



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“ELABORACIÓN DE UN EMPAQUE ACTIVO A BASE  
DE SUBPRODUCTOS DE *Daucus carota*, ALMIDÓN Y  
NANOPARTÍCULAS DE PLATA”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA**

**PRESENTA**

**DIANA FERNANDA ZAMBRANO ARROYO**

**DIRIGIDA POR**

**Dr. CARLOS REGALADO GONZÁLEZ**

**SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2024.**



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales  
de Información



Elaboración de un empaque activo a base de  
subproductos de *Daucus carota*, almidón y  
nanopartículas de plata

**por**

Diana Fernanda Zambrano Arroyo

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons  
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

**Clave RI:** FQLIN-289583



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“ELABORACIÓN DE UN EMPAQUE ACTIVO A BASE DE  
SUBPRODUCTOS DE *Daucus carota*, ALMIDÓN Y  
NANOPARTÍCULAS DE PLATA”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA**

**PRESENTA**

**DIANA FERNANDA ZAMBRANO ARROYO**

**DIRIGIDA POR**

**Dr. CARLOS REGALADO GONZÁLEZ**

**SINODALES**

**Dr. CARLOS REGALADO GONZÁLEZ**

**DIRECTOR**

**Dr. GONZALO VELÁZQUEZ DE LA CRUZ**

**CODIRECTOR**

**Dra. MONSERRAT ESCAMILLA GARCÍA**

**SINODAL**

**Dr. JOSÉ ÁNGEL GRANADOS ARVIZU**

**SINODAL**

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

## ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	ii
ÍNDICE DE FIGURAS	v
RESUMEN	
INTRODUCCIÓN	1
1. ANTECEDENTES	3
1.1 Películas comestibles	3
1.2 Empaques activos	4
1.3 Películas elaboradas con polisacáridos	5
1.4 Celulosa	5
1.5 Zanahoria ( <i>Daucus carota</i> )	7
1.6 Películas a partir de celulosa	8
1.7 Almidón	9
1.7.1 Almidón acetilado-entrecruzado	11
1.8 Películas a base de almidón	12
1.9 Plastificantes en películas	13
1.9.1 Sorbitol	14
1.10 Agentes antimicrobianos	14
1.10.1 Nanopartículas de plata (NPAg)	16
2. HIPÓTESIS	19
3. OBJETIVOS	20
3.1 General	20
3.2 Específicos	20
4. METODOLOGÍA	21
4.1 Materiales	21
4.2. Métodos	21
4.2.1 Extracción de celulosa en zanahoria	21

4.2.2	Elaboración de nanopartículas de plata (NPAg)	23
4.2.3	Caracterización de las NPAg	23
4.2.3.1	Espectroscopia UV-VIS	23
4.2.3.2	Tamaño de partícula y potencial zeta	23
4.2.3.3	Cuantificación de NPAg mediante espectroscopia de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente	24
4.2.3.4	Evaluación del efecto antimicrobiano de las NPAg	25
4.2.4	Diseño de mezclas	25
4.2.5	Elaboración de películas	26
4.2.6	Caracterización del empaque activo	27
4.2.6.1	Grosor de la película	27
4.2.6.2	Solubilidad	27
4.2.6.3	Permeabilidad al vapor de agua	27
4.2.6.4	Propiedades mecánicas	28
4.2.6.5	Caracterización por espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier	29
4.2.6.6	Evaluación del efecto antimicrobiano de las películas	29
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
5.1	Extracción y cuantificación de celulosa en zanahoria	30
5.2	Caracterización de las NPAg	31
5.2.1	Espectroscopia UV-VIS	31
5.2.2	Tamaño de partícula y potencial zeta	33
5.2.3	Cuantificación de NPAg mediante espectroscopia de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)	34
5.2.4	Evaluación del efecto antimicrobiano de las NPAg	35
5.3	Diseño de mezclas	39
5.4	Elaboración de películas	40
5.5	Caracterización del empaque activo	41
5.5.1	Grosor de la película	41

5.5.2 Solubilidad	42
5.5.3 Permeabilidad al vapor de agua	44
5.5.4 Propiedades mecánicas	46
5.5.5 Caracterización por espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR)	48
5.5.6 Evaluación del efecto antimicrobiano de las películas	52
6. CONCLUSIONES	55
7. BIBLIOGRAFÍA	56

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Aplicaciones de la celulosa en la industria biomédica, de la biorremediación, del papel y la pirotécnica.	6
2. Aplicaciones de recubrimientos que incluyen a la celulosa como componente de su matriz.	8
3. Principales almidones modificados químicamente y sus características.	10
4. Diseño de mezclas.	26
5. Rendimiento de celulosa extraída a partir de subproductos de zanahoria fresca.	31
6. Tamaño de partícula y Potencial Zeta de las NPAg.	34
7. Concentración total de plata en la solución de nanopartículas y de plata metálica en las NPAg.	34
8. Espesor de las películas producidas.	42
9. Porcentajes de solubilidad para las diferentes películas obtenidas.	43
10. Valores promedio de permeabilidad al vapor de agua para cada tipo de película.	45
11. Propiedades mecánicas para películas de almidón acetilado entrecruzado con celulosa y con NPAg.	47

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Espectro UV-VIS de las NPAg obtenidas.	32
2. Curvas de crecimiento bacteriano en presencia de NPAg a diferentes concentraciones (en peso) (0.00 %, 4.50 %, 19.23 %, 32.25 % y 41.66 %) para A) <i>L. innocua</i> , B) <i>E. coli</i> O157:H7, C) <i>S. Typhimurium</i> y D) <i>P. aeruginosa</i> .	36
3. Gráficas de tiempo de duplicación a diferentes concentraciones de NPAg (0.00 %, 4.50 %, 19.23 %, 32.25 % y 41.66 %) para A) <i>L. innocua</i> , B) <i>E. coli</i> O157:H7, C) <i>S. Typhimurium</i> y D) <i>P. aeruginosa</i> .	38
4. Películas formadas a partir de diferentes biopolímeros. A) almidón acetilado- entrecruzado, B) celulosa de zanahoria, C) almidón acetilado entrecruzado/celulosa de zanahoria.	40
5. Películas de almidón acetilado- entrecruzado /celulosa de zanahoria, incorporadas con NPAg (% p/p). A) 20, B) 30, y C) 40.	41
6. Espectro FT-IR de las películas de A) almidón acetilado-entrecruzado, B) celulosa de zanahoria y C) almidón acetilado-entrecruzado /celulosa de zanahoria.	49
7. Espectro FT-IR de las películas de A) almidón/celulosa, B) almidón/celulosa con 20 % de NPAg y C) almidón/celulosa con 30 % de NPAg.	51
8. Resultados del método de difusión en agar para <i>L. innocua</i> con A) 20 % de NPAg y B) 30 % de NPAg. Donde el disco amarillo representa el control y el disco café es la película con solución de nanopartículas de plata.	52
9. Resultados del método de difusión en agar para <i>E. coli</i> O157:H7 con A) 20 % de NPAg y B) 30 % de NPAg. Donde	52



el disco blanco representa el control y el disco café es la película con solución de nanopartículas de plata.

10. Resultados del método de difusión en agar para *S. Typhimurium* con A) 20 % de NPAg y B) 30 % de NPAg. Donde el disco blanco representa el control y el disco café es la película con solución de nanopartículas de plata.

53

## RESUMEN

En México la producción de zanahoria se ha reportado en más de 331 mil toneladas al año; el 30 % se elimina como subproducto, de los cuales el 80 % no tiene utilidad. La fibra cruda de zanahoria contiene 71.7 % de celulosa que puede ser usada por la industria alimenticia para contribuir a la economía circular, empleándola como materia prima para la elaboración de materiales de empaque biodegradables. El objetivo de este trabajo fue elaborar un empaque activo a base de subproductos de *Daucus carota*, almidón y nanopartículas de plata (NPAg). Se realizaron lavados a los subproductos de zanahoria para obtener 2.05 % de rendimiento de celulosa. Se sintetizaron NPAg identificadas por su pico característico de absorción a 425.2 nm, las cuales presentaron un potencial zeta de  $-31.9 \pm 1.41$  mV, reflejando la estabilidad de la suspensión. La concentración de nanopartículas se midió mediante emisión atómica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES), siendo de  $84.67 \pm 4.35$  ppm. Las películas de celulosa mostraron mayor resistencia a la tensión, aunque la combinación de almidón y celulosa mejoró el porcentaje de elongación. Por otro lado, la incorporación de las NPAg en estas películas mejoró su elongación, pero disminuyó significativamente el módulo de Young. Las películas adicionadas con 20 - 30 % de las NPAg mostraron mayor efecto antimicrobiano contra bacterias Gram (-) (*Salmonella Typhimurium* (ATCC 14028) y *Escherichia coli* O157:H7), que contra Gram (+) (*Listeria innocua*). Esto fue debido a la interacción de la plata con las cargas negativas de la membrana externa. La concentración mínima bactericida (CMB) obtenida de las curvas de crecimiento para los cuatro microorganismos empleados fue de  $423.35 \pm 0.1$  µg/mL correspondiente al 19.23 % de NPAg. Se concluye que es posible elaborar un empaque activo con actividad antimicrobiana a partir de almidón modificado, celulosa extraída de subproductos de zanahoria y NPAg.

## **INTRODUCCIÓN**

En la actualidad, existen diversos problemas ambientales globales, uno de ellos y de los más importantes es la acumulación de plásticos; que a su vez se desglosa en diferentes vertientes: su uso excesivo, su desecho irresponsable en ecosistemas terrestres y acuáticos, los problemas de salud que ocasionan su descomposición, su acumulación excesiva debido a la baja degradabilidad y su producción requiere el uso intensivo de recursos no renovables como el petróleo. Estos productos son muy versátiles y sin duda funcionales, aunque cuentan con una lista importante de desventajas. Abstenerse de su uso, mejorar la gestión de sus residuos y la concientización son algunas de las soluciones a este problema. Por otra parte, el desarrollo de materiales alternativos al plástico es otra opción interesante y prometedora. Por lo que este trabajo es considerado el inicio del desarrollo de un proyecto que busca hacer frente al problema con los plásticos a través de su sustitución.

Otra preocupación global es el desperdicio de alimentos. El despilfarro comienza desde las etapas tempranas de producción y cosecha, pasando por el transporte, su almacenamiento, distribución y hasta el final del proceso, su consumo. Este desperdicio ocasiona la acumulación de los alimentos, su descomposición, emisión de gases de efecto invernadero, así como la necesidad de producir más, lo que implica el uso de recursos, agua, tierra, energía, entre otros; esto se torna en un círculo vicioso interminable. Hay muchas causas del desperdicio, desde prácticas agrícolas inadecuadas hasta requerimientos de estándares estéticos de los alimentos durante su venta al consumidor. En este trabajo nos centramos en las fechas de caducidad escritas de algunos alimentos.

No es conveniente para nuestras finanzas cuando las frutas de la despensa, fresas, uvas, frambuesas, moras; o carnes como pollo y res se echan a perder, pero no es posible consumir todo en cuestión de un par de días con tal de evitar su desperdicio. Si fuera posible incrementar un poco más su vida útil sería ideal.

Una posible solución a estos dos problemas ambientales, económicos y de salud mundial son los empaques activos a base de recursos biodegradables y fáciles de conseguir. El objetivo de este trabajo fue el desarrollo de un empaque activo a base de subproductos de zanahoria (*Daucus carota*), almidón y nanopartículas de plata (NPAg). Los subproductos de zanahoria tendrían un uso alternativo y de valor agregado, evitando su desperdicio y la contaminación que esto ocasiona. El almidón es muy usado en este tipo de empaques por su versatilidad y las características ventajosas que otorga a las películas. Las nanopartículas de plata son el ingrediente activo que brinda la actividad antimicrobiana, propiciando la conservación del alimento. Por falta de tiempo no fue posible evaluar la biodegradabilidad de las películas elaboradas, ni su funcionalidad en los alimentos, pero sin duda, fue un avance importante establecer una formulación estable de empaque y conocer la actividad de las NPAg ante diferentes microorganismos contaminantes.

## 1. ANTECEDENTES

### 1.1 Películas comestibles

Una película comestible es un material de empaque cuya principal utilidad es mejorar y preservar la calidad de los alimentos, funcionando como una barrera protectora. Las películas consisten en una o varias capas de materiales comestibles como polisacáridos, proteínas, grasas y/o una combinación de estos componentes (Anchundia y col., 2016).

Las películas otorgan un ambiente donde resulta más difícil la captación de dióxido de carbono y oxígeno, así como también reducen la pérdida de humedad del alimento lo que favorece su preservación. Otro beneficio importante de las películas comestibles es la reducción del uso de plásticos para empacar alimentos (Çakmak y col., 2020). La principal diferencia entre un recubrimiento y una película comestible es que ésta última es preformada como una lámina y posteriormente es colocada sobre el alimento; mientras que los recubrimientos se moldean a la superficie del alimento y una vez solidificado forma una capa protectora (Solano y col., 2018).

De acuerdo con su composición, las películas comestibles se clasifican en aquellas basadas en hidrocoloides, lípidos o compuestas. Las películas a base de hidrocoloides se caracterizan por presentar excelente barrera a gases ( $O_2$  y  $CO_2$ ), buenas propiedades mecánicas, pero alta permeabilidad al vapor de agua. Las películas de hidrocoloides regularmente están compuestas de polisacáridos como celulosa, quitosano y almidón, así como de proteínas de origen animal y vegetal (caseínas, albúminas, soya) (Ancos y col., 2015). Las películas a base de lípidos se consideran como recubrimientos y, al estar formadas por materiales hidrofóbicos, presentan buenas propiedades de barreras contra la humedad.

Principalmente están hechas de monoglicéridos, ceras y ácidos grasos; la desventaja que tienen es su reducida capacidad para formación de la película (Fernández y col., 2015). Finalmente, las películas compuestas resultan de la combinación de polisacáridos o proteínas y de lípidos, obteniendo así las ventajas de los distintos materiales para crear una película selectiva, resistente e íntegra.

## 1.2 Empaques activos

La modificación de las características de los alimentos, así como la prolongación de su vida de anaquel, son los principales distintivos que diferencian a los empaques activos del resto de recubrimientos de alimentos (Solano y col., 2018). Los empaques activos cumplen su función a partir de la liberación de los compuestos activos hacia el alimento o el medio donde éste se encuentra; de igual forma, puede absorber las sustancias no deseadas presentes o liberadas por el alimento y el entorno (Andrade y col., 2018).

Los principales ejemplos de películas activas son aquellas que poseen capacidad antioxidante y/o actividad antimicrobiana (Yong y Liu, 2021). En el caso de los empaques activos antioxidantes podemos encontrar los que liberan las sustancias activas en el alimento y en el medio donde se encuentra éste; y los empaques que absorben los compuestos oxidantes como el oxígeno y radicales del ambiente o el propio alimento (Domínguez y col., 2018). Por otro lado, los empaques activos que poseen actividad antimicrobiana tienen la función de preservar el alimento gracias a la prevención de la contaminación por bacterias (Omerović y col., 2021). Para este tipo de películas los compuestos activos suelen ser nanomateriales antimicrobianos, que además de conferir dicha cualidad, permite obtener materiales de empaque más fuertes y con una menor permeabilidad al oxígeno (Sharma y col., 2020).

### 1.3 Películas elaboradas con polisacáridos

Los polisacáridos son los biopolímeros más usados en la elaboración de películas comestibles; entre ellos destacan el almidón, la celulosa y el quitosano. Los polisacáridos son una buena opción debido a su fácil biodegradabilidad y su adquisición relativamente económica (Vázquez y col., 2019). Sin embargo, las propiedades de barrera de los polisacáridos se ven afectadas por la humedad, por lo que regularmente se busca la elaboración de matrices a base de la mezcla de lípidos y polisacáridos o la combinación de diferentes carbohidratos complejos (Slavutsky y Bertuzzi, 2015).

### 1.4 Celulosa

La celulosa es el polímero más abundante en la naturaleza y está conformado por unidades de anhidroD-glucopiranosas, unidas por enlaces beta glucosídicos. Contiene regiones altamente ordenadas, cristalinas y regiones amorfas (Amaral y col., 2020). Este polisacárido se encuentra de manera significativa en las plantas ya que constituye en gran porcentaje la pared de células vegetales. Además, la podemos encontrar en la madera, fibras naturales como el lino y algodón, así como en el papel donde por lo general está en combinación con lignina y hemicelulosa (Lavanya y col., 2011).

Algunos de los principales métodos de obtención de celulosa son: extracción mediante líquidos iónicos, que consiste en el uso de sales iónicas termoestables que sirven como disolventes de compuestos polares, no polares, orgánicos e inorgánicos, por lo tanto, funcionan como disolvente de biomasa lignocelulósica. El método Kraft consiste en la extracción de fibras de celulosa a partir de la disminución del tamaño de la partícula, tratamiento alcalino y blanqueamiento. El método de fraccionamiento que se utilizará en el presente trabajo se basa en

lavados con HCl, NaOH e hipoclorito de sodio para el aislamiento de la celulosa (Szymanska y col., 2017; Zambrano y col., 2021; Silguero, 2022). El Cuadro 1 muestra algunas de las aplicaciones de la celulosa en diversas industrias, sin mencionar su uso en la elaboración de recubrimientos comestibles en la industria alimenticia.

Cuadro 1. Aplicaciones de la celulosa en la industria biomédica, de la biorremediación, del papel y la pirotécnica.

