



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN
ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA**



CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

Caracterización nanoscópica superficial y fisicoquímica de películas basadas en almidón de diferentes variedades de *Ullucus tuberosus* utilizando sorbitol y glicerol

Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del Título de Ingeniero Biotecnólogo, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: José Javier Acosta Camino

Tutor: Dr. Santiago Casado Rojo

Ambato – Ecuador

Agosto – 2024

APROBACIÓN DEL TUTOR

Dr. Santiago Casado Rojo

CERTIFICA:

Que el presente Informe Final del Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final del Trabajo de Titulación, opción Proyecto de Investigación. El mismo que responde a las normas establecidas en el reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 1 de julio de 2024.



firmado electrónicamente por:
**SANTIAGO CASADO
ROJO**

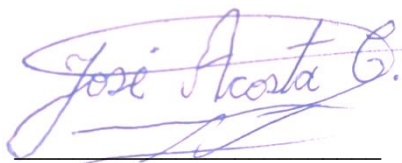
Dr. Santiago Casado Rojo

1759126954

TUTOR

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TUTULACIÓN

Yo, José Javier Acosta Camino, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero Biotecnólogo, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.

A handwritten signature in purple ink, reading "José Acosta C.", is positioned above a solid horizontal line.

José Javier Acosta Camino

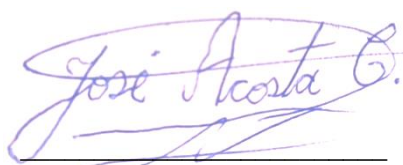
1805309372

AUTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe Final del Trabajo de Titulación parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final del Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además, apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



José Javier Acosta Camino

1805309372

AUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:



Firmado electrónicamente por:
**ESTEBAN MAURICIO
FUENTES PEREZ**

Presidente de Tribunal



Firmado electrónicamente por:
**MARIO DANIEL GARCIA
SOLIS**

Dr. Mario Daniel García Solís

1103605471



Firmado electrónicamente por:
**ORESTES DARIO LOPEZ
HERNANDEZ**

Dr. Orestes Darío López Hernández

1754784864

Ambato, 2 de agosto de 2024

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mi padre José Guillermo Acosta Morales, cuyo amor, apoyo, confianza, educación, guía y esfuerzo han sido el pilar fundamental de mi motivación a lo largo de este viaje académico.

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a los docentes y cada una de las personas que han formado parte de mi trayectoria en la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, que de una u otra manera hicieron posible la entrega de mi trabajo de titulación. En primer lugar, agradezco a Dr. Santiago Casado por su guía, paciencia y conocimientos compartidos a lo largo de este proceso. Su apoyo constante y su carácter han sido fundamentales para culminar este trabajo. A mis varios compañeros de estudio, quienes han llegado a brindarme una amistad y apoyo sincero durante toda esta etapa. A mis padres José Acosta y Luzmila Camino, por su amor incondicional y por bríndame un apoyo emocional y económico, que, sin su sacrificio y confianza no habría alcanzado esta meta.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	II
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TUTULACIÓN.....	III
DERECHOS DE AUTOR	IV
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	V
DEDICATORIA	VI
AGRADECIMIENTO	VII
ÍNDICE DE TABLAS	XI
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XII
ÍNDICE DE ANEXOS	XIV
RESUMEN EJECUTIVO	XV
ABSTRACT.....	XVI
CAPÍTULO I	1
MARCO TEÓRICO.....	1
1.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	1
1.1.1. Justificación.....	1
1.1.2. Impacto ambiental y la Biotecnología.....	1
1.1.3. Bioplásticos y polímeros naturales.....	2
1.1.4. Almidón de <i>Ullucus tuberosum</i> (mellico) para bioplásticos	2
1.1.5. Plastificantes utilizados para generación de las biopelículas	3

1.1.6.	Antecedentes del uso del glicerol y sorbitol para formación de Biopelículas.....	3
1.1.7.	Transmisión de vapor de agua.....	3
1.1.8.	Contenido de humedad en las biopelículas	3
1.1.9.	Solubilidad de las biopelículas.....	4
1.1.10.	Microscopía de Fuerza Atómica (AFM)	4
1.1.11.	Pruebas ópticas EVOS XL y espectroscopía por FTIR y UV/Vis	5
1.2.	OBJETIVOS	6
1.2.1.	Objetivo general	6
1.2.2.	Objetivos específicos	6
CAPÍTULO II		7
METODOLOGÍA		7
2.1.	MATERIALES Y EQUIPOS.....	7
2.1.1.	Materiales.....	7
2.2.	METODOLOGÍA	9
2.2.1.	Producción de biopelículas basadas en almidón de melloco con glicerol y sorbitol y toma de imágenes por microscopía óptica.	9
2.2.1.1.	Extracción de almidón	9
2.2.1.2.	Elaboración de películas	9
2.2.1.3.	Toma de imágenes por microscopía Óptica	10
2.2.2.	Pruebas fisicoquímicas para caracterización de películas	10
2.2.2.1.	Determinación de propiedades elásticas	10
2.2.2.2.	Determinación de la Permeabilidad del vapor de agua	11
2.2.2.3.	Cálculo del contenido de humedad	11
2.2.2.4.	Cálculo de la Solubilidad	11
2.2.3.	Caracterización de las biopelículas por espectrofotometría y AFM	12
2.2.3.1	Obtención de espectrofotometría UV/Vis.....	12

2.2.3.2. Caracterización nanoscópica - Microscopio de Fuerza Atómica	12
2.2.3.3. Obtención de Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier	13
CAPÍTULO III.....	14
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
3.1. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	14
3.1.1. Extracción del almidón	14
3.1.2 Elaboración de biopelículas	14
3.1.2 Determinación de propiedades elastométricas	16
3.1.3. Determinación de permeabilidad al vapor de agua (WVP).....	18
3.1.4 Contenido de humedad para las películas	19
3.1.5 Solubilidad total de las películas.....	20
3.1.7 Caracterización nanoscópica por AFM.....	22
3.1.7.1 Topografía.....	22
3.1.7.2 Fase	24
3.1.7.3 Amplitud	25
3.1.8. Obtención de espectrofotometría de absorción infrarroja con transformada de Fourier	26
CAPÍTULO IV.....	29
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	29
4.1. CONCLUSIONES	29
4.2. RECOMENDACIONES.....	30
MATERIALES DE REFERENCIA	31
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31
ANEXOS	36

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Materiales necesarios para el proyecto de investigación.	7
Tabla 2. Equipos necesarios para el trabajo de investigación.	8
Tabla 3. Componentes de las diferentes biopelículas generadas de las variedades de melloco, siendo: variedad amarilla (VA), variedad blanca (VB), variedad roja (VR), sorbitol (S), glicerol (G).	9
Tabla 4. Permeabilidad de las biopelículas formadas en las diferentes variedades de melloco y plastificante, considerando que WVP está en (10^{-2} g mm min ⁻¹ m ⁻² kpa ⁻¹). Las variedades están representadas como: variedad amarilla (VA), variedad blanca (VB) y variedad roja (VR), y los plastificantes como: glicerol (G) y sorbitol (S).	18
Tabla 5. Espesor de las biopelículas formadas en las diferentes variedades de melloco y plastificante. Las variedades están representadas como: variedad amarilla (VA), variedad blanca (VB) y variedad roja (VR), así mismo, los plastificantes se los expresa como: glicerol (G), sorbitol (S). Los datos están dados en mm.	21
Tabla 6. Opacidad de las biopelículas formadas con las diferentes variedades de melloco y plastificante. Las variedades están representadas como: variedad amarilla (VA), variedad blanca (VB) y variedad roja (VR), así mismo, los plastificantes: sorbitol (S) y glicerol (G), se empleó una longitud de onda de 560 nm. La opacidad se da en unidades de absorbancia por mm ⁻¹	22

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Proceso de la obtención de la harina de melloco rojo.	14
Figura 2. Proceso de generación de las biopelículas de melloco. Se muestra el caso de la variedad amarilla como ejemplo.....	15
Figura 3. Microscopía de las biopelículas en porcentajes de los extremos, plastificantes y carencia de plastificante. Todas las barras de escala equivalen a 100 μm	15
Figura 4. En la gráfica I representa la resistencia a la máxima tensión (R) de las biopelículas con sorbitol (S), para la variedad amarilla (VA), blanca (VB) y roja (VR). En la gráfica II, se reflejan los resultados de la resistencia a la máxima tensión (R) de las biopelículas conformadas con glicerol (G).	16
Figura 5. En la gráfica I representa el módulo de young (MY) de las biopelículas con sorbitol (S), para la variedad amarilla (VA), blanca (VB) y roja (VR). En la gráfica II, se observan los resultados de MY de las biopelículas conformadas con glicerol (G).	17
Figura 6. En la gráfica I representa la deformación en la máxima tensión (E) de las biopelículas con sorbitol (S), para la variedad amarilla (VA), blanca (VB) y roja (VR). En la gráfica II, se observan los resultados de la deformación en la máxima tensión (E) de las biopelículas que se agregó glicerol (G).	17
Figura 7. Se muestra el porcentaje del contenido de humedad (% CH) de las biopelículas formadas en las diferentes variedades de melloco y plastificante. Las variedades están representadas como: variedad amarilla (VA), variedad blanca (VB) y variedad roja (VR) para las figuras I e II.	19
Figura 8. Solubilidad (% S) de las biopelículas formadas en las diferentes variedades de melloco y plastificante. Las variedades están representadas como: variedad amarilla (VA), variedad blanca (VB) y variedad roja (VR) para las figuras y II.	20
Figura 9. Topografía de las biopelículas en porcentajes de los extremos, plastificantes y carencia de plastificantes, la escala de las imágenes es de $5 \times 5 \mu\text{m}^2$. Las variedades están representadas como: variedad amarilla (VA), variedad blanca (VB) y variedad roja (VR).	23

Figura 10. Fase de las biopelículas en porcentajes de los extremos, plastificantes y carencia de plastificantes en una escala $5 \times 5 \mu\text{m}^2$. Las variedades están representadas como: variedad amarilla (VA), variedad blanca (VB) y variedad roja (VR).	24
Figura 11. Amplitud de las biopelículas en porcentajes de los extremos, plastificante y carencia de plastificante a una escala de $5 \times 5 \mu\text{m}^2$. Las variedades están representadas como: variedad amarilla (VA), variedad blanca (VB) y variedad roja (VR).	25
Figura 12. Espectros IR cm^{-1} de las biopelículas de almidón de variedad amarilla (VA), blanca (VB) y roja (VR) con sorbitol (S) obtenidas por FTIR acoplado el ATR, aplicando corrección de línea base, corrección del ATR y normalización.	26
Figura 13. Espectros IR cm^{-1} de las biopelículas de almidón de variedad amarilla (VA), blanca (VB) y roja (VR) con glicerol (G) obtenidas por FTIR acoplado el ATR, aplicada corrección de línea base, corrección del ATR y normalización.	27
Figura 14. Acercamiento de espectros IR cm^{-1} de las biopelículas de almidón de variedad amarilla (VA), blanca (VB) y roja (VR) con sorbitol (S) y glicerol (G) obtenidas por FTIR acoplado el ATR, aplicada corrección de línea base, corrección del ATR y normalización. En las gráficas W, X y Y, se muestran acercamientos de picos para analizar con mayor objetividad.....	27

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Microscopía de las biopelículas en porcentajes de las muestras restantes con su respectiva variedad y plastificantes.....	36
Anexo 2. Topografía de las biopelículas en porcentajes de las muestras restantes con su respectiva variedad y plastificante a una escala de 5um x 5um	37
Anexo 3. Fase de las biopelículas en porcentajes de las muestras restantes con su respectiva variedad y plastificante a una escala de 5um x 5um.	39
Anexo 4. Amplitud de las biopelículas en porcentajes de las muestras restantes con su respectiva variedad y plastificante a una escala de 5um x 5um	41

RESUMEN EJECUTIVO

Este trabajo fue orientado a la creación de biomateriales, de las biopelículas generadas basadas en almidón de melloco, se ha determinado que, a mayor porcentaje de plastificante, menor será la rigidez y la resistencia del material; mientras que la flexibilidad y la deformación en la máxima tensión aumentarán. En cuanto a su interacción con el agua, las biopelículas con una mayor permeabilidad fueron las que tenían mayor concentración de plastificante. En las pruebas de solubilidad y contenido de humedad, los valores fueron dependientes del porcentaje de plastificante, mostrando valores menores utilizando sorbitol como plastificante. En las medidas ópticas se ha encontrado que los valores de opacidad son mayores al aumentar la concentración de plastificante. En las imágenes obtenidas con el microscopio de fuerza atómica, la topografía nanoscópica ha mostrado diferencias en la corrugación de las películas con diferente concentración de plastificante, así como en la amplitud y en la fase. Se ha observado que las películas con sorbitol y sin plastificante muestran una estructura superficial más homogénea, aumentando progresivamente la cantidad de morfologías ovaladas a medida que disminuye la cantidad de plastificante agregado. En la caracterización por Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier y reflectancia total atenuada (ATR-FTIR) se han obtenido espectros de absorción ligeramente distintos, dependientes del tipo de plastificante y variedad de melloco de las películas generadas. Toda esta caracterización se realizó con la finalidad de explorar su posible uso como alternativa a los plásticos convencionales.

Palabras Claves: biopelículas, almidón, melloco, glicerol, sorbitol, fisicoquímicas, microscopio de fuerza atómica, FTIR.

ABSTRACT

This work was aimed at the creation of biomaterials. From the bioplastics generated based on meloco starch, it was determined that the more percentage of plasticizer, the lower the rigidity and resistance of the material, but the higher flexibility and deformation at maximum stress. Regarding the interaction with water, the biofilms with higher plasticizer concentration showed higher permeability. Concerning the solubility and moisture content tests, the values were dependent on the percentage of plasticizer, revealing lower values when using sorbitol as plasticizer. Optical tests found that, as the plasticizer concentration increased, the opacity values increased. Regarding the images obtained using the atomic force microscope, the topography showed differences in the films' corrugation at different plasticizer concentrations, as well as contrasts at the amplitude and phase measurements. Those films with sorbitol and without plasticizer showed a more homogeneous structure, progressively increasing the appearance of oval morphologies as the amount of plasticizer is increased. Fourier Transform Infrared Spectroscopy with Attenuated Total Reflectance (ATR-FTIR) revealed slightly different spectra, depending on the type of plasticizer and variety of meloco in the generated films. All this characterization was carried out with the aim of exploring its possible use as an alternative to conventional plastics.

Key words: biofilms, starch, meloco, glycerol, sorbitol, physicochemical, atomic force microscopy, FTIR.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes investigativos

1.1.1. Justificación

La contaminación provocada por plásticos derivados de petróleo está aumentando continuamente, principalmente debido a su elevado tiempo de descomposición. Por causa del mal manejo de estos desechos existe una baja sostenibilidad de los reciclajes, con lo que la contaminación persiste (**Elgarahy et al., 2023**). Una posible solución a esta problemática consistiría en un paulatino reemplazo para estos polímeros sintéticos, ya que su demanda ha ido aumentando dentro de la industria (**Shafqat et al., 2020**).

Los bioplásticos basados en almidón podrían constituir una posible alternativa para paliar esta problemática, puesto que su conformación tiene como base polímeros naturales biodegradables. Para su uso en el desarrollo industrial en la actualidad, estos plásticos deberían tener unas características similares a la del plástico petroquímico (**Cárdenas-Alcaide et al., 2022**).

Una de las fuentes más habituales de almidón es el obtenido a partir de tubérculos como la patata (**Ilvis et al., 2024**) o la yuca (**Ebrahimzade et al., 2022**). No obstante, se conocen otras fuentes de almidón en Ecuador con enorme potencial que no han sido todavía exploradas completamente. Una de estas posibilidades es el melloco. Ya se ha demostrado la factibilidad del almidón extraído de este tubérculo para crear láminas (**Pico et al., 2022**). El estímulo de su producción mediante la provisión de un valor agregado al del consumo culinario podrá permitir, adicionalmente, un incremento en su cultivo, beneficioso para la industria local (**Velásquez-Barreto et al., 2021**). En este estudio se pretende analizar la generación de biopelículas basadas en almidón de melloco usando glicerol y sorbitol como plastificantes. El uso de uno y otro compuesto en diferentes concentraciones puede alterar las propiedades fisicoquímicas de las láminas generadas. Se propone en este trabajo generar láminas obtenidas a partir del almidón de melloco con plastificantes como el glicerol y el sorbitol, y caracterizarlas fisicoquímica, óptica y nanoscópicamente, con el objetivo de proporcionar una potencial alternativa a los plásticos derivados del petróleo basada en este tubérculo andino.

1.1.2. Impacto ambiental y la Biotecnología

La facilidad de su elaboración hace de los plásticos sintéticos materiales muy atractivos para la industria. Sin embargo, su elevado tiempo de descomposición natural, de aproximadamente 70 a 1000

años, los hacen también muy peligrosos para el medio ambiente (**Chamas et al., 2020**). Su acumulación está generando múltiples y crecientes inconvenientes ecológicos en la actualidad (**Yang et al., 2021**). Según **Rhodes (2018)**, entre 1950 y 2015 se generaron un total de 6.300 millones de toneladas de residuos plásticos primarios y secundarios (reciclados). Igualmente, la generación de estos plásticos implica la expulsión al medio ambiente gases generadores de efecto invernadero. Por ejemplo, en China los plásticos y su industria generan emisión de gases principalmente en las etapas de producción (**Chu et al., 2022**). Es por estas razones por las que se están buscando alternativas donde se utilicen productos más amigables con el medio ambiente. La Biotecnología podría dar un paso importante en este sentido, enfocándose en el desarrollo de protocolos y bioprocesos para investigar recursos naturales que podrían ser utilizados para generar alternativas que reduzcan este impacto ambiental.

1.1.3. Bioplásticos y polímeros naturales

Una de las posibilidades para la creación de bioplásticos a partir de polímeros naturales es el uso del almidón, el cual se encuentra abundantemente en la naturaleza y permite un entrecruzamiento molecular capaz de generar biopelículas. Los bioplásticos van a tener como principal característica la biodegradabilidad (**Chu et al., 2022**). Algunos de estos productos se han generado a partir de almidón de patata, yuca, maíz, entre otros (**Otálora González et al., 2023**); (**Mustapha & Wan, 2022**). Estos, por sí solos, no poseen prestaciones comparables a las de las películas plásticas basadas en el petróleo, ya que tienen poca resistencia mecánica a la tracción y no se podrían utilizar como una alternativa viable. Sin embargo, es posible añadir plastificantes naturales como el glicerol o el sorbitol en una proporción adecuada para que las láminas generadas tengan las características óptimas (**Ma et al., 2023**).

1.1.4. Almidón de *Ullucus tuberosus* (melloco) para bioplásticos

El almidón de melloco se puede conseguir a través de un proceso similar al utilizado para extraer el almidón de la patata. El tipo de almidón que se obtiene depende de las variedades: algunas especies pueden tener un porcentaje diferente de amilosa y amilopectina (**Choque-Quispe et al., 2024**). Al aplicar las diferentes pruebas fisicoquímicas y caracterizarlas óptica y mecánicamente, se comprueba que la eficiencia como biomaterial (láminas de biopolímero) depende de la variedad y del plastificante, por lo que es necesario realizar un estudio metódico y pormenorizado que permita determinar la mezcla idónea para estos fines. En este trabajo se ha realizado este estudio para el caso de algunas variedades de melloco.

Se ha extraído almidón de tres variedades de melloco (*Ullucus tuberosus*): amarilla, blanca y roja. Este almidón se ha combinado con dos tipos diferentes de plastificantes naturales: glicerol y sorbitol, para explorar sus diferentes características para producir un bioplástico. Analizando qué cantidad y tipo de plastificante debe ser añadido, se busca optimizar sus propiedades.

1.1.5. Plastificantes utilizados para generación de las biopelículas

El glicerol y el sorbitol se han utilizado como plastificantes en un estudio en el que se han medido las propiedades termo-selladoras de películas de almidón extraído de la yuca (**Lim et al 2020**). En ese estudio se ha demostrado que el aumento de sorbitol otorga una disminución en el contenido de humedad y en el espesor, pero le aporta una mayor flexibilidad. Esto quizás es debido a su estructura, compuesta por más grupos hidroxilos que el glicerol, lo que le otorga una mayor fuerza de sellado debido a su interacción con las cadenas poliméricas proporcionadas por el almidón.

1.1.6. Antecedentes del uso del glicerol y sorbitol para formación de Biopelículas

El uso de estos plastificantes en biopelículas ha sido registrado en algunos estudios. Según **Aguirre et al, 2013** se utilizó sorbitol y glicerol como plastificantes, evidenciando que el contenido de humedad en películas generadas con glicerol fue mayor en comparación con las películas que se generaron con sorbitol; además, las películas con sorbitol muestran mayor solubilidad que las películas con glicerol. En pruebas de resistencia de tracción y fuerza de punción, estos valores disminuyen con el aumento de la concentración de glicerol. Asimismo, en un estudio de **Farhan & Hani (2017)** se demostró que adicionando glicerol al 25% o 30%, o sorbitol al 30%, como plastificantes en la generación de películas, se obtiene un mayor contenido de humedad, una mayor solubilidad en agua y un aumento en la permeabilidad de vapor de agua, en contraste con el control sin plastificantes.

1.1.7. Transmisión de vapor de agua

La transmisión de vapor de agua determina la resistencia al paso de vapor de agua a través de la biopelícula. En los bioplásticos basados en almidón ayuda a conocer la permeabilidad de las biopelículas generadas. Se debe tener cuidado al momento de realizar la prueba puesto que este aumento de peso en los contenedores utilizados puede diferir debido a que los cambios de peso son mínimos (**Chemiru & Gonfa, 2023**).

1.1.8. Contenido de humedad en las biopelículas

El contenido de humedad mide la cantidad de agua absorbida por las muestras, lo cual es fundamental conocer para explicar algunas características fisicoquímicas observadas en las biopelículas, así como para, posiblemente, minimizar crecimientos microbianos no deseados. Sin embargo, un bajo contenido de humedad puede generar en algunos casos, dependiendo de la estructura interna, películas más frágiles.

1.1.9. Solubilidad de las biopelículas

Otra prueba fisicoquímica es la solubilidad, la cual mide la capacidad de desintegración de la biopelícula al ser puesta en contacto del agua. Si las biopelículas son demasiado solubles, esto puede ser un problema si se pretenden utilizar como materiales para contener líquidos. Por el contrario, las láminas con una menor solubilidad pueden utilizarse como remplazo de plásticos rígidos.

1.1.10. Microscopía de Fuerza Atómica (AFM)

La obtención de la topografía nanoscópica de la superficie de las películas puede ayudar a comprender los fenómenos macroscópicos observados, lo que permitiría un mayor control y, por consiguiente, una posible mejora en la calidad (Fadeel, 2022). El microscopio de barrido electrónico (SEM) utiliza un filamento térmico que emite electrones, los cuales se enfocan por medio de una serie de lentes magnéticos dirigidos a la muestra interactuando con su superficie esto va a generar una señal y de la misma se obtiene imágenes de alta resolución (Barandiaran *et al.*, 2024).

Pese a que también se utiliza en este tipo de estudios, no es recomendable para bioplásticos, puesto que si el material no es conductor se requiere un recubrimiento de la muestra con metales, lo que merma su resolución. El microscopio de fuerza atómica (AFM) es una técnica basada en la medición de fuerzas intermoleculares entre una punta afilada y la superficie de la muestra (Tsoligkas *et al.*, 2012). El AFM genera imágenes de topografía al recorrer la superficie de la muestra con una punta de radio nanométrico en su extremo. Esta punta se encuentra en el borde de una lámina voladiza denominada cantiléver, que va escaneando la superficie de la muestra intermitentemente, generando imágenes topográficas con resolución nanométrica. La posición del cantiléver y la punta están controlados por una plataforma movida por materiales piezoeléctricos de elevada precisión, a la cual están adheridos. Se ha demostrado la capacidad de esta técnica para caracterizar la superficie de células vivas y para correlacionar la corrugación superficial con propiedades macroscópicas observables (S. Casado *et al.*, 2017) (S. Casado, 2017).

El modo que se ha utilizado en este estudio es el modo *tapping*. Este modo opera con una oscilación inicial, en donde el cantiléver oscila antes de aproximarse a la muestra a su frecuencia ligeramente inferior a la de resonancia libre en el aire. Cuando las fuerzas de interacción punta-muestra aumentan, la amplitud de la oscilación se reduce, y el programa del AFM envía una señal al material piezoeléctrico solidario a la punta para que levante ésta. Esta altura necesaria para recuperar la amplitud de oscilación inicial es lo que se toma como la altura de la muestra. Si, en cambio, se encuentra con una depresión, la oscilación aumentará, con lo que el equipo bajará la altura de la punta para recuperar de nuevo la amplitud inicial, tomando este descenso como la profundidad del objeto escaneado. Se utiliza este modo

tapping ya que ejerce menores fuerzas laterales que, por ejemplo, el modo contacto (**Park Systems 2022**).

Dentro de los parámetros que se monitorean durante la obtención de las imágenes, se encuentra la amplitud, la fase, el error y la topografía, los cuales van a ser dependientes del modo que se esté aplicando. La amplitud en el modo *tapping* representa la magnitud de la oscilación del cantiléver. Por otra parte, el error va a ser la diferencia entre la amplitud de oscilación deseada y la amplitud real medida. La fase es el desfase entre la oscilación del cantiléver y la señal aplicada para mantenimiento de la oscilación, lo cual está relacionado con la energía disipativa provocada por la colisión entre la punta y la muestra en cada píxel. Por último, la topografía viene a ser la representación tridimensional en donde se muestran los relieves y depresiones luego del escaneado de la muestra (**Parker et al., 2022**).

1.1.11. Pruebas ópticas EVOS XL y espectroscopía por FTIR y UV/Vis

Para obtener las imágenes de microscopía óptica, en este estudio se utilizó el microscopio EVOS XL, un microscopio invertido equipado con capacidad de análisis en tiempo real. Por otro lado, también se han utilizado equipos para caracterizar las películas por medio de espectroscopía de absorción, como el ATR-FTIR (Espectroscopía de Infrarrojo por Transformada de Fourier con Reflectancia Total Atenuada, por sus siglas en inglés), que permite el análisis e identificación de la composición química de una muestra a través de la interacción con la radiación infrarroja. Los enlaces químicos específicos de los grupos funcionales presentes en una muestra causan absorción a unos determinados y específicos números de onda. Asimismo, también se ha utilizado la técnica analítica de espectroscopía ultravioleta-visible (UV/Vis). Ésta se basa en la absorción de radiación electromagnética en la región ultravioleta o visible del espectro por parte de las moléculas que están presentes en la muestra (**Piccolo et al., 2019**).

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Caracterizar nanoscópicamente la superficie y propiedades fisicoquímicas de películas de almidón basadas en variedades de *Ullucus tuberosus* utilizando sorbitol y glicerol como plastificantes.

1.2.2. Objetivos específicos

- Producir películas basadas en almidón de variedades de melloco (*Ullucus tuberosus*) incorporando sorbitol y glicerol como plastificantes para toma de imágenes por microscopía óptica.
- Determinar medidas fisicoquímicas para caracterización de las biopelículas generadas.
- Medir la topografía nanoscópica superficial de las biopelículas usando el AFM y de los espectros de absorción mediante espectroscopía infrarroja y de ultravioleta-visible.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1. Materiales y equipos

El presente trabajo de titulación fue de tipo experimental y se llevó a cabo en los laboratorios académicos de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato. En la Tabla 1 se enlistan los materiales.

2.1.1. Materiales

Tabla 1.

Materiales necesarios para el proyecto de investigación.

Materiales	Cantidad
Variedades de melloco (amarillo, blanco y rojo)	10 kg aproximados por variedad.
Vasos de precipitación de diferente tamaño	Variedad de vasos de 100, 50, 200, 250, 500, 1000 ml
Papel aluminio	1 rollo
Celdas de cuarzo	2 celdas
Frascos estériles	6 frascos
Agitador magnético	3 agitadores de diferente tamaño
Pinzas y aguja	1
Fundas ziplog	1 paquete
Contenedores de vidrio para prueba de absorción de vapor de agua	11 frascos

Portaobjetos	3
Desecador	2
Cinta doble faz	1

2.1.2 Equipos

Tabla 2.

Equipos necesarios para el trabajo de investigación.

Equipos	Laboratorio
Microscopio Óptico invertido EVOS XL	Laboratorios de la UODIDE
Microscopio de fuerza atómica (AFM)	Canje de deuda
Espectrofotómetro de infrarrojo de TF (FTIR)	Canje de deuda
Espectrofotómetro accuSkan GO UV/Vis	Laboratorios de la UODIDE
Estufa	Laboratorios de la UODIDE
Horno Binder	Canje de deuda
Incubadora	Laboratorios de la UODIDE
Balanza analítica	Laboratorios de la UODIDE
Licuada	Laboratorios de la UODIDE

2.2. Metodología

2.2.1. Producción de biopelículas basadas en almidón de melloco con glicerol y sorbitol y toma de imágenes por microscopía óptica.

2.2.1.1. Extracción de almidón

Se utilizó la metodología de **Ghoshal & Kaur (2023)** empleando algunas modificaciones: se seleccionó el melloco de las variedades amarilla, blanca y roja, se lavaron con cuidado los tubérculos y se cortaron en trozos pequeños para posteriormente licuarlos añadiendo 1500 mL aproximadamente de agua destilada. Después, con la ayuda de un colador de 1,5 mm aproximadamente, se tamizó el licuado en vasos de precipitación de 1000 mL y se dejó decantar durante aproximadamente 6 horas. Después se realizaron re-suspensiones hasta que el extracto tuvo una coloración blanquecina. Se colocó este extracto en láminas de aluminio y se llevó a una incubadora a 40°C, hasta que éste tuvo una textura sólida y se pudo triturar utilizando un mortero y pistilo. Finalmente, se tamizó con un diámetro de poro de aproximado de 180 µm hasta obtener el polvo del extracto, el cual se almacenó en frascos estériles.

2.2.1.2. Elaboración de películas

Para poder analizar el distinto comportamiento de las películas basadas en almidón de melloco, se estudiaron las láminas obtenidas a partir de las concentraciones indicadas en la Tabla 3, considerando la siguiente denominación: g almidón: mL agua destilada: mL plastificante, y que las iniciales corresponden a las diferentes variedades y plastificantes: variedad amarilla (VA), variedad blanca (VB), variedad roja (VR), sorbitol (S), glicerol (G) y sin plastificante (0P):

Tabla 3.

Componentes de las diferentes biopelículas generadas de las variedades de melloco, siendo: variedad amarilla (VA), variedad blanca (VB), variedad roja (VR), sorbitol (S), glicerol (G).

Concentraciones	VA	VB	VR
0	5g: 100mL:0mL	5g: 100mL:0mL	5g: 100mL:0mL
1S	5g: 100mL:1mL	5g: 100mL:1mL	5g: 100mL:1mL
2S	5g: 100mL:2mL	5g: 100mL:2mL	5g: 100mL:2mL
3S	5g: 100mL:3mL	5g: 100mL:3mL	5g: 100mL:3mL
4S	5g: 100mL:4mL	5g: 100mL:4mL	5g: 100mL:4mL
5S	5g: 100mL:5mL	5g: 100mL:5mL	5g: 100mL:5mL

1G	5g: 100mL:1mL	5g: 100mL:1mL	5g: 100mL:1mL
2G	5g: 100mL:2mL	5g: 100mL:2mL	5g: 100mL:2mL
3G	5g: 100mL:3mL	5g: 100mL:3mL	5g: 100mL:3mL
4G	5g: 100mL:4mL	5g: 100mL:4mL	5g: 100mL:4mL
5G	5g: 100mL:5mL	5g: 100mL:5mL	5g: 100mL:5mL

En todos los casos presentados en la Tabla 3, las mezclas se colocaron en agitación continua a 200 rpm con agitador magnético en una plancha aumentando la temperatura hasta que la mezcla estuvo suficientemente espesa (**Salazar *et al.*, 2021**). Obtenida la solución de las películas, de 20 mL a 25 mL de la solución se colocaron en placas Petri de 100 mm de diámetro por 10 mm de altura, y se llevaron a enfriar en una incubadora entre 40-50°C. Las soluciones se dejaron secar en la incubadora y luego se retiraron a un desecador a temperatura ambiente. Finalmente, las láminas fueron retiradas de las placas y almacenadas para realizar las pruebas de caracterización (**Imoisili & Jen, 2023**).

2.2.1.3. Toma de imágenes por microscopía Óptica

Se procedió a cortar muestras cuadradas de 1 a 2 cm por lado de cada una de las películas del almidón obtenido de todas las mezclas indicadas en el punto 2.2.1.2. Estas muestras se observaron con un microscopio invertido EVOS XL con luz blanca en transmisión. Cada una de las muestras fue fijada al portaobjetos con cinta adhesiva en los extremos de las secciones de las láminas que se analizaron y se posicionaron en el microscopio. Se realizaron capturas utilizando un objetivo de 40x y 0,65 de apertura numérica (**Perez *et al.*, 2022**).

2.2.2. Pruebas fisicoquímicas para caracterización de películas

2.2.2.1. Determinación de propiedades elásticas

La resistencia a la máxima tensión (R), deformación en la máxima tensión (E) y módulo de Young (MY) de las películas se obtuvieron en condiciones ambientales utilizando una modificación del método estándar ASTM D 882–88 con un texturómetro Brookfield CT3 (Ametek, USA). Las películas se cortaron en tiras rectangulares de 3-6 cm de largo x 2 cm de ancho. La velocidad de separación entre las mordazas se configuró a 50 mm/s y se promediaron los resultados de 3 réplicas de cada muestra (**Pico *et al.*, 2022**).

2.2.2.2. Determinación de la Permeabilidad del vapor de agua

Para la permeabilidad al vapor de agua (WVP) se utilizaron cámaras de vidrio con abertura circular de aproximadamente 16,5 mm de diámetro, en donde se colocó una cantidad conocida de gel de sílice seco y se sellaron con cada una de las películas obtenidas. Las cámaras fueron colocadas dentro de un recipiente en presencia de agua destilada en saturación. Las muestras fueron expuestas al vapor de agua saturado en condiciones ambientales durante al menos 8 horas y se registró el peso cada hora. Todas las mediciones se hicieron por triplicado. Para obtener el valor de la permeabilidad al vapor de agua, se ocupó la regresión lineal del peso (w) versus el tiempo (t), el espesor (x), área de permeación (A) dado por la apertura del recipiente y la diferencia parcial de presión de vapor entre atmósfera (ΔP), con gel de sílice y agua pura en condiciones ambientales:

$$WVP = \frac{w}{t A} * \frac{x}{\Delta P}$$

(Arancibia *et al.*, 2015)

2.2.2.3. Cálculo del contenido de humedad

El contenido de humedad (CH) de las películas se determinó gravimétricamente. Se tomaron muestras de cada película de un tamaño similar, sin ningún tratamiento adicional y fueron pesadas (W_m). Las piezas se secaron a 105 °C durante 24 h y se volvieron a pesar (W_d). Los datos se obtuvieron utilizando la siguiente ecuación:

$$\%CH = \frac{(W_m - W_d)}{W_d} * 100$$

(Akhter *et al.*, 2019)

2.2.2.4. Cálculo de la Solubilidad

La medida de solubilidad o porcentaje de solubilidad en agua ($\%S$) se obtuvo considerando el método de Gontard utilizado por **Rotta *et al.* (2009)** con algunas modificaciones en el tamaño de las muestras y la velocidad de agitación. Para ello, se midieron muestras cuadradas de aproximadamente 5 mm de lado. Para obtener el peso inicial (W_i) se midió con una balanza cada una de las muestras. Después, se

colocaron en frascos con 30 ml de agua destilada y se llevaron a agitación a 70 rpm durante 24 h a temperatura ambiente. Luego, se recuperaron las muestras y se las llevó a almacenar a 105°C nuevamente por 24 h. Finalmente, se determinó el peso seco final (W_i) de cada muestra. El porcentaje de solubilidad fue determinado a partir de la siguiente expresión:

$$\%S = \frac{(W_i - W_f)}{W_i} * 100$$

2.2.3. Caracterización de las biopelículas por espectrofotometría y AFM

2.2.3.1 Obtención de espectrofotometría UV/Vis

Se utilizó un espectrofotómetro accuSkan GO UV/Vis (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.), que posee una luz Ultravioleta/visible para la determinación de la opacidad de cada una de las películas. Para realizar la medición, se cortaron muestras rectangulares teniendo en cuenta el tamaño de las celdas que se introdujeron en el equipo. La celda vacía fue considerada como el blanco para la prueba. Las mediciones de absorción (Abs_{560}) se realizaron por triplicado en condiciones ambientales a la longitud de onda de 560 nm. Considerando el espesor de la película (X), el cual se obtuvo con la ayuda de un micrómetro, la opacidad (O) se calculó mediante la ecuación:

$$O = \frac{Abs_{560}}{X}$$

(Arancibia *et al.* 2015)

2.2.3.2. Caracterización nanoscópica - Microscopio de Fuerza Atómica

Se colocó un pequeño pedazo de entre 4 x 4 mm² y 8 x 8 mm² de cada una de las láminas en el disco magnético porta-muestras del AFM con cinta doble cara. Preparadas las muestras, se determinó su topografía nanoscópica superficial con el AFM. Las muestras fueron ingresadas en el campo óptico del objetivo acoplado al equipo y se focalizó la imagen. Luego, se cerró el sistema de aislamiento acústico para evitar perturbaciones y, finalmente, se escaneó el área de cada una de las muestras bajo las siguientes características:

- