIONES

- Crear un empaque a base de quitosano en la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano con óptimas condiciones para el almacenamiento y distribución del mix de ensalada de la planta postcosecha.
- Utilizar quitosano con mezcla de otros polímeros que se desperdician en las plantas de procesamiento de hortofrutícola de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano.
- Investigar acerca del posible etiquetado que se debe colocar en un producto con empaque o recubrimiento a base de quitosano, debido a las posibles trazas de proteína que queden en la solución de quitosano.

6. LITERATURA CITADA

- Alizadeh-Sani M, Tavassoli M, McClements DJ, Hamishehkar H. 2021. Multifunctional halochromic packaging materials: saffron petal anthocyanin loaded-chitosan nanofiber/methyl cellulose matrices. *Food hydrocolloids*. 111:106237. doi:10.1016/J.FOODHYD.2020.106237.
- Ashter SA. 2016. Introduction to bioplastics engineering. Oxford, Cambridge, MA: Elsevier. 286 p. (PDL Handbook). ISBN: 0323393969.
- Atalay E, Parker L, Schultz H. 2018. Los plásticos explicados de la A a la Z. *Revista National Geographic*; [consultado el 18 de feb. de 2020]. <https://www.nationalgeographic.es/medio-ambiente/2018/05/los-plasticos-explicados-de-la-la-z>.
- Bernabé P, Becherán L, Cabrera-Barjas G, Nestic, Aleksandra, Alburquenque, Claudio, Tapia C, Toboada E, Alderete J, los Ríos P de. 2020. Chilean crab (*Aegla cholchol*) as a new source of chitin and chitosan with antifungal properties against *Candida* spp. *International journal of biological macromolecules*. 149:962–975. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.01.126.
- Bonilla J, Fortunati E, Vargas M, Chiralt A, Kenny JM. 2013. Effects of chitosan on the physicochemical and antimicrobial properties of PLA films. *Journal of Food Engineering*. 119(2):236–243. doi:10.1016/j.jfoodeng.2013.05.026.
- Boura-Theodoridou O, Giannakas A, Katapodis P, Stamatis H, Ladavos A, Barkoula N-M. 2020. Performance of ZnO/chitosan nanocomposite films for antimicrobial packaging applications as a function of NaOH treatment and glycerol/PVOH blending. *Food Packaging and Shelf Life*. 23:100456. doi:10.1016/j.fpsl.2019.100456.
- Burt SA, van der Zee R, Koets AP, Graaff AM de, van Knapen F, Gaastra W, Haagsman HP, Veldhuizen EJA. 2007. Carvacrol induces heat shock protein 60 and inhibits synthesis of flagellin in *Escherichia coli* O157:H7. *Appl Environ Microbiol*. 73(14):4484–4490. doi:10.1128/AEM.00340-07.
- Chang W, Liu F, Rizwan H, Huang Z, Goff D, Zhong F. 2019. Preparation of chitosan films by neutralization for improving their preservation effects on chilled meat. *Food hydrocolloids*. 90:50–61. doi:10.1016/j.foodhyd.2018.09.026.
- Cheah WY, Show P-L, Ng I-S, Lin G-Y, Chiu C-Y, Chang Y-K. 2019. Antibacterial activity of quaternized chitosan modified nanofiber membrane. *International journal of biological macromolecules*. 126:569–577. doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.12.193.
- Chen M, Runge T, Wang L, Li R, Feng J, Shu X-L, Shi Q-C. 2018. Hydrogen bonding impact on chitosan plasticization. *Carbohydrate Polymers*. 200:115–121. doi:10.1016/j.carbpol.2018.07.062.
- Correa-Pacheco ZN, Bautista-Baños S, Ramos-García MdL, Martínez-González MdC, Hernández-Romano J. 2019. Physicochemical characterization and antimicrobial

- activity of edible propolis-chitosan nanoparticle films. *Progress in Organic Coatings*. 137:105326. doi:10.1016/j.porgcoat.2019.105326.
- Dai H, Li X, Du J, Ma L, Yu Y, Zhou H, Guo T, Zhang Y. 2020. Effect of interaction between sorbitol and gelatin on gelatin properties and its mechanism under different citric acid concentrations. *Food hydrocolloids*. 101:105557. doi:10.1016/j.foodhyd.2019.105557.
- Dehghani S, Hosseini SV, Regenstein JM. 2018. Edible films and coatings in seafood preservation: A review. *Food Chem*. 240:505–513. doi:10.1016/j.foodchem.2017.07.034.
- Dutta PK, Tripathi S, Mehrotra GK, Dutta J. 2009. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chem*. 114(4):1173–1182. doi:10.1016/j.foodchem.2008.11.047.
- Fernández-Pan I, Maté JI, Gardrat C, Coma V. 2015. Effect of chitosan molecular weight on the antimicrobial activity and release rate of carvacrol-enriched films. *Food hydrocolloids*. 51:60–68. doi:10.1016/j.foodhyd.2015.04.033.
- Gomaa M, Hifney AF, Fawzy MA, Abdel-Gawad KM. 2018. Use of seaweed and filamentous fungus derived polysaccharides in the development of alginate-chitosan edible films containing fucoidan: Study of moisture sorption, polyphenol release and antioxidant properties. *Food hydrocolloids*. 82:239–247. doi:10.1016/j.foodhyd.2018.03.056.
- Gutierrez T, Toro-Marques L, Merino D, Mendieta J. 2019. Hydrogen-bonding interactions and compatibility of bionanocomposite films prepared from corn starch and nano-fillers with and without added jamaica flower extract. *Food hydrocolloids*. 89:283–293. doi:10.1016/j.foodhyd.2018.10.058.
- Hernández C, Nuñez A, Loranzo E, Hernández S. 2018. Despigmentación de residuos de camarón con ozono. *Centro azúcar*. 45:51–63.
- Hu L, Meng X, Xing R, Liu S, Chen X, Qin Y, Yu H, Li P. 2016. Design, synthesis and antimicrobial activity of 6-N-substituted chitosan derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 26(18):4548–4551. doi:10.1016/j.bmcl.2015.08.047.
- Jayasuriya A, Aryaei A, Jayatissa A. 2013. ZnO nanoparticles induced effects on nanomechanical behavior and cell viability of chitosan films. *Materials Science and Engineering C*. 33:3688–3696. doi:10.1016/j.msec.2013.04.057.
- Jha P. 2020. Effect of plasticizer and antimicrobial agents on functional properties of bionanocomposite films based on corn starch-chitosan for food packaging applications. *International journal of biological macromolecules*. 160:571–582. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.05.242.
- Jiang X, Zhao Y, Hou L. 2016. The effect of glycerol on properties of chitosan/poly (vinyl alcohol) films with AlCl₃·6H₂O aqueous solution as the solvent for chitosan. *Carbohydrate Polymers*. 135:191–198. doi:10.1016/j.carbpol.2015.08.094.
- Jung E, Kyoung Youn D, Ho Lee S, Kyoon No H, Gill Ha J, Prinyawiwatkul W. 2010. Antibacterial activity of chitosans with different degrees of deacetylation and viscosities. *International Journal of Food Science & Technology*. 45(4):676–682. doi:10.1111/j.1365-2621.2010.02186.x.
- Knidri H, Belaabed R, Addaou A, Laajeb A, Lahsini A. 2018. Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan. *International journal of biological macromolecules*. 120:1181–1189. doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.08.139.

- Kurek M, Guinault A, Voilley A, Galić K, Debeaufort F. 2014. Effect of relative humidity on carvacrol release and permeation properties of chitosan based films and coatings. *Food Chem.* 144:9–17. doi:10.1016/j.foodchem.2012.11.132.
- Liu H, Adhikari R, Guo Q, Adhikari B. 2013. Preparation and characterization of glycerol plasticized (high-amylose) starch–chitosan films. *Journal of Food Engineering* 116(2):588–597. doi:10.1016/j.jfoodeng.2012.12.037.
- Liu M, Zhou Y, Zhang Y, Yu C, Cao S. 2014. Physicochemical, mechanical and thermal properties of chitosan films with and without sorbitol. *International journal of biological macromolecules.* 70:340–346. doi:10.1016/j.ijbiomac.2014.06.039.
- Liu Z, Ge X, Lu Y, Dong S, Zhao Y, Zeng M. 2012. Effects of chitosan molecular weight and degree of deacetylation on the properties of gelatine-based films. *Food hydrocolloids.* 26(1):311–317. doi:10.1016/j.foodhyd.2011.06.008.
- Ma X, Qiao C, Wang X, Yao J, Xu J. 2019. Structural characterization and properties of polyols plasticized chitosan films. *International journal of biological macromolecules.* 135:240–245. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.05.158.
- Ma X, Qiao C, Zhang J, Xu J. 2018. Effect of sorbitol content on microstructure and thermal properties of chitosan films. *International journal of biological macromolecules.* 119:1294–1297. doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.08.060.
- Madera-Santana TJ, Herrera-Méndez CH, Rodríguez-Núñez JR. 2018. An overview of the chemical modifications of chitosan and their advantages. *Green Materials [Green Materials, 6(4), 131-142].* 6(4):131–142. doi:10.1680/JGRMA.18.00053.
- Malini M, Thirumavalavan M, Yang W-Y, Lee J, Annadurai G. 2015. A versatile chitosan/ZnO nanocomposite with enhanced antimicrobial properties. *International journal of biological macromolecules.* 80:121–129. doi:10.1016/j.ijbiomac.2015.06.036.
- Martínez-Camacho AP, Cortez-Rocha MO, Ezquerro-Brauer JM, Graciano-Verdugo AZ, Rodríguez-Félix F, Castillo-Ortega MM, Yépez-Gómez MS, Plascencia-Jatomea M. 2010. Chitosan composite films: Thermal, structural, mechanical and antifungal properties. *Carbohydrate Polymers.* 82(2):305–315. doi:10.1016/j.carbpol.2010.04.069.
- Mohiuddin M, Kumar B, Haque S. 2017. Biopolymer composites in photovoltaics and photodetectors. *Biopolymer composites in electronics.* 459–486. doi:10.1016/B978-0-12-809261-3.00017-6.
- Monte M, Moreno M, Senna J, Arrieche L, Pinto L. 2018. Moisture sorption isotherms of chitosan-glycerol films: Thermodynamic properties and microstructure. *Food Bioscience.* 22:170–177. doi:10.1016/j.fbio.2018.02.004.
- Mujeeb Rahman P, Abdul Mujeeb VM, Muraleedharan K, Thomas SK. 2018. Chitosan/nano ZnO composite films: Enhanced mechanical, antimicrobial and dielectric properties. *Arabian Journal of Chemistry.* 11(1):120–127. doi:10.1016/j.arabjc.2016.09.008.
- Muxika A, Etxabide A, Uranga J, Guerrero, P. de la Caba, K. 2017. Chitosan as a bioactive polymer: Processing, properties and applications. *International journal of biological macromolecules.* 105:1358–1368. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.07.087.
- Myong K, Hwa J, Kim S-K, Weller C, Hanna M. 2006. Properties of chitosan films as a function of pH and solvent type. *Food engineering and physical properties.* 71(3):119–124. doi:10.1111/j.1365-2621.2006.tb15624.x.

- Naamani L, Dobretsov S, Dutta J. 2016. Chitosan-zinc oxide nanoparticle composite coating for active food packaging applications. *Innovative food science and emerging technologies*. 38:231–237. doi:10.1016/j.ifset.2016.10.010.
- Ngo T, Hoi, Thanh, Quyen, Thi, Tran T, Rachtanapun P. 2020. Characteristics and antimicrobial properties of active edible films based on pectin and nanochitosan. *International Journal of Molecular Sciences*. 21(6):1–16. doi:10.3390/ijms21062224.
- Nunthanid J, Puttipipatkachorn S, Yamamoto K, Peck GE. 2001. Physical properties and molecular behavior of chitosan films. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 27(2):143–157. doi:10.1081/DDC-100000481.
- Nwe N, Furuike T, Osaka I, Fujimori H, Kawasaki H, Arakawa R, Tokura S, Stevens W, Kurozumi S, Takamori Y, et al. 2011. Laboratory scale production of ¹³C labeled chitosan by fungi *Absidia coerulea* and *Gongronella butleri* grown in solid substrate and submerged fermentation. *Carbohydrate Polymers*. (84):743–750. doi:10.1016/j.carbpol.2010.06.023.
- Nwe N, Furuike T, Tamura H. 2014. Isolation and characterization of chitin and chitosan from marine origin. *Advances in food and nutrition research*. 72:1–15. doi:10.1016/B978-0-12-800269-8.00001-4.
- Parker L. 2019. The world's plastic pollution crisis explained. *Revista National Geographic*; [consultado el 18 de feb. de 2020]. <https://www.nationalgeographic.com/environment/habitats/plastic-pollution/>.
- Pastor C, Sánchez-González L, Cháfer M, Chiralt A, González-Martínez C. 2010. Physical and antifungal properties of hydroxypropylmethylcellulose based films containing propolis as affected by moisture content. *Carbohydrate Polymers*. 82(4):1174–1183. doi:10.1016/j.carbpol.2010.06.051.
- Pavinatto A, Almeida A, Granato A, Hitomi M, Balogh D, Sanfelice R. 2019. Coating with chitosan-based edible films for mechanical/biological protection of strawberries. *International journal of biological macromolecules*. 151:1004–1011. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.11.076.
- Pereira V, Querioz N, Stefani R. 2015. Active chitosan/PVA films with anthocyanins from *Brassica oleraceae* (Red Cabbage) as time–temperature Indicators for application in intelligent food packaging. *Food hydrocolloids*. 43:180–188. doi:10.1016/j.foodhyd.2014.05.014.
- Pires JRA, Souza VGL de, Fernando AL. 2018. Chitosan/montmorillonite bionanocomposites incorporated with rosemary and ginger essential oil as packaging for fresh poultry meat. *Food Packaging and Shelf Life*. 17:142–149. doi:10.1016/J.FPSL.2018.06.011.
- Pires N, Cunha P, Maciel J, Angelim A, Melo V, Paula R, Feitosa J. 2013. Sulfated chitosan as tear substitute with no antimicrobial activity. *Carbohydrate Polymers*. 91:92–99. doi:10.1016/j.carbpol.2012.08.011.
- Rahman M, Mujeed A, Muraleedharan K. 2017. Flexible chitosan-nano ZnO antimicrobial pouches as a new material for extending the shelf life of raw meat. *International journal of biological macromolecules*. 97:382–391. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.01.052.
- Ravi M. 2000. A review of chitin and chitosan applications. *Reactive & functional polymers*. 46(1):1–27. doi:10.1016/S1381-5148(00)00038-9.

- Ritchie H, Roser M. 2018. Plastic Pollution: Which countries produce the most plastic waste? Our World in Data: University of Oxford; [consultado el 19 de feb. de 2020]. <https://ourworldindata.org/plastic-pollution>.
- Rodríguez-Núñez JR, Madera-Santana TJ, Sánchez-Machado DI, López-Cervantes J, Soto Valdez H. 2014. Chitosan/hydrophilic plasticizer-based films: preparation, physicochemical and antimicrobial properties. *J Polym Environ.* 22(1):41–51. doi:10.1007/s10924-013-0621-z.
- Roy JC, Salaün F, Giraud S, Ferri A, Chen G, Guan J, editores. 2017. Solubility of chitin: solvents, solution behaviors and their related mechanisms. Zagreb: InTech. ISBN: 978-953-51-3650-7.
- Rubilar JF, Cruz RMS, Silva HD, Vicente AA, Khmelinskii I, Vieira MC. 2013. Physico-mechanical properties of chitosan films with carvacrol and grape seed extract. *Journal of Food Engineering.* 115(4):466–474. doi:10.1016/j.jfoodeng.2012.07.009.
- Sabbah M, Di Pierro P, Cammatorra, Marcella: Dell'Olmo, Eliana, Arciello A, Porta R. 2019. Development and properties of new chitosan-based films plasticized with spermidine and/or glycerol. *Food hydrocolloids.* 87:245–252. doi:10.1016/j.foodhyd.2018.08.008.
- Sahariah P, Masson M. 2017. Antimicrobial chitosan and chitosan derivatives: A review of the structure-activity relationship. *Biomacromolecules.* 18(11):3846–3868. doi:10.1021/acs.biomac.7b01058.
- Salama A, Hasanin M, Hesemann P. 2020. Synthesis and antimicrobial properties of new chitosan derivatives containing guanidinium groups. *Carbohydrate Polymers.* 241. doi:10.1016/j.carbpol.2020.116363.
- Salama A, Hesemann P. 2017. Synthesis of N-guanidinium-chitosan/silica hybrid composites: Efficient adsorbents for anionic pollutants. *Polymers and the environment.* 26(1986-1997). doi:10.1007/s10924-017-1093-3.
- Singh P, Sharma VP. 2016. Integrated plastic waste management: Environmental and improved health approaches. *Procedia Environmental Sciences.* 35:692–700. doi:10.1016/j.proenv.2016.07.068.
- Sini T, Santhosh S, Mathew P. 2007. Study on the production of chitin and chitosan from shrimp shell by using *Bacillus subtilis* fermentation. *Carbohydrate Research.* (324):2423–2429. doi:10.1016/j.carres.2007.06.028.
- Sirelkhatim A, Mahmud S, Seeni A, Mohamad N, Chuo L, Nohd S, Hasan H, Mohaman D. 2015. Review on zinc oxide nanoparticles: Antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-Micro Lett.* 7(3):219–242. doi:10.1007/s40820-015-0040-x.
- Siripatrawan U, Vitchayakitti W. 2016. Improving functional properties of chitosan films as active food packaging by incorporating with propolis. *Food hydrocolloids.* 61:695–702. doi:10.1016/j.foodhyd.2016.06.001.
- Siripatrawan U, Vitchayakitti W, Sanguandeeikul R. 2013. Antioxidant and antimicrobial properties of thai propolis extracted using ethanol aqueous solution. *Int J Food Sci Technol.* 48(1):22–27. doi:10.1111/j.1365-2621.2012.03152.x.
- Souza VGL, Pires JRA, Vieira ÉT, Coelho IM, Duarte MP, Fernando AL. 2019. Activity of chitosan-montmorillonite bionanocomposites incorporated with rosemary essential oil: From in vitro assays to application in fresh poultry meat. *Food hydrocolloids.* 89:241–252. doi:10.1016/J.FOODHYD.2018.10.049.

- Stachowiak N, Kowalonek J, Kozłowska J. 2020. Effect of plasticizer and surfactant on the properties of poly (vinyl alcohol)/chitosan films. *International journal of biological macromolecules*. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.08.001.
- Sumarni W, A T Prasetya, E F Rahayu. 2017. Effect of glycerol on physical properties of biofilms gembili starch (*Dioscorea Esculenta*) - chitosan. *Proceeding of Chemistry Conference*. 2:56–65.
- Sun L, Sun J, Chen L, Niu P, Tang X, Guo Y. 2017. Preparation and characterization of chitosan film incorporated with thinned young apple polyphenols as an active packaging material. *Carbohydrate Polymers*. 163:81–91. doi:10.1016/j.carbpol.2017.01.016.
- Takara E, Marchese J, Ochoa N. 2015. NaOH treatment of chitosan films: Impact on macromolecular structure and film properties. *Carbohydrate Polymers*. 132:25–30. doi:10.1016/j.carbpol.2015.05.077.
- Tan YM, Lim SH, Tay BY, Lee MW, Thian ES. 2015. Functional chitosan-based grapefruit seed extract composite films for applications in food packaging technology. *Materials Research Bulletin*. 69:142–146. doi:10.1016/j.materresbull.2014.11.041.
- Tapan M. 2019. Nature can't do it all: How long does it take for our waste to decompose? The balance: Daily Sabah: Feature; [consultado el 19 de feb. de 2020]. <https://www.dailysabah.com/feature/2019/01/23/nature-cant-do-it-all-how-long-does-it-take-for-our-waste-to-decompose>.
- Trung TS, Le Tram H, van Tan N, van Hoa N, Minh NC, Thanh Loc P, Stevens W. 2020. Improved method for production of chitin and chitosan from shrimp shells. *Carbohydrate Research*. 489. doi:10.1016/j.carres.2020.107913.
- van den Broek L, Knoop R, Kappen F, Boeriu C. 2015. Chitosan films and blends for packaging material. *Carbohydrate Polymers*. 116:237–242. doi:10.1016/j.carbpol.2014.07.039.
- Vicentini D, Smania A, Laranjeira M. 2010. Chitosan/poly (vinyl alcohol) films containing ZnO nanoparticles and plasticizers. *Materials Science and Engineering C*. 30(4):503–508. doi:10.1016/j.msec.2009.01.026.
- Vincenzi M, Stamatii A, Vincenzi A, Silano M. 2004. Constituents of aromatic plants: carvacrol. *Fitoterapia*. 75(7-8):801–804. doi:10.1016/j.fitote.2004.05.002.
- Wang H, Gong X, Miao Y, Guo X, Liu C, Fan Y-Y, Zhang J, Niu B, Li W. 2019. Preparation and characterization of multilayer films composed of chitosan, sodium alginate and carboxymethyl chitosan-ZnO nanoparticles. *Food Chem*. 283:397–403. doi:10.1016/j.foodchem.2019.01.022.
- Wang H, Qian J, Ding F. 2018. Emerging chitosan-based films for food packaging applications. *Agricultural and food chemistry*. 66:395–413. doi:10.1021/acs.jafc.7b04528.
- Wang K, Lim PN, Tong SY, Thian ES. 2019. Development of grapefruit seed extract-loaded poly(ϵ -caprolactone)/chitosan films for antimicrobial food packaging. *Food Packaging and Shelf Life*. 22:100396. doi:10.1016/j.foodchem.2019.100396.
- Wang W, Du Y, Qiu Y, Wang X, Hu Y, Tang J, Cai J, Kennedy J. 2008. A new green technology for direct production of low molecular weight chitosan. *Carbohydrate Polymers*. 74(1):127–132. doi:10.1016/j.carbpol.2008.01.025.
- Wang X, Yong H, Gao L, Li L, Jin M, Liu J. 2019. Preparation and characterization of antioxidant and pH-sensitive films based on chitosan and black soybean seed coat extract. *Food hydrocolloids*. 89:56–66. doi:10.1016/j.foodhyd.2018.10.019.

- Weinhold M, Sauvageau J, Kedding N, Matzke M, Tartsch B, Grunwald, Ingo, Kubel, Christian, Jastorff B, Thoming J. 2009. Strategy to improve the characterization of chitosan for sustainable biomedical applications: SAR guided multi-dimensional analysis. *Green chemistry*. 11:498–509. doi:10.1039/b809941c.
- Wu J, Chen S, Ge S, Miao J, Li J, Zhang Q. 2013. Preparation, properties and antioxidant activity of an active film from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin incorporated with green tea extract. *Food hydrocolloids*. 32(1):42–51. doi:10.1016/j.foodhyd.2012.11.029.
- Yong H, Wang X, Zhang X, Liu Y, Qin Y, Liu J. 2019. Effects of anthocyanin-rich purple and black eggplant extracts on the physical, antioxidant and pH-sensitive properties of chitosan film. *Food hydrocolloids*. 94:93–104. doi:10.1016/j.foodhyd.2019.03.012.
- Younes I, Rinaudo M. 2015. Chitin and chitosan preparation from marine sources: Structure, properties and applications. *Marine Drugs*. 13(3):1133–1174. doi:10.3390/md13031133.
- Yuan Y, Chesnutt BM, Haggard WO, Bumgardner JD. 2011. Deacetylation of chitosan: material characterization and in vitro evaluation via albumin adsorption and pre-osteoblastic cell cultures. *Materials (Basel)*. 4(8):1399–1416. doi:10.3390/ma4081399.
- Zhang Y, Liu B-L, Wang L-J, Deng Y-H, Zhou S-Y, Feng J-W. 2019. Preparation, structure and properties of acid aqueous solution plasticized thermoplastic chitosan. *Polymers (Basel)*. 11(5). doi:10.3390/polym11050818.
- Zhuang C, Zhong Y, Zhao Y. 2019. Effect of deacetylation degree on properties of chitosan films using electrostatic spraying technique. *Food Control*. 97:25–31. doi:10.1016/j.foodcont.2018.10.014.

7. ANEXO

Anexo 1. Resumen de mezcla de aditivos para la formación de biopelículas a base de quitosano. Mejora de características se presenta a continuación. PM: propiedades mecánicas, AA: actividad antimicrobiana, P: permeabilidad.

Aditivo	Técnica	PM	AA	P	Aplicación /potencial aplicación	Imagen	Autor
Glicerol	Recubrimiento	x		x	Recubrimiento de alimentos (frutas y verduras)		(Pavinatto <i>et al.</i> 2019)
Sorbitol	Recubrimiento	x		x	Recubrimiento de alimentos (frutas y verduras)		(Rodríguez-Núñez <i>et al.</i> 2014)
Propóleo	Fundición	x	x	x	Empaque y preservación de alimentos contra algunas bacterias		(Correa-Pacheco <i>et al.</i> 2019)
ZnO	Fundición	x	x	x	Empaque de alimentos antibacterialmente eficaz		(Rahman <i>et al.</i> 2017)
NaOH	Inmersión	x		x	Empaque de alimentos con muy baja capacidad de permeabilidad		(Boura-Theodoridou <i>et al.</i> 2020)
Antocianinas	Fundición	x		x	Empaques inteligentes al cambio de pH		(Alizadeh-Sani <i>et al.</i> 2021)
Carvacrol	Fundición		x	x	Empaque de alimentos antibacterialmente eficaz		(Rubilar <i>et al.</i> 2013)