Industria	Producto	Función	Referencia
Biomédica	Membranas de acetato de celulosa	Terapias de purificación de sangre. Ejemplos: Hemodiálisis y hemodiafiltración.	Mikaeili y Gouma, 2018
Biorremediación	Películas de celulosa	Remoción de cationes de metales pesados	Fuentes, 2018
Papelera	Papel y cartón reforzado	Alternativa de agente de refuerzo, en lugar del refino convencional	Espinosa, 2019
Pirotécnica	Pólvora para armas, propulsores para cohetes	Explosiva	Criollo, 2018

Las nuevas tendencias tecnológicas e ingenieriles han optado por el uso de nanomateriales biodegradables en la elaboración de empaques comestibles debido a su baja densidad y elevada área de contacto efectiva. Esto repercute directamente en la mejora de las propiedades de barrera, mecánicas y estabilidad térmica de las películas (García, 2020). En específico, los nanocristales de celulosa poseen diámetros entre 3 y 20 nm y longitudes de 100 a 600 nm (Rebouillat y Pla, 2013). Además, estos nanocristales poseen grupos OH en su superficie que sirven como sitios para realizar modificaciones tales como oxidación, esterificación, entre otros, que podrían brindarles nuevas características y propiedades a los nanocristales (Peralta, 2021).



### 1.5 Zanahoria (*Daucus carota*)

La zanahoria es un vegetal que presenta una elevada composición de minerales y vitaminas, pero los componentes principales de este alimento son el agua y los carbohidratos. De acuerdo con Hernández y Blanco (2015), el porcentaje de carbohidratos que se encuentra en polvos de zanahoria deshidratada es de 63.27 %. Dentro de ese contenido y variedad de hidratos de carbono podemos encontrar fibra cruda o fibra dietética (lignina, hemicelulosa, celulosa, pectinas, mucílagos y gomas). La fibra cruda no se puede digerir mediante hidrólisis enzimática en el tracto gastrointestinal, sino que es catabolizada por la microbiota intestinal (Tirador y col., 2011).

Diversos estudios han determinado que el contenido de polisacáridos en zanahorias crudas es de 2.4 % del peso fresco y del 19.5% en peso seco (Englyst y Cummings, 1988; Holland y col., 1991). Mientras que Gopalan y col. (1991), reportaron un contenido de fibra total de 1.2 % e igualmente aluden a un porcentaje de fibra cruda de 2.4 %. De ese porcentaje de fibra cruda que oscila entre el 1 y 3 % del peso fresco de la zanahoria cruda, Kochar y Sharma (1992) reportan un 71.7 % de celulosa, 15.2 % de lignina y un 13 % de hemicelulosa.

La zanahoria se encuentra dentro de las más importantes hortalizas cosechadas a nivel mundial, siendo México uno de los principales países productores; habiendo producido 336,616 toneladas en 2018 (SIAP, 2022). Querétaro se encuentra entre las cinco entidades federativas con mayor producción de zanahoria en el territorio nacional con una producción de 21,524.4 toneladas en 2018. El 30 % de esta producción anual se considera desecho ya que no cumple con los estándares estéticos del producto fresco; el 20 % de estos desechos es usado para la elaboración de zumos y la parte fibrosa que sobra es

secada y transformada en harina para la industria de la confitería; asimismo, estos desechos se usan como fertilizante natural en la agricultura (Traxco, 2014). El 80% restante de los residuos de zanahoria solo ocasionan la degradación del suelo debido a su proceso de descomposición y podredumbre; de ahí la importancia de encontrar alternativas de uso para estos desperdicios.

### 1.6 Películas a partir de celulosa

Las películas de celulosa tienen mucho potencial debido a la abundancia del polisacárido y a su biodegradabilidad (Barrera y col., 2021). En los últimos años se ha optado por la extracción de este biopolímero a partir de diferentes fuentes naturales, con el fin de usar el producto en diversos procesos. En el Cuadro 2, se muestran algunas aplicaciones de películas comestibles que incorporan celulosa y están relacionadas con el presente trabajo.

Cuadro 2. Aplicaciones de recubrimientos que incluyen a la celulosa como componente de su matriz.

Recubrimiento	Aplicación	Referencia
Celulosa-Glicerol	Materiales electrónicos y biosensores	Van y Lee, 2021
Celulosa-Quitosano-NPs-Ag	Membranas degradables resistentes a la bioincrustación	Espinosa y col., 2020
Celulosa bacteriana	Biopelículas	Alata y col., 2019

En las películas comestibles se usa ampliamente la celulosa o sus nanopartículas para reforzar la película hecha de otros materiales como el almidón, mejorando las propiedades de barrera y mecánicas, como la resistencia a la tensión (Gómez y Jiménez, 2021).

## 1.7 Almidón

El almidón es un compuesto formado por monómeros de glucosa y representa un elemento muy importante en la dieta humana, ya que conforma la mayor fuente de carbohidratos consumidos (Villarreal y col., 2018). Es la principal fuente de reserva de energía en cereales y tubérculos (Benelli y col., 2019). El almidón está constituido por dos estructuras específicas, la amilosa que es un polímero lineal de glucosas unidas por enlaces  $\alpha$  1-4 y la amilopectina que funge como el componente principal del almidón normal, con una estructura ramificada unida por enlaces  $\alpha$  1-6 (Valdivieso y Mollinedo, 2021).

Con el fin de mejorar la alimentación del humano, se ha optado por desarrollar alimentos con características funcionales, es decir, alimentos naturales y transformados que tienen un beneficio potencial para la salud, como la prevención de enfermedades. Tal es el caso de los almidones resistentes desarrollados a partir de almidones nativos. Estos almidones tratados con tecnologías industriales han sido usados en el desarrollo de alimentos prebióticos y como intervención dietética para personas con diabetes tipo II, para el favorecimiento en la disminución de los niveles de glucosa e insulina postprandial al limitar la digestión del almidón gracias al aumento de la resistencia de este, por mencionar algunos ejemplos (Lau y col., 2016).

En el Cuadro 3 se pueden apreciar algunas de las principales modificaciones que se realizan en almidones nativos para mejorar su resistencia, así como ejemplos experimentales de estos.

Cuadro 3. Principales almidones modificados químicamente y sus características.

Almidón	Características	Referencia
Almidón ceroso	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Capacidad de absorción de agua mayor. Buena retención de agua.</li> <li>• Resistente a retrogradación.</li> <li>• Mayor estabilidad en su estructura.</li> <li>• Mayor velocidad de hidratación.</li> <li>• Estable a congelación-descongelación.</li> <li>• Aumenta la viscosidad de alimentos o bebidas adicionados con él.</li> </ul>	Quiroz, 2019.
Almidón de milo y maíz acetilado	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumento en el poder de hinchamiento conforme el grado de acetilación se incrementa.</li> <li>• Aumento de la viscosidad aparente.</li> <li>• Disminución de la temperatura de gelatinización.</li> <li>• Menor porcentaje de liberación de agua (mayor estabilidad).</li> <li>• Aumento en la capacidad de sorción (captación de agua).</li> <li>• Mayor estado de agregación y ruptura de la estructura del gránulo.</li> <li>• Menor tamaño de partícula.</li> <li>•</li> </ul>	Sulbarán y col., 2018.
Almidones esterificados con Anhídrido Acético, Octenil Succínico Anhidro (OSA)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Incremento de tamaño de los gránulos.</li> <li>• Aumento de la hidrofobicidad.</li> <li>• Superficies rugosas. Lados porosos.</li> <li>• Menores temperaturas de gelatinización.</li> <li>• Menores temperaturas de formación de pasta.</li> <li>• Mayor viscosidad.</li> </ul>	Fonseca y col., 2018.
Almidón oxidado	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mejor hidratación.</li> <li>• Baja viscosidad.</li> <li>• Modificación de su color (blanqueo).</li> <li>• Mínima retrogradación.</li> <li>• Mayor temperatura de gelatinización.</li> <li>• Mayor absorción de agua. Mayor poder de hinchamiento.</li> <li>• Menor viscosidad.</li> <li>• Menor porcentaje de agua liberada.</li> </ul>	Arenas y Pedraza, 2017.

Dentro de los almidones resistentes se encuentra la categoría de almidones modificados, que a su vez se pueden clasificar de acuerdo con el cambio que presentan; pueden ser modificaciones químicas, físicas, enzimáticas y/o genéticas (Ding, 2016). Los almidones modificados químicamente son indigeribles por las amilasas debido a que contienen enlaces químicos diferentes en virtud de acetilaciones, reticulaciones, esterificaciones, oxidaciones entre otras modificaciones (Andrade y col., 2021). Estos cambios estructurales en algunos almidones modificados favorecen la formación de películas que pueden utilizarse para aumentar la vida de anaquel de un alimento.

#### 1.7.1 Almidón acetilado-entrecruzado

Los almidones acetilados presentan mayor hidrofobicidad, por lo tanto, su solubilidad es menor. Esto a su vez se traduce en una disminución de la capacidad de humectación de los alimentos recubiertos con películas cuya matriz es a base de almidón acetilado; además, este material posee mayor resistencia a la deformación (López, 2011).

Como se menciona en el Cuadro 3, los almidones acetilados han demostrado tener una menor temperatura de gelatinización debido a que esta modificación permite una pronta ruptura de la estructura de la amilopectina, facilitando la formación del gel.

Sin embargo, para el caso de los almidones acetilados-entrecruzados se han observado temperaturas de gelatinización diferentes, debido a que mientras el proceso de acetilación disminuye el valor de este parámetro, el entrecruzamiento lo aumenta gracias a la formación de nuevos enlaces intermoleculares, brindando una mayor estabilidad a la molécula; por lo que, el

almidón acetilado-entrecruzado presenta rangos de temperatura de gelatinización intermedios (Arredondo, 2012).

Yue y Waring (1998) reportaron una mayor estabilidad ante la degradación mecánica y térmica del almidón acetilado-entrecruzado con respecto a los almidones nativos. El uso de almidones acetilados en la elaboración de películas comestibles ha dejado en evidencia la alta permeabilidad de esta debido a las porosidades mismas que brindan a la película un aspecto opaco y rugoso. Además de que dicha modificación en los almidones retrasa su degradación (Singh y col., 2007).

La FDA estipula que los límites permitidos de grupos acetato en almidones acetilados con anhídrido acético, no debe ser mayor al 2.5 %. Mientras que para los almidones entrecruzados con cloruro de fosforilo (oxicloruro de fósforo), trimetafosfato de sodio (STMP) y anhídrido mixto acético adípico, los límites permitidos son 0.1 %, 1 % y 0.135 % en base al peso del almidón, respectivamente (Tupa, 2019).

### 1.8 Películas a base de almidón

El almidón posee diversas ventajas en su uso para la elaboración de películas comestibles, es barato, accesible y biodegradable (Pagno y col., 2015). Las principales características de las películas elaboradas a partir de este polisacárido son de una tonalidad clara y transparente, flexibles y es este componente el que brinda soporte a la matriz de la película (Anchundia y col., 2016). La amilosa es la estructura responsable de la baja permeabilidad al oxígeno de las películas; sin embargo, las propiedades de barrera a la humedad no son las mejores debido a su alta hidrofiliidad (Miller y Krochta, 1997). Por otra

parte, se ha demostrado que cuando el almidón posee un alto contenido de amilosa (gracias a técnicas de ingeniería genética) resultan películas elásticas y resistentes (Liu y Han, 2005). Pero a pesar de ello, regularmente las películas de almidón resultan ser quebradizas y con pobres propiedades mecánicas (Enríquez, 2012).

Las películas a base de almidón han sido utilizadas principalmente para la conservación de alimentos debido a que permiten controlar la respiración de los alimentos tales como frutas y vegetales (Vázquez y col., 2019). Además, han sido utilizadas en el acolchado ("*mulching*" en inglés) en prácticas agronómicas de cobertura del suelo que tiene el objetivo de proteger al mismo, favorecer el crecimiento de microorganismos encargados de la mineralización de los cultivos y el desarrollo de cosechas más sostenibles (Versino y García, 2018).

#### 1.9 Plastificantes en películas

Los plastificantes son sustancias de bajo peso molecular, cuya función dentro de una película es reducir la fragilidad de ésta, así como aumentar su flexibilidad (Bastidas, 2016). La concentración de este aditivo en las películas es de muy importante, ya que muy bajas concentraciones promueven la fragilidad de la película, mientras que concentraciones muy altas dificultan despegar la película del molde en el que se secaron ya que el plastificante incrementa la adherencia y elasticidad (Moncayo y col., 2016). Los plastificantes más estudiados para la elaboración de recubrimientos comestibles son el glicerol y el sorbitol (Brandao y Peña, 2012). Algunos otros que son menos usados son el xilitol e incluso el agua residual puede funcionar como plastificante para películas hidrofílicas (Sánchez y col., 2014).

### 1.9.1 Sorbitol

El sorbitol es un alcohol hexahídrico de cadena abierta de seis carbonos y seis grupos hidroxilos, cada uno unido a uno de los carbonos que conforman a la molécula. Generalmente se encuentra en forma de un polvo cristalino, blanco, inodoro y ligeramente dulce (Li y col., 2018). En la industria farmacéutica se ha usado como excipiente en las formulaciones de distintos fármacos, principalmente debido a que es comestible y seguro (Andrade y col., 2019). En el área de alimentos, el sorbitol, al igual que el glicerol, se usa en las formulaciones de películas comestibles para mejorar o modificar la solubilidad, las propiedades de barrera, la permeabilidad al vapor de agua, la luminosidad, el espesor, la flexibilidad y la extensión de la película (González y col., 2017).

### 1.10 Agentes antimicrobianos

Las películas comestibles no solo pueden servir para mantener una barrera física entre los alimentos y el ambiente, también pueden contener aditivos que aporten distintas propiedades benéficas para la salud. Hoy en día, se ha optado por el uso de distintos compuestos antimicrobianos (aceites esenciales, ácidos orgánicos, nisina, etc.) que mejoran la calidad de los alimentos alargando su vida útil (Abdollahzadeh y col., 2021). Este tipo de empaques reciben el nombre de envases activos, pues interactúan con el alimento y modifican ciertas condiciones. Uno de sus principales objetivos es evitar el desperdicio de alimentos gracias a los antimicrobianos que retardan el crecimiento de microorganismos patógenos (Wyrwa y Barska, 2017).

Estudios han demostrado que los antimicrobianos incorporados en una matriz de película comestible son más eficientes en comparación con la incorporación del aditivo por sí solo y directo sobre el alimento. Su concentración



en la película suele ser del 0.005 % al 1 % del peso de la mezcla. Por su parte, se recomienda hacer uso de tres capas de película. La primera, que está en contacto directo con el alimento, regula la migración del antimicrobiano contenido en la segunda capa; mientras que la tercera capa evita la circulación del compuesto activo hacia el exterior (Firouz y col., 2021).

Sin embargo, a pesar de que los aceites esenciales han demostrado una buena actividad antimicrobiana, también se ha encontrado que la incorporación de estos aditivos en películas comestibles ocasiona la reducción de la fuerza de tensión, lo que se traduce en una menor resistencia a la tracción; así como también disminuyen el módulo de elasticidad de las películas (Du y col., 2009). Además, Sánchez y col., (2014) encontraron una alta volatilidad (incluso a temperatura ambiente) de los aceites esenciales en las películas. Por otra parte, se ha encontrado que la nisina reduce su actividad antimicrobiana en presencia de grasas y proteínas de los alimentos (Cano y col., 2015). Es por ello que, se ha optado por la búsqueda y el uso de otros compuestos antimicrobianos que no afecten las propiedades físicas y mecánicas de la película. Tal es el caso de las nanopartículas de plata (NPAg) que han tenido su auge en las últimas décadas; demostrando una importante actividad antimicrobiana en relación con su superficie-volumen, cuyo diámetro suele rondar entre 1 y 100 nm. Son relativamente económicas y con baja citotoxicidad. Se ha popularizado el uso de las nanopartículas en diferentes aplicaciones biomédicas, tal es el caso de su incorporación en resinas acrílicas en prótesis dentales, cremas para el tratamiento de quemaduras, entre otras (Bruna y col., 2021; Xiaoxue y col., 2020).

### 1.10.1 Nanopartículas de plata (NPAg)

Aunque no se conoce por completo el mecanismo de acción de las NPAg, se cree que se unen a la pared celular del microorganismo por atracción electrostática, causando la formación de poros y otros cambios morfológicos como la inactivación de las enzimas que participan en el ciclo respiratorio, la unión de las nanopartículas a proteínas de azufre y la interacción con el contenido genético, provocando daño celular incluso en bacterias multirresistentes (Liao y col., 2019). Por otra parte, Lu y col. (2013) mencionan que las NPAg de 5 nm poseen una importante actividad antibacteriana a 25 y 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Agnihotri y col. (2014) corroboran que entre menor sea el tamaño de partícula es menor la concentración que se requiere para obtener una actividad antimicrobiana significativa. Por otra parte, Zarei y col. (2014) encontraron que las concentraciones mínimas inhibitorias para *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella Typhimurium* fueron de 3.12, 6.25 y 3.12  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectivamente. Siendo de 6.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  la concentración mínima bactericida para los tres microorganismos.

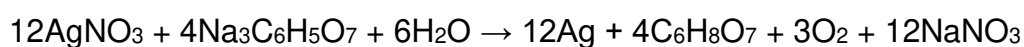
La actividad antimicrobiana que poseen sigue un mecanismo diferente en bacterias Gram (-) y Gram (+), principalmente debido a que las cargas negativas de los lipopolisacáridos que componen la pared celular de las primeras favorecen la unión de las NPAg (cuya carga es positiva) a las bacterias, provocando un mayor efecto en este tipo de microorganismos (Montes y col., 2019). Bahrami y col. (2019) reportaron que el uso de aditivos de carácter nanométrico favorece las propiedades de barrera (para el caso de los componentes principales de la película) y las propiedades antimicrobianas de las NPAg.

Debido a la efectividad de las NPAg como agente antimicrobiano, resultan una alternativa en la elaboración de películas activas comestibles, sin exceder lo establecido por Salomoni y col. (2017). Estos investigadores, basados en la norma ISO 10993-5 encontraron que una concentración de 10 µg/mL de NPAg resulta ser citotóxica en fibroblastos de ratón NCTC 929, células tumorales HeLa y células HepG2, todas líneas celulares de mamíferos.

Según lo reportado por Dong y col. (2019), cuanto menor es el tamaño de las nanopartículas, más aglomeración se evidencia. Ellos atribuyen este fenómeno a la gran fuerza intermolecular que existe entre partículas de tamaño muy pequeño debido a su gran área de superficie específica de contacto, lo que resulta en una dispersión inestable.

El potencial zeta evalúa la intensidad de la fuerza de repulsión o atracción electrostática en la doble capa eléctrica que rodea a una nanopartícula en solución. Una vez que se conoce este parámetro para una dispersión, emulsión o suspensión es posible inferir su estabilidad, debido a que se conocen valores límites de potencial zeta que determinan el nivel de dispersión o agregación que pueden presentar las partículas en cuestión (Malvern Panalytical, 2023).

En este proyecto se llevó a cabo una síntesis química para la obtención de las NPAg, donde los reactivos iniciales se transformaron mediante reacciones de reducción y oxidación, como se observa en la reacción que se muestra a continuación.



Para este tipo de procesos se requieren tres componentes esenciales: un precursor metálico, un agente reductor y un disolvente; para este caso se usaron

nitrate de plata ( $\text{AgNO}_3$ ), citrate de sodio ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ) y agua, respectivamente (Pryshchepa y col., 2020).

Los métodos químicos para la síntesis de nanopartículas son de los más sencillos de realizar; además tienen un muy buen rendimiento en comparación con los métodos físicos. La manera en la que se obtiene la plata en su estado metálico es mediante la reducción de los iones de  $\text{Ag}^+$  gracias a los electrones donados por el citrate de sodio (agente reductor). Finalmente, la plata se agrega para formar las nanopartículas (Almatroudi, 2020).

## **2. HIPÓTESIS**

La adición de NPAg a películas a base de celulosa de *Daucus carota* y almidón acetilado entrecruzado, permitirá la elaboración de empaques activos que pueden preservar la calidad de los alimentos y aumentar su vida de anaquel, ya que éstas poseen actividad antimicrobiana.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 General

Elaborar un empaque activo a base de almidón y celulosa extraída de desechos de zanahoria (*Daucus carota*) adicionado con NPAg como agente antimicrobiano.

#### 3.2 Específicos

- Extraer y cuantificar celulosa de subproductos de zanahoria para su posterior uso en la elaboración de películas activas.
- Determinar la actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata (NPAg) ante *Listeria innocua* (proporcionada por el laboratorio de biotecnología en alimentos de la Universidad Autónoma de Querétaro), *Salmonella Typhimurium* (ATCC 14028), *Pseudomonas aeruginosa* (proporcionada por el laboratorio de biotecnología en alimentos de la Universidad Autónoma de Querétaro) y *Escherichia coli* (O157:H7).
- Desarrollar una formulación eficiente de película integrando la celulosa extraída de la zanahoria, almidón acetilado-entrecruzado y NPAg.
- Evaluar la actividad antimicrobiana de las películas adicionadas con NPAg.
- Caracterizar las propiedades físicas del empaque activo.

## 4. METODOLOGÍA

### 4.1 Materiales

Para la extracción de celulosa se utilizaron desechos de zanahorias frescas obtenidas de “Frutería González” (Santiago de Querétaro, Querétaro); Etanol 96 % (v/v) sin desnaturalizar (Alcoholes solubles de México, Europark 2, El Marques, Qro., México), ácido clorhídrico (HCl 34-37%, Fermont, Monterrey, NL, México) 1 M y 0.5 M; hidróxido de sodio 1 M, sorbitol (>98 %), e hipoclorito de sodio al 1 % (Sigma-Aldrich, St. Louis MO, EUA). Almidón acetilado-entrecruzado (Ingredion, San Juan del Río, Qro., México) y ácido acético (Meyer, CDMX, México).

*Escherichia coli* (O157:H7), *Listeria innocua*, *Salmonella Typhimurium* (ATCC 14028) y *Pseudomonas aeruginosa*, fueron proporcionados por el laboratorio de Biotecnología en Alimentos de la Universidad Autónoma de Querétaro. Los medios utilizados fueron caldo soya tripticaseína para *E. coli*, *S. Typhimurium* y *P. aeruginosa*, y caldo de enriquecimiento para *Listeria innocua* (BD, Cuautitlán Izcalli, México).

Para la síntesis de NPAg y su purificación se usaron nitrato de plata, citrato de sodio (Jalmek, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México), ácido nítrico (ácido nítrico 65 %, J.T. Baker, Phillipsburg, NJ, EUA), Triton X-100 (USB Corporation, Cleveland, OH USA), tiocianato de amonio (Honeywell, Monterrey, Nuevo León, México) y sorbitol (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA).

### 4.2. Métodos

#### 4.2.1 Extracción de celulosa en zanahoria

La extracción de celulosa se realizó de acuerdo con Szymańska y col. (2017). Se utilizó el bagazo de zanahoria que surgió como subproducto de la preparación de jugos de esta materia prima y se realizó un pretratamiento para la

extracción de betacarotenos. Se colocaron los residuos de zanahoria en una solución de etanol (96 %, v/v) en una proporción 1:1.5 (p/v), respectivamente, y se agitó en una parrilla (Thermo Scientific, SP131325, Waltham, MA, EUA) durante 3 h a temperatura ambiente ( $\approx 25$  °C). Luego se dejó sedimentar para posteriormente decantar. Se realizó un segundo lavado con la misma proporción zanahoria:etanol, con agitación durante 1 h.

La extracción de celulosa se realizó a partir del residuo de zanahoria utilizado para la extracción de betacaroteno, el cual se secó durante toda la noche en un horno (Felisa, FE-291, San Juan de Ocotán, Zapopan, Jalisco, México) a 40 °C. Una vez transcurrido el tiempo, se pesó y se agregó agua caliente en una proporción 1:6 residuo:agua (p/v); esta mezcla se llevó a ebullición por 10 min y posteriormente se filtró, desechando el filtrado.

A la torta se le agregó una solución de HCl 1 M en proporción 1:6 torta:HCl (p/v), se agitó durante 30 min a 85 °C y se filtró; este paso se repitió con una solución 0.5 M de HCl en la misma proporción, para posteriormente agitar a 85 °C por 30 min en una solución de NaOH 1 M, en la proporción 1:6 torta:NaOH (p/v), repitiendo este paso 2 veces más.

Después del tratamiento alcalino se inició el blanqueamiento, para el cual se usó una solución al 1 % de hipoclorito de sodio en la proporción 1:6 torta:hipoclorito (p/v), se agitó por 60 min a 95 °C y este paso se repitió con una nueva solución de hipoclorito de sodio al 1% y en la misma proporción antes mencionada. El residuo se lavó tres veces con agua destilada caliente por 1 h, hasta obtener un pH neutro cada vez y se centrifugó a  $3214 \times g$  a 25 °C durante 40 min (Eppendorf 5810R, SE, Hamburgo, Alemania). Se decantó el



sobrenadante y el precipitado se secó por 12 h a 40 °C en el un horno de convección forzada (Felisa).

#### 4.2.2 Elaboración de nanopartículas de plata (NPAg)

La síntesis química de las NPAg se llevó a cabo como lo describe Rodríguez y col. (2022) con algunas modificaciones. Se preparó una solución de 75 mL de  $\text{AgNO}_3$  1 mM y se agitó durante 30 min. Después se agregaron 24 mg de citrato de sodio como agente reductor y se agitó la mezcla por 25 min. Se colocó la solución en un horno de microondas Midea, Mod. MMDF07S2WW, de 1050 W de potencia (Beijiaozhen, Foshan, China), a un 50 % de su potencial máximo, en ciclos de 15 s hasta sumar 4 min (o hasta que la mezcla alcanzó un color marrón oscuro), lo que indicó el término de la reacción de reducción y con un reposo de 15 s entre los ciclos dentro del microondas. La mezcla se almacenó a 4 °C en la oscuridad para evitar la aglomeración de las nanopartículas.

#### 4.2.3 Caracterización de las NPAg

##### 4.2.3.1 Espectroscopia UV-VIS

La identificación de las NPAg se evaluó por espectroscopia UV-VIS en un espectrofotómetro Genesys 10 UV (Thermo Scientific, Waltham. MA, EUA) realizando un barrido en el rango de 300-800 nm de longitud de onda (Real, 2019).

##### 4.2.3.2 Tamaño de partícula y potencial zeta

El tamaño de partícula se determinó utilizando un difractómetro láser Zetasizer Nano-ZS (Malvern, Worcestershire, Reino Unido) a una longitud de onda de 633 nm y 25 °C, equipado con un detector de retrodispersión (173 °C). Las emulsiones fueron previamente diluidas en agua ultrapura usando un factor de dilución de 1:9.

El potencial zeta de las NPAg se determinó usando la técnica de dispersión de luz dinámica (DLS) con el difractómetro Zetasizer Nano-ZS (Malvern). Este equipo evalúa la carga eléctrica que se tiene en la interfaz de las partículas dispersas en la fase acuosa. Para la determinación se hicieron diluciones (1:9) en agua ultrapura (Oñate y col., 2018).

#### 4.2.3.3 Cuantificación de NPAg mediante espectroscopia de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente

Se realizó un tratamiento previo a la cuantificación de NPAg mediante espectroscopía de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES). Esta es una técnica sensible y precisa para la detección de trazas de elementos en muestras líquidas; funciona a partir de un plasma energético y eléctricamente neutro que excita a los átomos de la muestra provocando la emisión de fotones (Jiménez y col., 2020).

El procedimiento realizado se basó en la metodología descrita por López y col., (2014) con algunas modificaciones. A 20 mL de la solución madre de NPAg se le agregaron 0.1 mL de una solución de ácido nítrico 0.1 M y la mezcla se calentó por 2 min a 80 °C.

Posteriormente, se añadieron 0.2 mL de una solución 1 M de tiocianato de amonio, 0.5 mL de una solución de Triton X-100 (30 % p/v) y la mezcla se agitó durante unos segundos y se mantuvo a 40 °C durante 10 min. Se colocó en un tubo cónico y se centrifugó a 3214 x g durante 5 min a temperatura ambiente ( $\approx 25$  °C). Después de este tratamiento se formó un pellet en los tubos cónicos con las muestras, éste contenía las NPAg. Se recuperó el sobrenadante.

Se cuantificó la plata metálica ( $\text{Ag}^0$ ) presente en la muestra madre de nanopartículas y la Ag (I) presente en el sobrenadante recuperado anteriormente.

De tal forma que la cantidad de plata cuantificada por la técnica ICP-OES en la muestra madre fue la cantidad de plata total, es decir, incluyendo Ag (I) y la propia plata metálica perteneciente a las nanopartículas. El valor obtenido para el sobrenadante perteneció únicamente a los iones Ag (I), proveniente del AgNO<sub>3</sub> que no se convirtió en nanopartículas durante su síntesis. Al hacer la resta de estos dos valores, se obtuvo la cantidad de plata que formaba a las nanopartículas que se quedaron en la pastilla.

#### 4.2.3.4 Evaluación del efecto antimicrobiano de las NPAg

Para la actividad antimicrobiana se realizaron curvas de crecimiento con y sin NPAg mediante densidad óptica ( $A_{600\text{ nm}}$ ). El efecto antimicrobiano de las NPAg se evaluó contra *S. Typhimurium*, *L. innocua*, *P. aeruginosa* y *E. coli*. Las bacterias se activaron durante 5 h a 37 °C, hasta alcanzar la fase logarítmica.

Luego, se inocularon 10<sup>6</sup> UFC/mL de cada microorganismo en caldo soya tripticaseína para *S. Typhimurium*, *P. aeruginosa* y *E. coli*, y caldo de enriquecimiento para *L. innocua*. Se agregaron NPAg a tres concentraciones (1, 5 y 8 µg/mL). Las lecturas de absorbancia ( $A_{600\text{ nm}}$ ) se registraron cada hora y se obtuvo la concentración mínima inhibitoria (MIC), la cual representa la mínima concentración que inhibió el desarrollo microbiano (Rodríguez y col., 2022).

#### 4.2.4 Diseño de mezclas

El diseño de mezclas (Cuadro 4) se realizó con el programa Minitab 20.3 (R2010a, Natick, MA, EUA). Se desarrolló un diseño de mezclas reticular simple, considerando que la cantidad máxima de almidón más celulosa sería de 3 %. El resto de la formulación se realizó de acuerdo con el Cuadro 4.

Cuadro 4. Diseño de mezclas.

Almidón (%)	Celulosa (%)
3	0
0	3
0	0
1	1
2	0.5
0.5	2
0.5	0.5

#### 4.2.5 Elaboración de películas

La elaboración de películas con la celulosa extraída de zanahoria se realizó como lo reporta Corsello y col. (2015) con algunas modificaciones. Los porcentajes manejados son respecto al volumen total de la mezcla para películas. Se preparó una dispersión de la celulosa extraída al 0.5 % (p/v) en ácido acético al 0.5 % (v/v), la cual se sonicó durante 20 min en un equipo Branson (Mod. 5510, Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA). Posteriormente se homogeneizó la mezcla mediante un Ultra-Turrax (IKA, T-25 Basic, Staufen, Alemania) durante 20 min a temperatura ambiente y 13,500 rpm ( $\approx 25$  °C). La muestra se mantuvo en reposo durante 10 min y se homogeneizó nuevamente por 20 min a 13,500 rpm ( $\approx 25$  °C). Después, la solución se mezcló en un procesador ultrasónico (Sonics & Materials, Vibra Cell VCX500, CT, EUA) por 20 min. Los diferentes ciclos se realizaron con la finalidad de reducir el tamaño de partícula de la celulosa extraída de los residuos de zanahoria.

Se elaboró una dispersión de almidón al 1 % (p/v) en agua calentando en una parrilla (Thermo Scientific) a 200 °C por 30 min; transcurrido este tiempo se adicionó sorbitol en una concentración final de 0.5 % (p/v). La solución de celulosa se agregó por goteo a la solución de almidón y se homogeneizó mediante

agitación magnética durante 15 min a 85 °C. Posteriormente, se vertió la mezcla en moldes de silicón redondos de 10 cm de diámetro y se secaron a 35 °C durante 72 h en estufa (Thermo Scientific Mod. SP131325).

#### 4.2.6 Caracterización del empaque activo

##### 4.2.6.1 Grosor de la película

El grosor se midió con un micrómetro (Mitutoyo IP65, Naucalpan de Juárez, Edo. de Méx, México) (Wahidin y col., 2021). Se midieron 5 puntos al azar de la película para obtener un valor representativo de la muestra completa.

##### 4.2.6.2 Solubilidad

La solubilidad de las películas en agua se llevó a cabo como lo describe Liu y col. (2020). Las películas se cortaron en cuadrados de 3x3 cm y se secaron durante 30 min a 50 °C en un horno, hasta obtener un peso constante. Las muestras secas se colocaron en 50 mL de agua destilada durante 24 h a temperatura ambiente ( $\approx 25$  °C) en agitación constante en un agitador de balanceo (SSM4, Stuart, Staffordshire, Reino Unido). Una vez transcurridas las 24 h, las muestras se filtraron con papel filtro Whatman No. 4 (Little Chalfont, Buckinghamshire, Inglaterra) y se secaron en horno (Felisa) a 105 °C durante 24 h. Se pesaron y la solubilidad se determinó mediante la Ecuación (1).

$$WS (\%) = \frac{wd - wf}{wd} * 100 \quad (1)$$

Donde WS es la solubilidad en agua,  $wd$  representa el peso seco inicial en gramos y  $wf$  es el peso seco final en gramos.

##### 4.2.6.3 Permeabilidad al vapor de agua

Para evaluar la permeabilidad de las películas se siguió el método descrito por Gaona y col. (2021). En una celda de vidrio, se colocó agua destilada ( $HR_1 =$

100 %) dejando un espacio vacío de 5 mm sobre la boca del frasco. Se colocó la película a caracterizar y se selló con su respectiva tapa la cual permite un área de transferencia de 0.0384 m<sup>2</sup>. La celda con la película se colocó en una cámara de permeabilidad con control de temperatura a 30 °C que contenía sílica gel (HR<sub>2</sub> = 0 %). Se cuantificó la pérdida de peso de la celda con la película cada minuto durante 12 h utilizando una balanza analítica conectada a una computadora provista con el software necesario para la adquisición de datos. La permeabilidad al vapor de agua (WVP) se calculó mediante la Ecuación (2).

$$WVP = \frac{WVTR}{(S)*(\%RH_1 - \%RH_2)} * L \quad (2)$$

Donde WVTR es pendiente de la curva de velocidad de pérdida de peso en función del tiempo (g/s), multiplicada por el área de la película (m<sup>2</sup>); S representa la presión de vapor de saturación (Pa) a la temperatura de análisis; % RH<sub>1</sub> es el valor de humedad relativa dentro de la celda, mientras que % RH<sub>2</sub> es el valor de humedad relativa (HR) fuera de la celda; L representa el espesor de la película en metros.

#### 4.2.6.4 Propiedades mecánicas

Se siguió el método descrito por Ríos-de-Benito y col. (2021). Se evaluó la resistencia a la fractura (TS), porcentaje de elongación justo cuando ocurre la ruptura y módulo de Young usando un Instrumento de prueba Universal (Instron Engineering, Mod. 5543A, Norwood, MA, EUA). Las películas se cortaron en rectángulos de 4 cm de largo y 1 cm de ancho y se equilibraron durante la noche a 50 % de HR en una cámara ambiental. El experimento se hizo por quintuplicado para cada tipo de película.

#### 4.2.6.5 Caracterización por espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier

Las películas de celulosa, almidón, almidón-celulosa y almidón-celulosa con NPAg fueron caracterizadas mediante FT-IR, de acuerdo con Escamilla-García y col. (2017). Las muestras se analizaron mediante un dispositivo de detección de carga acoplada para un rango espectral de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  (LabRAM IR<sup>2</sup>, Horiba Jobin Yvon, Kioto, Japón). Se realizaron 16 barridos con resolución de 1  $\text{cm}^{-1}$  y se analizaron los datos mediante el programa Spectragryph versión 1.2.16.1.

#### 4.2.6.6 Evaluación del efecto antimicrobiano de las películas

El efecto antimicrobiano de las películas de almidón-celulosa adicionadas con NPAg se evaluó utilizando difusión en agar como lo describe Vignola y col., (2020). Para ello se cortaron círculos de los empaques activos con un diámetro aproximado de 0.7 cm, los cuales se esterilizaron previamente con luz UV. Las películas se colocaron en agar soya tripticaseína para *S. Typhimurium*, *P. aureoginosa* y *E. coli*, mientras que se usó agar *Listeria* para *L. innocua*, previamente inoculados con 0.2 mL del cultivo en fase logarítmica. Las cajas se almacenaron por 48 h a 7 °C para permitir que el agente antimicrobiano difundiera en el medio y después se incubaron a 37 °C durante 48 h en incubadora (Fe-132AD, Felisa, San Juan de Ocotán Zapopan, Jalisco, México). La actividad antimicrobiana se evaluó mediante la presencia o ausencia de halo de inhibición. Como control se utilizó papel filtro estéril.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 Extracción y cuantificación de celulosa en zanahoria

El lavado con agua caliente eliminó polisacáridos solubles, y los lavados ácidos eliminaron polisacáridos del tipo pectina (Szymanska y col., 2017). El pulpeo con NaOH eliminó hemicelulosas, lignina, ceras y resinas; mientras que el blanqueamiento con hipoclorito de sodio eliminó la lignina residual solubilizándola (Cabascango y col., 2021). Dejando a la celulosa como residuo insoluble y obteniendo un buen rendimiento, como se observa en el Cuadro 5.

De acuerdo con Holland y col., (1991), el 2.4 % del peso fresco de la zanahoria corresponde a la fibra cruda, mientras que el 71.7 % de ésta es celulosa (Kochar y Sharma, 1992), por lo tanto, el 1.72 % de la zanahoria fresca es celulosa. Siguiendo la metodología descrita en el apartado 4.2.1, se obtuvo un promedio de  $2.05 \pm 0.00$  % de celulosa extraída; el cual es mayor al 1.72 % antes citado.

En el Cuadro 5 se presentan los valores de rendimiento obtenidos de celulosa a partir de subproductos de zanahoria fresca. La celulosa teórica indica los gramos de celulosa que deberían de haber resultado de la extracción de acuerdo con el porcentaje de 1.72 % de celulosa mencionado por Kochar y Sharma (1992). Mientras que la celulosa experimental representa lo obtenido en este proyecto con el método de extracción descrito en el apartado 4.2.1, correspondiente a un 2.5 % de rendimiento.



Cuadro 5. Rendimiento de celulosa extraída a partir de subproductos de zanahoria fresca.

Peso fresco inicial (g)	Celulosa teórica extraída (g)	Celulosa experimental extraída (g)	Porcentaje experimental (%)
200.93	3.46	4.12	2.05
100.57	1.73	2.06	2.05
100.12	1.72	2.05	2.05
100.50	1.73	2.06	2.05
191.14	3.29	3.92	2.05

Celulosa teórica: corresponde a los gramos de celulosa que se deberían haber obtenido a partir de los gramos de zanahoria en peso fresco, de acuerdo con la bibliografía consultada. Celulosa experimental: gramos de celulosa obtenidos a partir de la zanahoria fresca inicial. Porcentaje experimental: porcentaje de celulosa extraída en este trabajo.

El porcentaje de celulosa y otros polisacáridos presentes en la zanahoria puede variar dependiendo de las prácticas de cultivo, por ello se menciona que su porcentaje de fibra cruda varía entre 1 y 3 %. Además, es muy posible que el valor excedente del promedio de 1.72 % de celulosa en zanahorias frescas, se deba a la presencia de algunos residuos de hemicelulosas y lignina.

## 5.2 Caracterización de las NPAg

### 5.2.1 Espectroscopia UV-VIS

La presencia de NPAg se confirmó mediante espectroscopia UV-VIS, ya que la síntesis de una nanopartícula metálica a partir de su sal produce un pico distintivo con absorciones intensas en la región visible del espectro electromagnético (Almatroudi, 2020). Duque y col., (2018) reportaron en sus muestras picos de máxima absorbancia a los 418 nm en solución de guayaba y a los 440 nm en solución de extracto de árbol de tomate.

Además, Escobar (2015) reportó una absorción a los 427.6 nm usando el método químico de síntesis de nanopartículas con citrato de sodio como agente reductor. Como se observa en la Figura 1, el pico resultante para este trabajo fue de 425.2 nm, con lo que se puede asegurar la presencia de las NPAg con base en la bibliografía consultada.

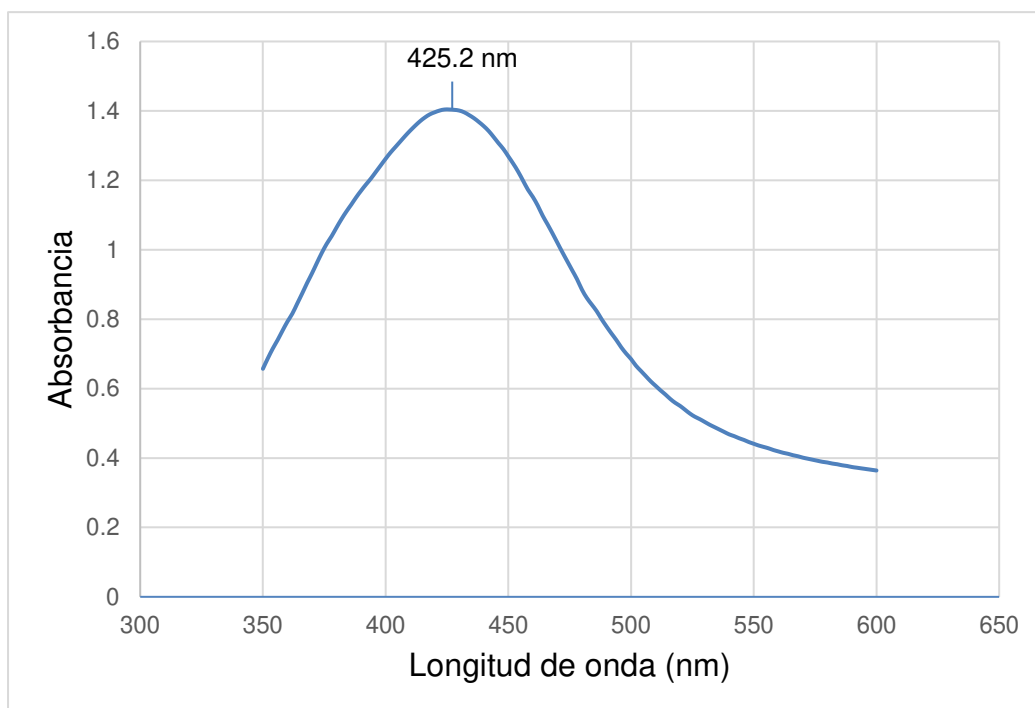


Figura 1. Espectro UV-VIS de las NPAg obtenidas.

De acuerdo con Dawadi y col., (2021) las nanopartículas pequeñas y esféricas absorben en una longitud de onda de 400 nm con picos estrechos, mientras que las nanopartículas de mayor tamaño presentan absorciones en longitudes de onda más largas y con picos anchos. Para este caso, se puede decir que el tamaño se mantiene dentro del rango nanométrico, pero el ancho del pico de absorción demuestra un tamaño de partícula relativamente grande. Estos autores mencionan también que la aparición de picos secundarios en el espectro o la disminución de la intensidad de la señal es un indicativo de la agregación de

las partículas entre sí; en este caso no se encontraron más picos y la intensidad de la señal fue buena, por lo que se interpreta que las nanopartículas no forman grandes agregados.

### 5.2.2 Tamaño de partícula y potencial zeta

El tamaño de partícula y las propiedades de la superficie son características relevantes que determinan la estabilidad de las nanopartículas. A través de estos parámetros es posible determinar si las nanopartículas son propensas a aglomerarse y sedimentar con el paso del tiempo.

Kamshad y col., (2018) indican que una suspensión se vuelve más estable cuando se registra un valor elevado de potencial zeta, mientras que Clogston y Patri (2010), reportan que cuando el potencial eléctrico tiende a cero, las partículas son propensas a agregarse. Se considera que las nanopartículas con valor absoluto  $\leq 10$  mV del potencial zeta son prácticamente neutras, mientras que aquellas con valor absoluto  $\geq 30$  mV se clasifican como altamente cargadas (catiónicas o aniónicas), lo que les otorga una notable estabilidad.

El Cuadro (6) muestra la distribución del tamaño de partícula y el potencial zeta de las nanopartículas preparadas. En promedio, estas partículas se mantienen en la escala nanométrica y su elevado valor absoluto del potencial zeta evita la aglomeración de las nanopartículas, traduciéndose en una suspensión estable.

El potencial zeta de las NPAG se determinó usando la técnica de dispersión de luz dinámica (DLS) con el difractómetro Zetasizer Nano-ZS (Malvern). Este equipo evalúa la carga eléctrica que se tiene en la interfaz de las partículas dispersas en la fase acuosa. Para la determinación se hicieron diluciones (1:9) en agua ultrapura (Oñate y col., 2018).

Cuadro 6. Tamaño de partícula y Potencial Zeta de las NPAg.

Tamaño de partícula (nm)	Potencial zeta (mV)
95.58 ± 4.77	-31.90 ± 1.41

En las muestras medidas, y de acuerdo con los resultados arrojados por el difractómetro láser, más del 70 % de las nanopartículas se mantenían dentro del tamaño promedio, indicando uniformidad en la suspensión. Por otro lado, de acuerdo con la técnica DLS, más del 95 % de cada muestra de NPAg se mantuvo en el promedio del potencial zeta.

### 5.2.3 Cuantificación de NPAg mediante espectroscopia de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)

En el Cuadro 7 se observan los resultados de la cuantificación de las NPAg empleadas en la formación de películas y en las cinéticas de crecimiento de las bacterias estudiadas.

Cuadro 7. Concentración total de plata en la solución de nanopartículas y de plata metálica en las NPAg.

Concentración total de plata en la solución madre de nanopartículas (ppm)	Concentración de plata iónica en el sobrenadante de la solución madre de nanopartículas (ppm)
87.19 ± 4.35	2.52 ± 0.24

Se optó por cuantificar la plata presente en el sobrenadante recuperado del tratamiento para separar y sedimentar las nanopartículas. Para lo anterior, se midió la plata iónica libre que no se transformó en plata metálica, a partir de la sal de AgNO<sub>3</sub>. La concentración de Ag<sup>0</sup> en las NPAg, se calculó restando ambos valores de concentración de plata. Con la técnica ICP-OES se concluyó que la

concentración de NPAg fue de  $84.67 \pm 4.35$  ppm. Ranoszek y col. (2017) determinaron que la concentración de iones de plata en sus soluciones de NPAg elaboradas con citrato de sodio y/o ácido tánico fue de 100 ppm; un valor muy cercano al obtenido en el presente trabajo.

#### 5.2.4 Evaluación del efecto antimicrobiano de las NPAg

Es importante resaltar que no se conoce con detalle el mecanismo de acción antimicrobiana de las NPAg. De acuerdo con Xiaoxue y col., (2020) las NPAg tienen la capacidad de liberar de forma constante iones de plata, lo que se considera que es el principal mecanismo bactericida.

Khorrami y col., (2018) reportan la hipótesis de que las nanopartículas interfieren en el crecimiento bacteriano debido a la atracción electrostática con proteínas azufradas y la afinidad con la pared celular y/o la membrana citoplasmática, aumentando su permeabilidad. Además, Ramkumar y col., (2017) mencionan que los iones  $Ag^+$  liberados por las nanopartículas, pueden provocar estrés en las bacterias, lo cual genera un exceso de especies reactivas de oxígeno (ROS), desencadenando un estrés oxidativo importante en las células (Sachdev y col., 2021).

Li y col. (2019) mencionan que las NPAg por sí solas también pueden destruir bacterias pues tienden a acumularse y esta acción podría ocurrir en las cavidades que forman parte de la pared celular, lo que claramente alteraría la homeostasis del microorganismo.

La Figura 2 muestra las curvas de crecimiento de *L. innocua* (2A), *E. coli* O157:H7 (2B), *S. Typhimurium* (2C) y *P. aeruginosa* (2D), ante diferentes concentraciones de las NPAg sintetizadas, así como un blanco para cada bacteria.

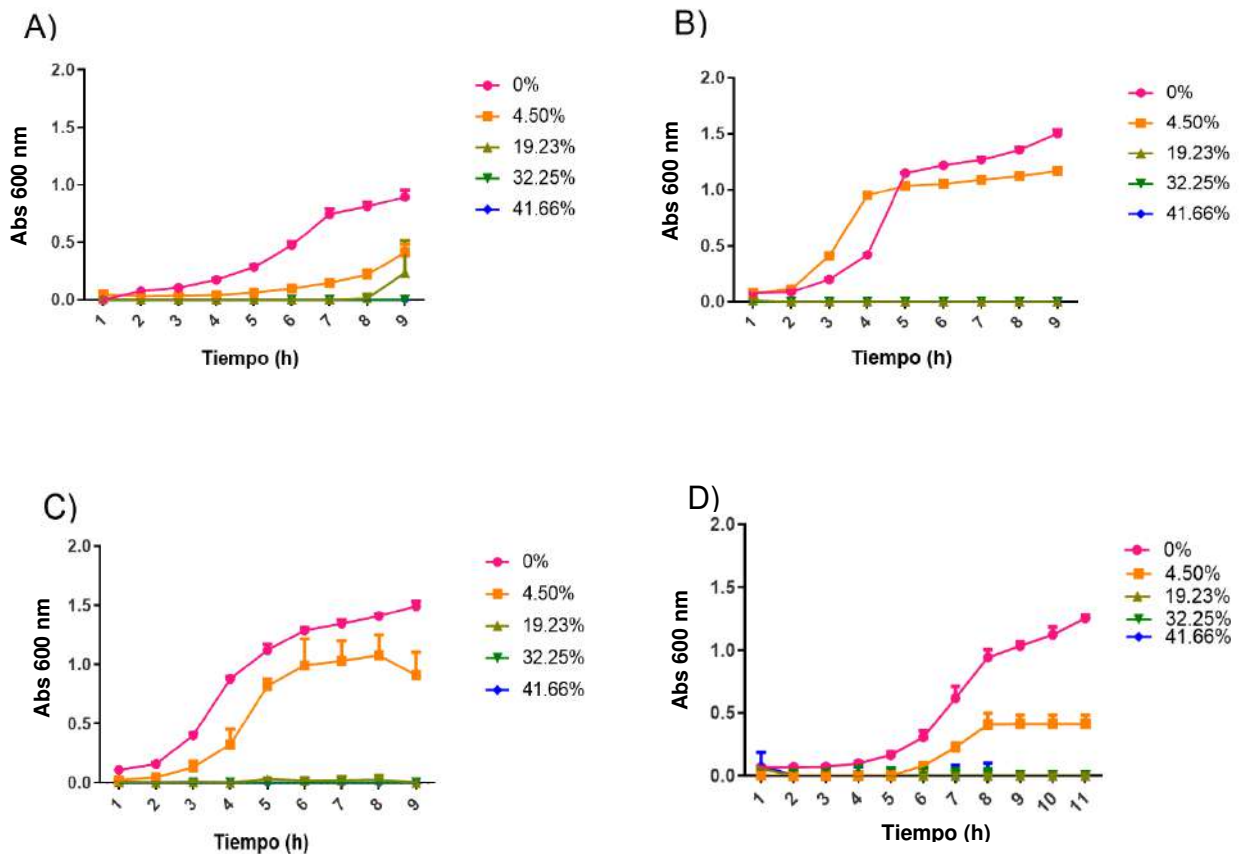


Figura 2. Curvas de crecimiento bacteriano en presencia de NPAg a diferentes concentraciones (en peso) (0.00 %, 4.50 %, 19.23 %, 32.25 % y 41.66 %) para A) *L. innocua*, B) *E. coli* O157:H7, C) *S. Typhimurium* y D) *P. aeruginosa*.

La Figura (2A) muestra el comportamiento de *L. innocua* ante las NPAg y puede deducirse que la inhibición por las NPAg ocurrió entre 19.23 % y 32.25 % en peso. Para las otras tres bacterias Gram (-) evaluadas, se dedujo que el porcentaje de NPAg que ocasionó su inhibición fue del 19.23 %. La bacteria Gram (+) (*L. innocua*) resultó con mayor disminución en el valor de  $A_{600}$  a las 9 h, frente a 4.5 % de NPAg, comparado con las otras cepas, sin embargo, aún mostró una pequeña  $A_{600}$  frente a 19.23 % de NPAg, la cual fue inhibitoria para las otras cepas. Por otro lado, el crecimiento de *L. innocua* sin NPAg fue mucho menor que

el de las otras cepas, con lo cual puede considerarse que el efecto antimicrobiano de las NPAg fue similar para las cuatro cepas.

Las curvas de crecimiento de la Figura 2 permiten demostrar el efecto antimicrobiano que tienen las NPAg frente a bacterias Gram (-) y Gram (+). Dong y col. (2019) demostraron que las NPAg de  $10 \pm 5$  nm inhiben por completo a bacterias con una concentración mínima inhibitoria (CMI) de  $1.0 \mu\text{g/mL}$ , mientras que las partículas de  $90 \pm 5$  nm inhibieron bacterias a una concentración más alta de  $11.5 \mu\text{g/mL}$ . Los autores obtuvieron tamaños de partícula de 10 nm, 30 nm, 60 nm y 90 nm con una desviación estándar de 5 nm para cada promedio, para ello, controlaban y modificaban el valor del pH del sistema pues descubrieron que este parámetro influye en el tamaño de partícula resultante.

En este trabajo se requirió una concentración del antimicrobiano mayor al de otros reportes, debido al elevado tamaño de partícula obtenido de  $95.58 \pm 4.77$  nm. Como ya se mencionó, a menor tamaño de partícula menor concentración para lograr el efecto inhibitorio y/o bactericida. Esto se debe a que las partículas de tamaño muy pequeño tienen un área superficial específica elevada, favoreciendo la interacción entre ellas y el medio. Si bien las NPAg de menor tamaño son más eficientes como agente antimicrobiano, esto puede ocasionar su agregación y posterior sedimentación con el tiempo, es decir, crean una suspensión inestable.

La Figura 3 muestra el efecto antimicrobiano de las nanopartículas de plata representado en términos del tiempo de duplicación de cada bacteria.

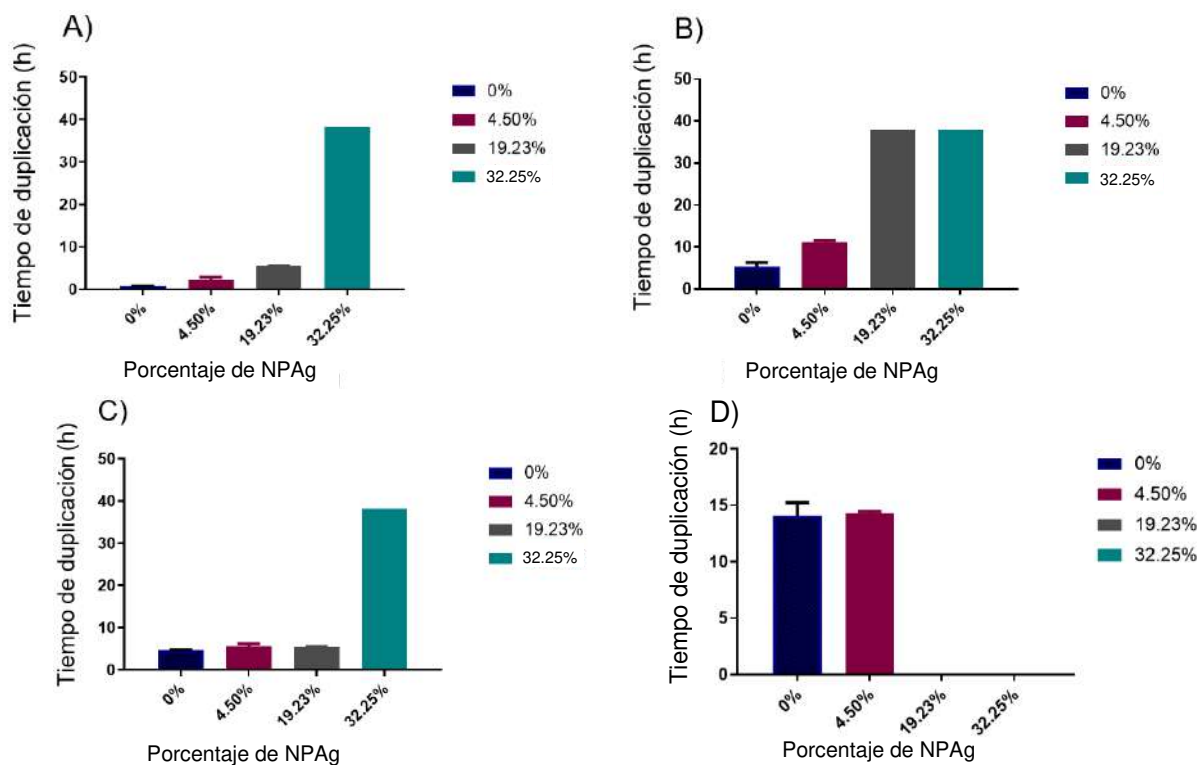


Figura 3. Gráficas de tiempo de duplicación a diferentes concentraciones de NPAg (0.00 %, 4.50 %, 19.23 %, 32.25 % y 41.66 %) para A) *L. innocua*, B) *E. coli* O157:H7, C) *S. Typhimurium* y D) *P. aeruginosa*.

De acuerdo con la información mostrada en la Figura 3 es importante resaltar el caso de la bacteria Gram (-) *P. aeruginosa*, pues en su gráfico de tiempo de duplicación se observa una diferencia significativa comparado con el resto de las cepas. Para *P. aeruginosa* no hay gráficos que representen el tiempo de duplicación de la bacteria en las concentraciones de 19.23 % y 32.25 % (en peso) de NPAg. Esto se debe a que las NPAg evitaron por completo su crecimiento en estas concentraciones; a diferencia de las otras 3 cepas donde hubo un crecimiento ligero y casi imperceptible durante las últimas horas de las cinéticas. Además, tanto la cinética de crecimiento (Figura 2D) como el gráfico de tiempo de duplicación (Figura 3D) de *P. aeruginosa* permitieron distinguir que su crecimiento es más lento comparándolo con el resto de las bacterias estudiadas.



Para las cuatro bacterias no hubo una diferencia significativa en cuanto al tiempo de duplicación en condiciones normales y en presencia de un 4.5 % de NPAg. La Figura 3 también permitió deducir que el tiempo de duplicación del *E. coli* O157H7 aumentó en mayor proporción para la misma concentración de NPAg (19.23 % en peso) que para las otras bacterias; lo que indica un crecimiento más lento para *E. coli*. Para la bacteria Gram (+) (*L. innocua*) y para la bacteria Gram (-) (*S. Typhimurium*), esta concentración de NPAg inhibió de manera similar a ambas cepas. De las Figuras (2) y (3) puede concluirse que el efecto de 32.25 % en peso de NPAg es letal para todas las bacterias estudiadas, a pesar de algunas discrepancias entre la cinética de crecimiento y tiempo de duplicación.

En diversas referencias bibliográficas se explica que el efecto bactericida que tienen las NPAg frente a bacterias Gram (-) es mejor que contra las bacterias Gram (+). Esto se debe a la atracción electrostática presente entre las cargas negativas de los lipopolisacáridos de pared celular de las bacterias Gram (-) y los iones de plata liberados por las nanopartículas (Montes y col., 2019). Sin embargo, en este trabajo este efecto no se pudo comprobar de manera inequívoca.

### 5.3 Diseño de mezclas

Las mezclas realizadas fueron obtenidas a través del software Minitab 20.3 (R2010a, Natick, MA, EUA) como se describe en el inciso 4.2.6. Sin embargo, la mezcla que demostró películas más homogéneas, con menor cantidad de burbujas, resistentes y flexibles al momento de desmoldarlas fue la de 1 % almidón, 0.5 % celulosa, 0.5 % sorbitol y 30 % NPAg.

#### 5.4 Elaboración de películas

La solución filmogénica se sonicó en repetidas ocasiones para disminuir el tamaño de partícula de la celulosa extraída y evitar la formación de gránulos de diferentes tamaños y muy resistentes después del secado. La homogeneización permitió ablandar los gránulos, mezclarse y solubilizarse de una mejor manera en la solución filmogénica. La Figura 4 muestra las películas elaboradas. Las películas de almidón (Figura 4A) se observan homogéneas y sin grumos, flexibles (con el mayor porcentaje de elongación de todas las películas de  $45.71 \pm 0.5 \%$ ) y transparentes, pues se logró ver el fondo a través de ellas.

Las películas de celulosa (Figura 4B) resultaron delgadas con el espesor más pequeño de todas las películas de  $0.09 \pm 0.01$  mm, flexibles con el segundo mejor porcentaje de elongación de  $13.755 \pm 3.84 \%$ , fueron translúcidas ya que pudo pasar la luz a través de ellas, pero sin permitir ver nítidamente objetos y con pocas manchas de un naranja más oscuro correspondientes a la celulosa no homogeneizada completamente, pero estas tenían una apariencia lisa.

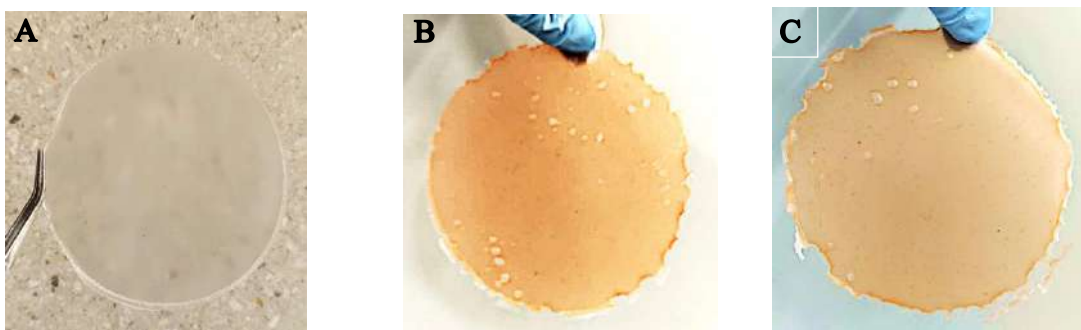


Figura 4. Películas formadas a partir de diferentes biopolímeros. A) almidón acetilado- entrecruzado, B) celulosa de zanahoria, C) almidón acetilado entrecruzado/celulosa de zanahoria.

Por otro lado, las películas de almidón acetilado-entrecruzado y celulosa (Figura 4C) formaron una superficie resistente con el mayor módulo de Young de  $1389.83 \pm 311.45$  MPa, indicando un material con tendencia a ser frágil, sin grumos y al igual que las películas de celulosa, se observaron puntos naranja oscuros correspondientes a la celulosa.

Todas las películas que incorporaban en su mezcla la solución de NPAg (Figura 5) dieron como resultado películas homogéneas, oscuras y un tanto frágiles; entre mayor fuera el porcentaje de NPAg, más quebradizas y oscuras se volvían las películas.

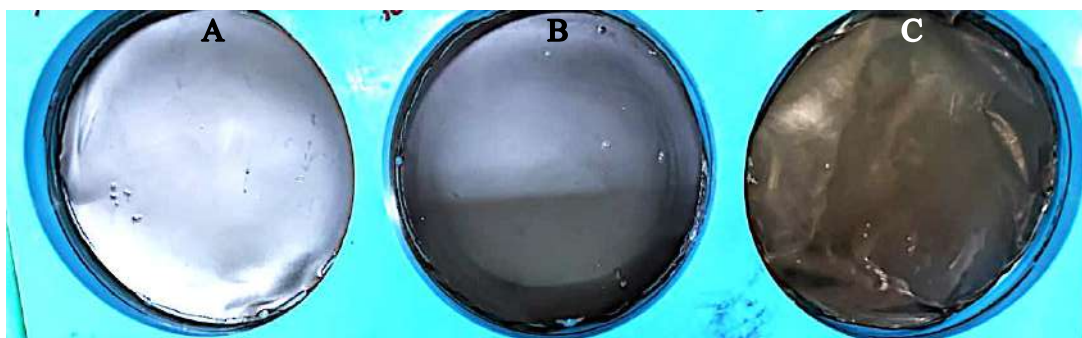


Figura 5. Películas de almidón acetilado- entrecruzado /celulosa de zanahoria, incorporadas con NPAg (% p/p). A) 20, B) 30, y C) 40.

## 5.5 Caracterización del empaque activo

### 5.5.1 Grosor de la película

En el Cuadro (8) se muestran los resultados de grosor para cada película. Se midió el grosor de 5 películas para cada tipo de mezcla y a su vez, efectuar la medición en 5 puntos al azar de cada película.

Cuadro 8. Espesor de las películas producidas.

Película	Grosor ( $\mu\text{m}$ )
A	$0.10 \pm 0.01^a$
C	$0.09 \pm 0.01^a$
AC	$0.13 \pm 0.01^b$
AC20	$0.16 \pm 0.01^c$
AC30	$0.17 \pm 0.01^d$
AC40	$0.18 \pm 0.01^d$

A: Almidón acetilado-entrecruzado; C: Celulosa de zanahoria; AC: Almidón acetilado-entrecruzado-celulosa de zanahoria; AC20: AC-20 % NPAg; AC30: AC-30 % NPAg; AC40: AC- 40% NPAg. Filas con la misma letra en superíndice indican que no hay diferencia significativa, utilizando la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ).

Las películas más delgadas fueron las que contenían únicamente celulosa, seguidas de las de almidón acetilado-entrecruzado y fueron aumentado el grosor en función del número de componentes y/o la concentración de NPAg; debido a que la cantidad de solutos era cada vez mayor (Reyes, 2013).

#### 5.5.2 Solubilidad

Los valores altos de solubilidad determinar indirectamente un alto valor de biodegradabilidad de las películas. Aunque a su vez, la baja solubilidad iría de la mano con una buena duración de las películas por su alto grado de polimerización, por ende, brindarían una mayor y mejor protección a los alimentos (Romero, 2011).

En el Cuadro (9) se observa que las películas más solubles fueron las de almidón acetilado-entrecruzado/celulosa de zanahoria con  $4.21 \pm 0.51$  %, mientras que las menos solubles fueron las de almidón acetilado-entrecruzado con un  $2.19 \pm 0.21$  %. Esto se atribuyó a que los almidones acetilados son hidrofóbicos (López, 2011).

De acuerdo con los resultados obtenidos y reportados en el Cuadro (9), se puede deducir que la incorporación de las NPAg brindó cierto refuerzo a la mezcla de almidón acetilado-entrecruzado/celulosa de zanahoria al disminuir la solubilidad de las películas (Sood y Saini, 2022), aunque es un valor poco significativo, de acuerdo con la baja solubilidad de todas las películas obtenidas.

Cuadro 9. Porcentajes de solubilidad para las diferentes películas obtenidas.

Película	Solubilidad (%)
A	2.19 ± 0.21 <sup>a</sup>
C	3.43 ± 0.35 <sup>b</sup>
AC	4.21 ± 0.51 <sup>c</sup>
AC30	3.54 ± 0.31 <sup>b, c</sup>

A: Almidón acetilado-entrecruzado; C: Celulosa de zanahoria; AC: Almidón acetilado-entrecruzado-celulosa de zanahoria; AC30: AC-30 % NPAg. Filas con la misma letra en superíndice indican que no hay diferencia significativa utilizando la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ).

De manera general y de acuerdo con otros reportes, se puede decir que todas las películas obtenidas en este trabajo son muy resistentes a la humedad. Gómez y col., (2020) reportaron 8 mezclas para películas usando como base el almidón más alcohol polivinílico en distintas proporciones (0 – 60 %) para mejorar las propiedades mecánicas y de barrera del almidón. La combinación que obtuvo el menor porcentaje de solubilidad fue de  $24.88 \pm 0.62$ ; el cual es casi 6 veces mayor que el más grande porcentaje de solubilidad reportado en el Cuadro (8).

Liu y col., (2020) elaboraron películas nanocompuestas de polisacárido de soya soluble y nano-óxido de zinc, reforzadas con celulosa microfibrilada. De tal modo que para su película control de polisacárido de soya soluble obtuvieron un

porcentaje de solubilidad de  $82.4 \pm 0.5$  %; al realizar la combinación de polisacárido de soya y nano-óxido de zinc, la solubilidad disminuyó significativamente hasta un  $29.5 \pm 2.9$  %, y cuando reforzaron esta última mezcla con la celulosa obtuvieron un porcentaje de solubilidad aún menor de  $23.4 \pm 1$  %.

Es entendible que en este trabajo las películas de celulosa sean menos solubles; debidos a que para solubilizar a la celulosa en agua y en gran parte de los disolventes orgánicos, es necesario emplear urea, tiourea, o cloruro de litio, entre otros líquidos iónicos (Zainal y col., 2020). Al combinar la celulosa con otros compuestos, como fue el caso de las películas AC y AC30, incrementó un poco su solubilidad tal y como sucedió con las películas de polisacárido de soya soluble, nano-óxido de zinc y celulosa microfibrilada.

Sin embargo, estos valores tan bajos de solubilidad son un indicador de la buena integridad estructural de los empaques. Además, Gómez y col., (2020) también reportaron que la solubilidad de películas obtenidas con un solo biopolímero fue menor al de las películas que combinaban distintos biopolímeros, principalmente debido al aumento de grupos OH.

### 5.5.3 Permeabilidad al vapor de agua

Las películas de almidón acetilado-entrecruzado/celulosa de zanahoria (AC) y AC-30 % NPAG tuvieron una mayor permeabilidad al vapor de agua (PVA), con un valor de  $4.12 \times 10^{-5}$  g día<sup>-1</sup>m<sup>-1</sup>Pa<sup>-1</sup>, mientras que las de almidón acetilado-entrecruzado presentaron las más baja PVA (Cuadro 10).

Cuadro 10. Valores promedio de permeabilidad al vapor de agua para cada tipo de película.

Película	PVA x10 <sup>5</sup> (g día <sup>-1</sup> m <sup>-1</sup> Pa <sup>-1</sup> )
A	2.17 ± 0.04 <sup>a</sup>
C	3.36 ± 0.16 <sup>b</sup>
AC	4.12 ± 0.15 <sup>c</sup>
AC30	4.12 ± 0.33 <sup>b, c</sup>

A: Almidón acetilado-entrecruzado; C: Celulosa de zanahoria; AC: Almidón acetilado-entrecruzado-celulosa de zanahoria; AC30: AC-30 % NPAg. Filas con la misma letra en superíndice indican que no hay diferencia significativa utilizando la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ).

Películas de almidón de mandioca con glicerol (Seligra y col., 2016) y almidón de mandioca con glicerol y xilitol (Muscat y col. 2012), mostraron valores de PVA de  $1.80 \times 10^{-10}$  a  $2.80 \times 10^{-10}$  g s<sup>-1</sup>m<sup>-1</sup>Pa<sup>-1</sup> y  $1.94 \times 10^{-11}$  a  $1.77 \times 10^{-10}$  g s<sup>-1</sup>m<sup>-1</sup>Pa<sup>-1</sup>, respectivamente; mientras que nuestras películas de almidón acetilado-entrecruzado exhibieron una PVA de  $2.51 \times 10^{-10}$  g s<sup>-1</sup>m<sup>-1</sup>Pa<sup>-1</sup>, similar al de ambas películas.

Por otra parte, películas compuestas de metilcelulosa con etanol tuvieron valores de  $0.51 \times 10^{-10}$  a  $1.08 \times 10^{-10}$  g s<sup>-1</sup>m<sup>-1</sup>Pa<sup>-1</sup> (Turhan y Şahbaz, 2004) y las películas de metilcelulosa con o sin nanocelulosa mostraron valores de  $5.44 \times 10^{-11}$  a  $7.29 \times 10^{-11}$  g s<sup>-1</sup>m<sup>-1</sup>Pa<sup>-1</sup> (Khan y col., 2010). Las películas de este trabajo conteniendo celulosa presentaron una PVA de  $3.88 \times 10^{-10}$  g s<sup>-1</sup>m<sup>-1</sup>Pa<sup>-1</sup>, el cual es similar al de películas de metilcelulosa con etanol.

Cazón (2020) reportó que, en películas de celulosa y quitosano, así como de celulosa con PVOH, la PVA fue afectada por las interacciones entre la celulosa y el otro compuesto. En este contexto, las películas producidas en este trabajo a partir de celulosa en combinación con el almidón presentaron el mayor valor de PVA. Los autores mencionan que los altos niveles de celulosa en comparación con el PVOH y el quitosano propiciaron valores altos de PVA. Por lo que, si se desea mejorar la PVA podría disminuirse la concentración de celulosa pues ésta genera interacciones hidrofílicas que favorecen la permeabilidad al vapor de agua a través de la película.

Guzmán y Bonilla (2021) reportan que el rango de permeabilidad para películas de almidón/celulosa fue de  $1.31 \times 10^{-6}$  a  $1.53 \times 10^{-5} \text{ g s}^{-1} \text{ m}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ , mientras que nuestras películas AC (almidón/celulosa) tuvieron un valor menor de PVA de  $4.77 \times 10^{-10} \text{ g s}^{-1} \text{ m}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ , lo que resulta en una mejor conservación de los alimentos, al evitar la pérdida de humedad del producto alimenticio.

#### 5.5.4 Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas evaluadas en las películas fueron: porcentaje de elongación, resistencia a la tracción y el módulo de Young (Cuadro 11). Las películas con mayor resistencia a la tracción fueron las de celulosa de zanahoria a pesar ser las más delgadas ( $25.38 \pm 2.57 \text{ MPa}$ ), mientras que las de menor resistencia a la ruptura fueron las de almidón acetilado-entrecruzado ( $8.94 \pm 0.17 \text{ MPa}$ ); valor muy similar al de las películas de almidón acetilado-entrecruzado/celulosa de zanahoria con 30 % de NPAg con un valor de resistencia a la tracción de  $12.09 \pm 4.11 \text{ MPa}$ .

Por otra parte, las películas con mayor porcentaje de elongación fueron las de almidón acetilado-entrecruzado y las menos elásticas fueron las de



almidón/celulosa. Es decir, las películas de almidón son muy elásticas, pero resisten muy poca fuerza de tracción. Por lo que, mientras se les aplique un esfuerzo pequeño, éstas resistirán bastante por su buena elasticidad.

Cuadro 11. Propiedades mecánicas para películas de almidón acetilado entrecruzado con celulosa y con NPAg.

Propiedades mecánicas	Película			
	A	C	AC	AC30
ES ( $\mu\text{m}$ )	$0.10 \pm 0.01^a$	$0.09 \pm 0.01^a$	$0.13 \pm 0.01^b$	$0.17 \pm 0.01^c$
E (%)	$45.71 \pm 0.50^a$	$13.75 \pm 3.84^b$	$1.17 \pm 0.71^c$	$5.27 \pm 4.06^{b,c}$
MY (MPa)	$258.20 \pm 55.33^a$	$414.94 \pm 73.68^b$	$1389.8 \pm 311.4^c$	$464.68 \pm 135.58^a$
RT (MPa)	$8.94 \pm 0.17^a$	$25.38 \pm 2.57^b$	$13.36 \pm 5.15^a$	$12.09 \pm 4.11^a$

A: Almidón acetilado-entrecruzado; C: Celulosa de zanahoria; AC: Almidón acetilado-entrecruzado-celulosa de zanahoria; AC30: AC-30 % NPAg. ES: espesor; E: elongación; MY: módulo de Young; RT: resistencia a la tracción. Filas con la misma letra en superíndice indican que no hay diferencia significativa utilizando la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ).

En cuanto al Módulo de Young, se observó que nuevamente las películas de almidón acetilado-entrecruzado presentan una buena elongación y pueden regresar a su forma original cuando no se aplican grandes fuerzas. Mientras que las películas AC fueron las que resistieron la mayor fuerza longitudinal de deformación, sin embargo, son las que menos se deforman antes de sufrir una ruptura. Los resultados muestran que las películas de almidón son muy elásticas, pero no resisten grandes esfuerzos de tracción. Las películas de celulosa poseen buenas cualidades ya que son elásticas y además de que resisten fuerzas de estiramiento mayores, siendo las más delgadas.

Meneses (2022), muestra diferentes tipos de películas de almidón con diversas proporciones de plastificantes y agua, concluyendo que las propiedades mecánicas mejoran al usar sorbitol y glicerina como plastificantes.

#### 5.5.5 Caracterización por espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR)

La espectroscopía FT-IR se utilizó para evaluar la interacción de la radiación infrarroja con la materia y con ello identificar sustancias químicas y grupos funcionales (Yagos, 2022). Se analizaron los espectros infrarrojos para verificar la modificación química y las interacciones moleculares de las películas AC y AC con diferentes concentraciones de NPAg. En la Figura (5) se muestran los espectros FT-IR de las películas de almidón acetilado-entrecruzado (Figura 5A), celulosa (Figura 5B) y almidón/celulosa (Figura 5C).

En las películas de almidón acetilado-entrecruzado, los picos de 1409 y 1368  $\text{cm}^{-1}$  indican vibración simétrica de los grupos CH (alcanos), además, los 3 picos presentes en el rango de 1050-1300  $\text{cm}^{-1}$  indican el estiramiento del enlace C-O. Resultados similares fueron reportados por Martínez y col., (2019) para almidones acetilados. Por otra parte, las señales a 1149  $\text{cm}^{-1}$  y 1076  $\text{cm}^{-1}$  corresponden a estiramientos de los enlaces C-O. El pico de 995.4  $\text{cm}^{-1}$  es atribuido a los estiramientos de los enlaces C-OH. Mientras que las señales por debajo del pico de 890.2  $\text{cm}^{-1}$  son características de las vibraciones de estiramiento de la unidad anhidroglucosa (Obando, 2022).

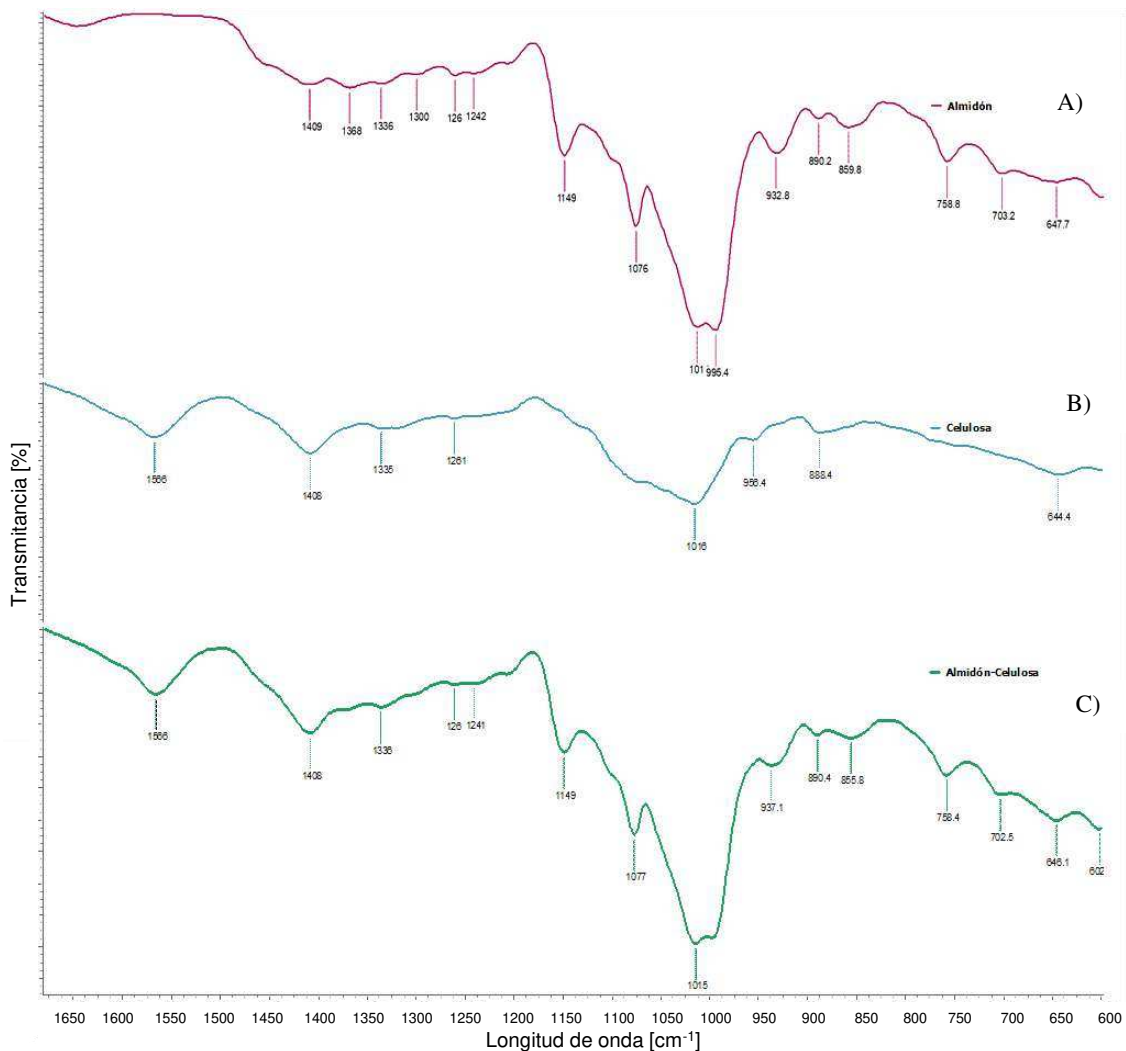


Figura 6. Espectro FT-IR de las películas de A) almidón acetilado-entrecruzado, B) celulosa de zanahoria y C) almidón acetilado-entrecruzado /celulosa de zanahoria.

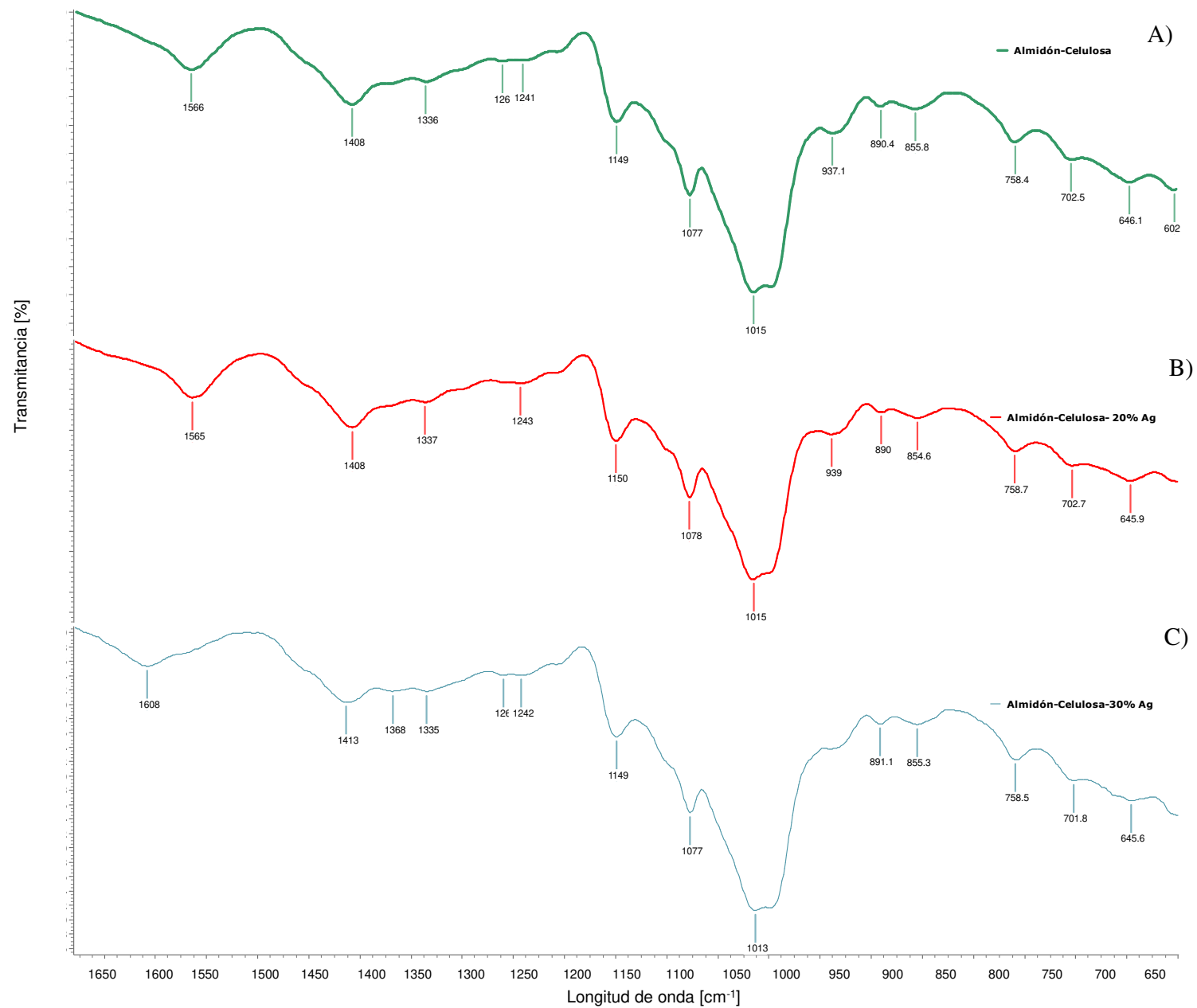
Para la celulosa, de acuerdo con Salazar (2023), las señales alrededor de los  $1430\text{ cm}^{-1}$  corresponden a la vibración por flexión de los enlaces  $\beta$ -glicosídicos; donde nosotros obtuvimos un pico en los  $1408\text{ cm}^{-1}$ . Las señales entre los  $1313$  y  $1360\text{ cm}^{-1}$  están asociadas a los grupos OH de la celulosa y en la Figura (5B) se observa una señal a  $1335\text{ cm}^{-1}$ . También se encontró una señal muy tenue a  $1261\text{ cm}^{-1}$ , vibración relacionada con los grupos funcionales de la hemicelulosa y lignina, lo que demuestra un tratamiento alcalino y una hidrólisis ácida eficaz para

la eliminación de materiales lignocelulósicos. La señal en  $1016\text{ cm}^{-1}$  corresponde a la vibración del anillo de piranosa C–O–C, mostrando que la estructura de la celulosa permaneció intacta después de los tratamientos químicos (Angulo y Rendon, 2023).

El espectro de las películas de almidón acetilado-entrecruzado/celulosa de zanahoria en combinación mostrado en la Figura 6C indica que estas películas conservan muchos de los picos de las películas de almidón y de celulosa. Por ejemplo, existe una señal a  $937.1\text{ cm}^{-1}$  que indica vibraciones de los enlaces  $\beta$ -glicosídicos de la celulosa, mientras que la señal a  $646.1\text{ cm}^{-1}$  corresponde al almidón (Orsini y Aparicio, 2021). Existe una gran similitud entre los grupos funcionales del almidón y la celulosa; además, podemos concluir que no hubo una interacción química entre ambos compuestos porque en el espectro IR de esta mezcla solo aparecen los picos característicos del almidón y de la celulosa (Żółtek y col., 2023).

En la Figura 7 se observa la comparación entre las películas de almidón acetilado-entrecruzado/celulosa de zanahoria, con 20 % y 30 % de NPAg. Es posible observar que aún se conservan los picos característicos del almidón y de la celulosa y no existen picos diferentes por la presencia de las nanopartículas. El único cambio significativo que es posible observar es el desplazamiento del pico  $1566\text{ cm}^{-1}$  de AC por un pico de  $1608\text{ cm}^{-1}$  en AC30 el cual además es ligeramente más tenue. Resultados similares fueron reportados por Zhang y Jiang (2019) al incorporar NPAg en sus películas de quitosano, ya que conforme aumentó la concentración de NPAg, se desplazó más esa banda de  $1560\text{ cm}^{-1}$  hasta  $1572\text{ cm}^{-1}$ .

Figura 7. Espectro FT-IR de las películas de A) almidón/celulosa, B) almidón/celulosa con 20 % de NPAg y C) almidón/celulosa con 30 % de NPAg.



### 5.5.6 Evaluación del efecto antimicrobiano de las películas

Las Figuras 8, 9 y 10 se muestra el efecto antimicrobiano de las películas de almidón acetilado-entrecruzado/celulosa de zanahoria adicionadas con NPAg. Las bacterias evaluadas por el método de difusión en agar fueron *L. innocua* (Figuras 8A y 8B), *E. coli* O157:H7 (Figuras 9A y 9B) y *S. Typhimurium* (Figuras 10A y 10B).

Es importante resaltar que en la experimentación se optó por usar películas de diferentes diámetros entre las bacterias Gram (-) y la bacteria Gram (+). Inicialmente se usaron películas con diámetro de 6 mm para todas las bacterias, pero después de observar que para *Listeria* no se formó ningún halo de inhibición, se intentó mejorar el resultado al aumentar el diámetro de la película, lo cual favoreció la observación de un pequeño halo alrededor de la película de 11 mm de diámetro.



Figura 8. Resultados del método de difusión en agar para *L. innocua* con A) 20 % de NPAg y B) 30 % de NPAg. Donde el disco amarillo representa el control y el disco café es la película con solución de nanopartículas de plata.



Figura 9. Resultados del método de difusión en agar para *E. coli* O157:H7 con A) 20 % de NPAg y B) 30 % de NPAg. Donde el disco blanco representa el control y el disco café es la película con solución de nanopartículas de plata.



Figura 10. Resultados del método de difusión en agar para *S. Typhimurium* con A) 20 % de NPAg y B) 30 % de NPAg. Donde el disco blanco representa el control y el disco café es la película con solución de nanopartículas de plata.

Para *L. innocua*, bacteria Gram (+) Figura 8, el halo de inhibición formado alrededor de la película fue un poco más grande comparado con el halo formado para las bacterias Gram (-) (*E. coli* y *S. Typhimurium*) Figuras 9 y 10; pero esto se debió al incremento del diámetro de la película como se mencionó anteriormente, pues así hubo una mayor superficie de contacto, mejorando el resultado de inhibición. Al igual que en las cinéticas de crecimiento Figura 2 y en los tiempos de duplicación Figura 3, los tiempos de duplicación para las bacterias Gram (-) fueron mayores que para *Listeria* desde la concentración mínima de NPAg igual a 4.5 %. Dentro de las propias bacterias Gram (-), las NPAg mostraron un mayor efecto en *E. coli* que en *S. Typhimurium*, en concordancia con (Kumar y col., 2017) y (Rojas y col., 2020).

Para *L. innocua* podemos observar en la Figura 8A que el 20 % de NPAg permitió la formación de un halo de inhibición de alrededor 0.5 mm, dando como resultado 11.5 mm de inhibición en conjunto con la película de 11 mm de diámetro antes mencionada; mientras que con un 30 % de NPAg se obtuvo un halo total de 12 mm (Figura 8B).

Para *S. Typhimurium* y *E. coli* O157:H7 se obtuvieron resultados similares, pero fue posible apreciar un mejor efecto inhibitorio en *E. coli* con un halo de

inhibición de 8 mm para un 20 % de NPAg (Figura 9A) y 10 mm para un 30 % de nanopartículas (Figura 9B). Mientras que para *Salmonella* los resultados fueron los siguientes: 7 mm de inhibición para 20 % de NPAg (Figura 10A) y 9 mm para 30 % de nanopartículas (Figura 10B). Recordando que para estas dos últimas bacterias se usaron películas con NPAg de tan solo 6 mm de diámetro.

Con estos resultados es posible confirmar que las NPAg tienen un mayor efecto en bacterias Gram (-) ya que para *Listeria* (Gram positiva) fue necesario aumentar el tamaño de la película, es decir, aumentar la superficie de contacto del antimicrobiano para observar un efecto inhibitorio.

Además, fue más difícil observar un efecto inhibitorio a través de las películas que con la solución de nanopartículas debido a que, el transporte de estas a través de los polímeros y estructura de la película puede verse obstruido cuando las partículas tienen un tamaño mayor de 50 nm. Sin mencionar la posible acumulación y aglomeración de la plata en la película (Pugazhendhi y col., 2018).



## 6. CONCLUSIONES

- Se obtuvo un 2.05 % de rendimiento para la extracción de celulosa de zanahoria.
- Fue posible elaborar un empaque activo resistente, flexible y liso a partir de almidón acetilado-entrecruzado y celulosa extraída de desechos de zanahoria (*Daucus carota*). La mejor formulación fue cuando se combinaron 0.5 % de ácido acético, 0.5 % de sorbitol, 0.5 % de celulosa y 1 % de almidón.
- La MIC de las NPAg sintetizadas fue de 423.35 µg/mL que correspondió al 20 % del peso total de las películas incorporadas con nanopartículas y mostraron actividad antimicrobiana contra *L. innocua*, *S. Typhimurium* (ATCC 14028) y *E. coli* O157:H7.
- Las películas de almidón acetilado-entrecruzado/celulosa de zanahoria mostraron muy baja elasticidad, pero cuando se adicionaron con NPAg mejoró su elasticidad, aunque disminuyó el módulo elástico.
- Las películas de almidón acetilado-entrecruzado/celulosa de zanahoria presentaron poca permeabilidad al vapor de agua, con una solubilidad menor al 5 % (p/p).

## 7. BIBLIOGRAFÍA

Abdollahzadeh E, Nematollahi A, Hosseini H. Composition of antimicrobial edible films and methods for assessing their antimicrobial activity a review. Trends Food Sci Technol 2021;110:291-303.

Agnihotri S, Mukherji S, Mukherji S. Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5–100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy. RSC Adv 2014;4:3974–3983.

Alata-Mayhuire E, Cuadros-Huamaní Y, Miranda-Zanardi L, Medina-Miranda E. Biopelículas producidas con cáscara de naranja y reforzadas con celulosa bacteriana. Rev Soc Quím Perú 2019;85(2):231-241.

Almatroudi A. Silver nanoparticles synthesis, characterization and biomedical applications. Open Life Sciences 2020;15(1): 819-839.

Amaral-Madeira A, Coimbra-Silva AL, Martins-Dias B, Andrade-Pena C, Costa-Oliveira R. Chemically modified cellulose as a potential oil adsorbent of contaminated marine ecosystems. Eclética Química 2020;45(2):54-63.

Anchundia K, Santacruz S, Coloma J. Caracterización física de películas comestibles a base de cáscara de plátano (*Musa paradisiaca*). Rev Chil Nutr 2016;43(4):394-399.

Ancos B, González-Peña D, Colina-Coca C, Sánchez-Moreno C. Uso de películas/recubrimientos comestibles en los productos de iv y v gama. Rev Iber Tecnol Poscosecha 2015;16(1):8-17.

Andrade-Albán MJ, Rodríguez-Cevallos Ma.delosA, Guallo-Paca MJ. Bases científicas para el uso de almidones modificados y resistentes en la elaboración de alimentos prebióticos. Dom Cien 2021;7(4):565-579.

Andrade MA, Ribeiro-Santos R, Costa-Bonito MC, Saraiva M, Sanches-Silva A. Characterization of rosemary and thyme extracts for incorporation into a whey protein based film. LWT 2018;92:497–508.

Andrade-Silva JG, de S. Bispo R, Dias da S. Ruy A, Delgado-Arcaño Y, M. Pontes LA. Aspectos económicos y tecnológicos de la producción de sorbitol por vía química. Rev cuba quím 2019;31(3):388-413.

Angulo-Ruela AB y Rendon-León EA. Extracción de nanocristales de celulosa a partir de bagazo de caña y fibras de coco para el refuerzo de geopolímeros basados en zeolita natural ecuatoriana [monografía en internet]. Guayaquil:

Escuela Superior Politécnica del Litoral, 2023 [consultado 2023 diciembre 12]  
Disponible en: <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/57708/1/T-110490%20ANDY%20ANGULO%20-%20ESTHER%20RENDON.pdf>

Arenas-Riaño CA, Pedraza-Guarnizo DJ. Evaluación del proceso de modificación de almidón de papa mediante acetilación y oxidación, para su aplicación como excipiente en la industria farmacéutica a nivel laboratorio [monografía en internet]. Bogotá: Fundación Universidad de América, 2017 [consultado 2022 septiembre 2]:1-121. Disponible en:

<https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/6043/1/6111689-201-1-IQ.pdf>

Arredondo-Ochoa T. Diseño de empaques comestibles activos a base de almidón modificado para su posible aplicación en alimentos en fresco [monografía en internet]. Santiago de Querétaro: Universidad Autónoma de Querétaro, 2012 [consultado 2022 septiembre 5]:1-71. Disponible en: <http://ring.uaq.mx/bitstream/123456789/438/1/RI000119.pdf>

Bahrami A, Mokarram RR, Khiabani MS, Ghanbarzadeh B, Salehi R. Physico-mechanical and antimicrobial properties of tragacanth/hydroxypropyl methylcellulose/beeswax edible films reinforced with silver nanoparticles. *Int J Biol Macromol* 2019;129:1103–1112.

Bastidas-Flores VC. Envoltura comestible a base de celulosa microcristalina de bagazo de caña de azúcar [monografía en internet]. Ibarra: Universidad Técnica del Norte, 2016 [consultado 2022 septiembre 2]:1-142. Disponible en: <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/5313/1/03%20EIA%20408%20TESIS%20DE%20GRADO.pdf>

Benelli F, Gianna V, Calandri E. Determinación de amilosa en almidones mediante el método amperométrico. *FCEFYN* 2019;6(1):15-22.

Brandao-Delgado JL, Peña-Turcios AG. Efecto de dos temperaturas y tres combinaciones de plastificante en las propiedades físicas de una película comestible a base de proteína de suero ácido [monografía en internet]. Zamorano: Departamento Agroindustria Alimentaria, 2012 [consultado 2022 septiembre 2]:1-23. Disponible en:

<https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/fdd53749-43b4-430d-a546-34df38b5df27/content>

Bruna T, Maldonado-Bravo F, Jara P, Caro N. Silver nanoparticles and their antibacterial applications. *Int J Mol Sci* 2021;22:1-21.

Cabascango-Guasgua EM, Arteaga-Chinche KA, Sánchez-Naranjo AR, Navarro-Merino BF, Jácome Pilco CR. Técnicas de extracción de celulosa en residuos agroindustriales. *Revista Pertinencia Académica* 2019.

Çakmak H, Özselek Y, Turan OY, Firatligil E, Karbancioglu-Güler F. Whey protein isolate edible films incorporated with essential oils antimicrobial activity and barrier properties. *Polym Degrad Stab* 2020;179.

Cano-Serna D, Gómez-Marín MA, Oviedo-Gallego V, Ríos-Osorio LA. Nisina como conservante de alimentos revisión sistemática de la literatura. *Hechos Microbiol* 2015;6(1-2):52-64.

Cazón-Díaz M. Desarrollo y caracterización de películas biodegradables de celulosa combinada con quitosano y alcohol polivinílico [monografía en internet]. IPN, 2020 [consultado 2023 diciembre 2]. Disponible en: [https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/30064/PATRICIA%20CAZ%  
%93N%20D%  
%c3%8dAZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/30064/PATRICIA%20CAZ%c3%93N%20D%c3%8dAZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Clogston JD, Patri AK. Zeta potential measurement. *Characterization of Nanoparticles Intended for Drug Delivery Methods. Mol Biol* 2010;697:63-70.

Corsello FA, Peruzzo PJ, Amalvy JI. Preparación y caracterización de películas de quitosano modificadas con nanocristales de celulosa. *INIFTA* 2015:1-59.

Criollo-Llumiugsi GP. Extracción de celulosa de cáscara de naranja, estudio del método y aplicaciones [monografía en internet]. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, 2018 [consultado 2022 septiembre 2]:1-23. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/8663/1/96T00465.pdf>

Dawadi S, Katuwal S, Gupta A, Lamichhane U, Thapa R, Jaisi S, Lamichhane G, Prasad-Bhattarai D and Parajuli N. Current research on silver nanoparticles synthesis, characterization, and applications. *J Nanomaterials* 2021:1-23.

Ding Y, Zheng J, Xia X, Ren T, Kan J. Box-behnken design for the optimization of nanoscale retrograded starch formation by high-power ultrasonication. *Food Sci Technol* 2016;67:206-213.

Domínguez R, Barba FJ, Gómez B, Putnik P, Bursać-Kovačević D, Pateiro M, Santos EM, Lorenzo JM. Active packaging films with natural antioxidants to be used in meat industry a review. *Int Food Res J* 2018;113:93–101.

Dong Y, Zhu H, Shen Y, Zhang W, Zhang L. Antibacterial activity of silver nanoparticles of different particle size against *Vibrio natriegens*. PLOS ONE 2019; 14(9).

Duque-Aristizábal JC, Isaza-Areiza JM, Tobón-Calle D, Londoño ME. Antibacterial activity of silver nanoparticles immobilized in zinc oxide-eugenol cement against *Enterococcus faecalis* an in vitro study. Revista Facultad de Odontología Universidad de Antioquia 2019;30(2):154-165.

Du WX, Olsen CW, Avena-Bustillos RJ, McHugh TH, Levin CE, Friedman M. Effects of allspice, cinnamon, and clove bud essential oils in edible apple films on physical properties and antimicrobial activities. J Food Sci 2009;74(7):M372–M378.

Englyst HN, Cummings JH. Improved method for measurement of dietary fiber as non-starch polysaccharides in plant foods. J Assoc Off Anal Chem 1988;71:808-814.

Escamilla-García M, Reyes-Basurto A, Garcia-Almendarez BE, Hernández-Hernández E, Calderón-Domínguez G, Rossi-Marquez G, Regalado-Gonzalez C. Modified starch-chitosan edible films physicochemical and mechanical characterization. Coatings 2017;7(12):224.

Escobar-Falconí VE. Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata por espectroscopia de infrarrojos (ft-ir), uv-vis, absorción atómica de llama (faas) y microscopía de barrido electrónico (sem). Pontificia Universidad Católica del Ecuador 2015:108.

Espinosa-Cavazos KG, Sáenz-Galindo A, Castañeda-Facio AO. Películas de quitosano propiedades y aplicaciones. Afinidad 2020:203-208.

Espinosa-Víctor E. Lignonnanofibras de celulosa (Infc) a partir de residuos agroindustriales no madereros obtención, caracterización y aplicaciones [monografía en internet]. Universidad de Córdoba, 2019 [consultado 2022 septiembre 2]:1-191.

Disponible en:  
<https://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/18994/2019000001964.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Fernández-Valdés D, Bautista-Baños S, Fernández-Valdés D, Ocampo-Ramírez A, García-Pereira A, Falcón-Rodríguez A. Películas y recubrimientos comestibles

una alternativa favorable en la conservación poscosecha de frutas y hortalizas. Rev Cien Téc Agropec 2015;24(3):52-56.

Firouz MS, Mohi-Alden K, Omid M. A critical review on intelligent and active packaging in the food industry research and development. Int Food Res J 2021;141:1-24.

Fonseca-Florido HA, Vázquez-García HG, Méndez-Montevalo G, Basilio-Cortés, UA, Navarro-Cortés R, Rodríguez-Marín ML, Castro-Rosas J, Gómez-Aldapa CA. Effect of acid hydrolysis and oxa esterification of waxy cassava starch on emulsifying properties in pickering-type emulsions. LWT - Food Sci Technol 2018;91:258– 264.

Fuentes-Herrera I. Extracción de celulosa a partir de *Opuntia ficus* para la evaluación sobre la retención de flúor (f-) [monografía en internet]. Universidad Autónoma del Estado de México, 2018 [consultado 2022 septiembre 2]:1-71. Disponible en: <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/95106/Tesis%20Maestr%c3%ada.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Gaona-Sánchez VA, Calderón-Domínguez G, Morales-Sánchez E, Moreno-Ruiz LA, Terrés-Rojas E, Salgado-Cruz Ma. de la P, Escamilla-García M, Barrios-Francisco R. Physicochemical and superficial characterization of a bilayer film of zein and pectin obtained by electrospraying. J Appl Polym Sci 2021;138(12):50045.

García-García MC. Elaboración y caracterización de películas a base de quitosano, celulosa y nanocristales de celulosa de olote de maíz (*Zea mays*, ssp. *mays*) [monografía en internet]. Santiago de Querétaro: Universidad Autónoma de Querétaro, 2020 [consultado 2022 septiembre 2]:1-67. Disponible en: <http://ri-ng.uaq.mx/xmlui/bitstream/handle/123456789/2175/FQLIN-253141-0520-720-M%c3%b3nica%20Citlali%20Garc%c3%ada%20Garc%c3%ada%20%20-A.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Gómez-Aldapa CA, Velazquez G, Gutierrez MC, Rangel-Vargas E, Castro-Rosas J, Aguirre-Loredo RY. Effect of polyvinyl alcohol on the physicochemical properties of biodegradable starch films. Mat Chem Phys 2020; 239:122027.

Gómez-Sierra FR, Jiménez-Sánchez D. Elaboración de películas biodegradables con policaprolactona y almidón - celulosa de la cáscara de plátano verde (*Musa*

*paradisiaca*) [monografía en internet]. Universidad de Guayaquil, 2021 [consultado 2022 septiembre 2]. Disponible en:  
<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/57464/1/BINGQ-IQ-21P46.pdf>

González-Linares JI, Medina-Vivanco ML, Garay-Montes R, Mendieta-Taboada OW. Desarrollo de películas comestibles a partir de proteínas extraídas de la torta de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *Inf Tecnol* 2017;28(5):115-130.

Gopalan C, Ramasastry BV, Balasubramanian SC. Nutritive value of Indian foods. *National Institute of Nutrition* 1991;47.

Guzmán-Wong BD, Bonilla-Farfán MG. Evaluación de las propiedades de películas de almidón-celulosa de cáscara de plátano macho con nanocelulosa y mezcla de aceites esenciales. Universidad de Guayaquil 2021.

Hernández-Rendón RM, Blanco-Gómez DJ. Evaluación de polvos de zanahoria obtenidos por deshidratación por aire forzado a diferentes temperaturas. *Idesia* 2015;33(4):75-80.

Holland B, Unwin JD, Buss D.H. Vegetables, herbs and spices: Fifth supplement to McCance and Widdowson's the composition of foods. RSC 1991.

Jiménez-Heinert ME, Grijalva-Endara AM y Ponce-Solórzano HX. Plasma acoplado inductivamente en espectroscopia de emisión óptica (icp-oes). *Recimundo* 2020:4-12.

Kamshad M, Shah-Talab M, Beigoli S, Sharifi-Rad A, Chamani J. Use of spectroscopic and zeta potential techniques to study the interaction between lysozyme and curcumin in the presence of silver nanoparticles at different sizes. *J Biomol Struct Dynamics* 2018:1-39.

Khan RA, Salmieri S, Dussault D, Uribe-Calderón J, Kamal MR, Safrany A, Lacroix M. Production and properties of nanocellulose-reinforced methylcellulose-based biodegradable films. *J Agric Food Chem* 2010;58(13):7878-7885.

Khorrani S, Zarrabi A, Khaleghi M, Danaei M, Mozafari M. Selective cytotoxicity of green synthesized silver nanoparticles against the mcf-7 tumor cell line and their enhanced antioxidant and antimicrobial properties. *Int J Nanomedicine* 2018;13:8013-8024.

Kochar GK, Sharma KK. Fiber content and its composition in commonly consumed Indian vegetables and fruits. *J Food Sci Technol* 1992;29:187-190.

Kumar R, Ghoshal G, Jain A, Goyal M. Rapid green synthesis of silver nanoparticles (agnps) using (*Prunus persica*) plants extract exploring its antimicrobial and catalytic activities. *J Nanomed Nanotechnol* 2017;8:4.

Lau E, Zhou W, Jeyakumar-Henry C. Effect of fat type in baked bread on amylose-lipid complex formation and glycemic response. *Brit J Nutr* 2016:1-8.

Lavanya D, Kulkarni PK, Dixit M, Kanth-Raavi P, Vamsi-Krishna LN. Sources of cellulose and their applications- a review. *IJDFR* 2011;2(6):19-38.

Li L, Li L, Zhou X, Yu Y, Li Z, Zuo D, Wu Y. Silver nanoparticles induce protective autophagy via ca 2+/camkk $\beta$ /ampk/mtor pathway in sh-sy5y cells and rat brains. *Nanotoxicology* 2019;13(3):369-391.

Li Z, Liu Y, Wu S. Efficient conversion of d-glucose into d-sorbitol over carbonized cassava dregs-supported ruthenium nanoparticles catalyst. *Bioresources* 2018;13(1):1278-1288.

Liao C, Li Y, Tjong SC. Bactericidal and cytotoxic properties of silver nanoparticles. *Int J Mol Sci* 2019;20(2):449.

Liu J, Liu C, Zheng X, Chen M, Tang K. Soluble soybean polysaccharide/nano zinc oxide antimicrobial nanocomposite films reinforced with microfibrillated cellulose. *International Journal of Biological Macromolecules* 2020.

Liu Z, Han JH. Film-forming characteristics of starches. *J Food Sci* 2005;70(1):31-36.

Liu Z, Lina D, López-Sánchez P, Yang X. Characterizations of bacterial cellulose nanofibers reinforced edible films based on konjac glucomannan. *Int J Biol Macromol* 2020;145:634-645.

López-García I, Vicente-Martínez Y, Hernández-Córdoba M. Speciation of silver nanoparticles and ag(i) species using cloud point extraction followed by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta* 2014:93–9.

López OV. Desarrollo, caracterización y aplicación de envases biodegradables a partir de almidón [monografía en internet]. Universidad Nacional de La Plata, 2011 [consultado 2022 octubre 13]:1-244. Disponible en: [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2651/Documento\\_completo.pdf?sequence=3&isAllowed=y](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2651/Documento_completo.pdf?sequence=3&isAllowed=y)



Lu Z, Rong K, Li J, Yang H, Chen R. Size-dependent antibacterial activities of silver nanoparticles against oral anaerobic pathogenic bacteria. *J Mater Sci Mater Med* 2013;24:1465-1471.

Malvern Panalytical. *Potencial Zeta* [consulta en internet]. 2023 [consultado 2023 junio 15]. Disponible en: <https://www.malvernpanalytical.com/es/products/measurement-type/zeta-potential>

Martínez P, Peña F, Gómez Y, Vargas G, Velezmoro C. Propiedades físico-químicas, funcionales y estructurales de almidones nativos y acetilados obtenidos a partir de la papa (*Solanum tuberosum*) var única. *Revista de la Sociedad Química del Perú* 2019;85(3):338-351.

Meneses-Sanjuan JD. Estudio para plastificación del almidón de papa proceso, estructura y propiedades [monografía en internet]. Universidad de los Andes, 2022. [consultado 2023 diciembre 18]. Disponible en: <https://repositorio.uniandes.edu.co/flip/?pdf=https://repositorio.uniandes.edu.co/server/api/core/bitstreams/e89de9c2-ddc3-4d3f-8ddf-f4f69db99d6d/content>

Mikaeili F, Gouma PI. Super water-repellent cellulose acetate mats. *Sci Rep* 2018;8(12472):1–8.

Miller KS, Krochta JM. Oxygen and aroma barrier properties of edible films a review. *Trends Food Sci Technol* 1997;81:228-237.

Moncayo-Martínez DC, Buitrago-Hurtado G, Algecira-Enciso NA. Películas comestibles a base de un biopolímero tipo dextrana. *Agronomía Colombiana* 2016;34:107-109.

Montes-Hernandez AI, Oropeza-Gonzalez R, Padrón-Pereira CA, Araya-Quesada Y. Películas biodegradables con propiedades bioactivas. *Rev Venez Cienc Tecnol Aliment* 2019;8(1):057-089.

Muscat D, Adhikari B, Adhikari R, Chaudhary DS. Comparative study of film forming behaviour of low and high amylose starches using glycerol and xylitol as plasticizers. *J Food Eng* 2012;109(2):189-201.

Obando-Mora A. Obtención de microcápsulas de antocianinas extraídas del corozo (*Bactris guineensis*) en una matriz polimérica de almidón químicamente modificado [monografía en internet]. Universidad Nacional de Colombia, 2022. [consultado 2023 diciembre 14]. Disponible en:

<https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/82139/1117529977.2022.pdf?sequence=2&isAllowed=y>

Omerović N, Djisalov M, Živojević K, Mladenović M, Vunduk J, Milenković I, Knežević NZ, Gadjanski I, Vidić, J. Antimicrobial nanoparticles and biodegradable polymer composites for active food packaging applications. *CRFSFS* 2021;20(3):2428–2454.

Oñate-Garzón J, Arévalo L, Yarce CJ, Salamanca CH. Nanoencapsulación de ampicilina dentro de liposomas para mejorar su desempeño contra distintas cepas de *Staphylococcus aureus*. *Vitae* 2018;25(1):S49-S50.

Orsini SMD, Aparicio GPP. Espectroscopia de infrarrojo con transformada de fourier (ft-ir) para análisis de muestras de harina de trigo, fécula de maíz y almidón de yuca. *Cienc Tecnol Aliment* 2021;19(1):5-16.

Pagno CH, Costa TM, de Menezes EW, Benvenuti EV, Hertz PF, Matte CR, y col. Development of active biofilms of quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) starch containing gold nanoparticles and evaluation of antimicrobial activity. *Food Chemistry* 2015; 173:755-762.

Peralta-Holguín WE. Obtención de nanocristales de celulosa a partir de residuos agrícolas [monografía en internet]. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, 2021 [consultado 2022 octubre 13]:1-40. Disponible en: <http://dspace.espech.edu.ec/bitstream/123456789/14619/1/156T0020.pdf>

Pryshchepa O, Pomastowski P, Buszewski B. Silver nanoparticles: Synthesis, investigation techniques, and properties. *Advances in Colloid and Interface Science* 2020:102246.

Pugazhendhi A, Prabakar D, Jacob JM, Karuppusamy I, Saratale RG. Synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Gelidium amansii* and its antimicrobial property against various pathogenic bacteria. *Microb Pathog* 2018;114:41-45.

Quiroz-Reyes MF. Efecto de la adición de goma xanthan y almidón de maíz en los atributos de textura en puré de pavo agrícolas [monografía en internet]. Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2019 [consultado 2022 octubre 18]: 1-32. Disponible en:

<https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/bc4aa509-39c9-4cf8-b44a-31f0a3284ffc/content>

Ramkumar VS, Pugazhendhi A, Gopalakrishnan K. Biofabrication and characterization of silver nanoparticles using aqueous extract of seaweed *Enteromorpha compressa* and its biomedical properties. *Biotechnol Rep* 2017;14:1-7.

Ranoszek-Soliwoda K, Tomaszewska E, Socha E, Krzyczmonik P, Ignaczak A, Orlowski P, Krzyzowska M, Celichowski G, Grobelny J. The role of tannic acid and sodium citrate in the synthesis of silver nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research* 2017;19.

Real-Huamaní CP. Reducción de la concentración del colorante industrial textil azul brl, aplicando nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de *Petroselinum crispum* [monografía en internet]. Lima: Universidad César Vallejo, 2019. [consultado 2022 octubre 17] Disponible en: [https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/42463/Real\\_HCP.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/42463/Real_HCP.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Rebouillat S, Pla F. State of the art manufacturing and engineering of nanocellulose a review of available data and industrial applications. *J Biomater Nanobiotechnol* 2013;4:165-188.

Reyes-González LR. Caracterización de dispersiones filmogénicas a base de almidón de maíz y ácido oleico en nanoemulsión con capacidad de formación de recubrimientos comestibles activos [monografía en internet]. Querétaro: Universidad Autónoma de Querétaro, 2013. [consultado 2023 diciembre 11] Disponible en: <https://ri-ng.uaq.mx/bitstream/123456789/619/1/RI003729.pdf>

Ríos-de-Benito LF, Escamilla-García M, García-Almendárez B, Amaro-Reyes A, Di Pierro P, Regalado-González C. design of an active edible coating based on sodium caseinate, chitosan and oregano essential oil reinforced with silica particles and its application on panela cheese. *Coatings* 2021;11(10):1212.

Rodríguez-Acosta H, Tapia-Rivera JM, Guerrero-Guzmán A, Hernández-Elizarraráz E, Hernández-Díaz JA, Garza-García JJO, Pérez-Ramírez PE, Velasco-Ramírez SF, Ramírez-Anguiano AC, Velázquez-Juárez G, Velázquez-López JM, Sánchez-Toscano YG, García-Morales S, Flores-Fonseca MM, García-Bustos DE, Sánchez-Chiprés DR, Zamudio-Ojeda A. Chronic wound healing by controlled release of chitosan hydrogels loaded with silver nanoparticles and calendula extract. *J Tissue Viability* 2022;31(1):173-179.

Rojas-Avelizapa NG, Regalado-Infante PE, Dávila-Lezama Ma. del R, Llarena-Hernández RC, Rojas-Avelizapa LI. Actividad antimicrobiana de nanopartículas de plata contra bacterias fitopatógenas. *Biológico Agropecuaria Tuxpan* 2020;8(2):01-07.

Romero-Bastida CA, Zamudio-Flores PB, Bello-Pérez LA. Antimicrobianos en películas de almidón oxidado de plátano efecto sobre la actividad antibacteriana, microestructura, propiedades mecánicas y de barrera. *Rev Mex Ing Quim* 2011;10(3):445-453.

Sachdev S, Ansari SA, Ansari MI, Fujita M, Hasanuzzaman M. Abiotic stress and reactive oxygen species generation, signaling, and defense mechanisms. *Antioxidants* 2021;10(2):277.

Salazar-Bravo P. Estudio de compuestos híbridos nanofibras y películas de celulosa nanocristalina reforzadas con grafeno (oxidado o reducido) por electrohilado. IPN 2023.

Salomoni R, Léo P, Montemor AF, Rinaldi BG, Rodrigues MFA. Antibacterial effect of silver nanoparticles in *Pseudomonas aeruginosa*. *Nanotechnol Sci Appl* 2017;10:115-121.

Sánchez-Aldana D, Contreras-Esquivel JC, Nevárez-Moorillón GV, Aguilar CN. Caracterización de películas comestibles a base de extractos pécticos y aceite esencial de limón mexicano. *CyTA J Food* 2014:1-9.

Seligra PG, Medina-Jaramillo C, Famá L, Goyanes S. Biodegradable and non-retrogradable eco-films based on starch-glycerol with citric acid as crosslinking agent. *Carbohydr Polym* 2016;138:66-74.

Sharma R, Jafari SM, Sharma S. Antimicrobial bionanocomposites and their potential applications in food packaging. *Food Control* 2020;112.

SIAP. Anuario estadístico de la producción agrícola [monografía en internet] 2022 [consultado 2022 septiembre 10]. Disponible en: <http://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>

Silguero-López CM. Uso de líquidos iónicos para la extracción de celulosa a partir de residuos vegetales [monografía en internet]. Ciudad Madero: Instituto Tecnológico de Ciudad Madero, 2022 [consultado 2022 octubre 17]: 1-88. Disponible en:

[https://rinacional.tecnm.mx/bitstream/TecNM/4245/1/G01070956\\_donacion\\_tesis\\_bib.pdf](https://rinacional.tecnm.mx/bitstream/TecNM/4245/1/G01070956_donacion_tesis_bib.pdf)

Singh J, Kaur L, McCarthy OJ: Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications a review. *Food Hydrocoll* 2007;21:1-22.

Slavutsky AM, Bertuzzi MA. Formulation and characterization of nanolaminated starch based film. *LWT Food Sci Technol* 2015;61:407-413.

Solano-Doblado LG, Alamilla-Beltrán L, Jiménez-Martínez C. Películas y recubrimientos comestibles funcionalizados. *TIP* 2018; 21(2):30-42.

Sood A, Saini CS. Red pomelo peel pectin based edible composite films: Effect of pectin incorporation on mechanical, structural, morphological and thermal properties of composite films. *Food Hydrocoll* 2022;123:107.135.

Sulbarán A, Matiz GE, Baena Y. Acetilación del almidón de millo (*Pennisetum glaucum*) y evaluación de su aplicación como posible excipiente. *Rev Colomb Cienc Quim Farm* 2018;47(2):255-276.

Szymańska-Chargot M, Chylińska M, Gdula K, Koziół A, Zdunek A. Isolation and characterization of cellulose from different fruit and vegetable pomaces. *Polymers* 2017;9(10):495.

Tirador M, Lipinski VM, Bermejillo AI. Caracterización del contenido de nitratos y la composición nutricional en zanahoria (*Daucus carota* L.) cultivada con diferentes dosis de fertilización np [monografía en internet]. Universidad Nacional de Cuyo, 2011 [consultado 2022 septiembre 10]. Disponible en: [https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos\\_digitales/4136/tesis-martatirador.pdf](https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/4136/tesis-martatirador.pdf)

Traxco. Transformación de la zanahoria [monografía en internet]. TRAXCO. S.A. 2014 [consultado 2022 julio 30]. Disponible en: <https://www.traxco.es/blog/produccion-agricola/transformacion-zanahoria>

Tupa-Valencia MV. Modificación organocatalítica de almidón para la obtención sostenible de derivados de alto valor agregado [monografía en internet]. Universidad de Buenos Aires, 2019 [consultado 2022 octubre 17]. Disponible en: [https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/81107/CONICET\\_Digital\\_Nro.c9f6a8d7-e72b-43a7-8fe9-aa27a87b20c7\\_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y](https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/81107/CONICET_Digital_Nro.c9f6a8d7-e72b-43a7-8fe9-aa27a87b20c7_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y)

Turhan KN, Şahbaz F. Water vapor permeability, tensile properties and solubility of methylcellulose-based edible films. *Journal of Food Engineering* 2004;61(3): 459-466.

Valdivieso-Molina F, Mollinedo P. Formación de almidón retrogradado relacionado a niveles de amilosa en el almidón de papa (*Solanum tuberosum*) y chuño. *Rev Cienc Farm Bioquim* 2021; 9(2).

Van-Nguyen S, Lee BK. Microfibrillated cellulose film with enhanced mechanical and water-resistant properties by glycerol and hot-pressing treatment. *Cellulose* 2021;28:5693–5705.

Vázquez-Luna A, Santiago M, Rivadeneira-Domínguez E, Díaz-Sobac R. Películas comestibles a base de almidón nanoestructurado como material de barrera a la humedad. *Ciencia UAT* 2019;13(2):152-164.

Versino F, García MA. Materiales eco-compatibles reforzados a base de almidón de mandioca para aplicaciones agronómicas. *Rev Matéria* 2018;23(4).

Vignola MB, Serra M, Andreatta AE. Actividad antimicrobiana de diversos aceites esenciales en bacterias benéficas, patógenas y alterantes de alimentos. *Rev Cienc Tecnol* 2020:02-100.

Villaruel P, Gómez C, Vera C, Torres J. Almidón resistente: Características tecnológicas e intereses fisiológicos. *Rev Chil Nutr* 2018;45(3):271-278.

Wahidin M, Srimarlita A, Sulaiman I, Indarti E. Transparency and thickness of jackfruit and durian seed starch edible film. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci* 2021;667(1).

Wyrwa J, Barska Y. Innovations in the food packaging market active packaging. *Eur Food Res Technol* 2017;243:1681-1692.

Xiaoxue-Yin I, Zhang J, Shuping-Zhao I, Lei-Mei M, Li Q, Hung-Chu C. The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry. *Int J Nanomedicine* 2020;15:2555-2562.

Yagos-Arias CJ. Síntesis de un polímero compostable a partir de almidón, como una alternativa para preparar plásticos de primer uso [monografía en internet]. Ambato: Universidad Técnica de Ambato, 2022 [consultado 2023 diciembre 17]. Disponible en <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/34277/1/t1935mquim.pdf>

Yong H, Liu J. Active packaging films and edible coatings based on polyphenol-rich propolis extract a review. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2021;20:2106–2145.

Zainal SH, Mohd NH, Suhaili N, Anuar FH, Lazim AM, Othaman R. Preparation of cellulose-based hydrogel: a review. *J Matter Res Technol* 2020.

Zambrano-Zambrano GA, García-Macías VL, Cedeño-Palacios CA, Alcívar-Cedeño UE. Aprovechamiento de la cascarilla de arroz (*Oryza sativa*) para la obtención de fibras de celulosa. *Pol Con* 2021;57(6):415-437.

Zarei M, Jamnejad A, Khajehali E. Antibacterial effect of silver nanoparticles against four foodborne pathogens. *Jundishapur J Microbiol* 2014;7(1):1-4.

Zhang W, Jiang W. Antioxidant and antibacterial chitosan film with tea polyphenols-mediated green synthesis silver nanoparticle via a novel one-pot method. *Int J Biol Macromol* 2019.

Żółek-Tryznowska Z, Bednarczyk E, Tryznowski M, Kobiela TA. Comparative investigation of the surface properties of corn-starch-microfibrillated cellulose composite films. *Materials* 2023;16(9).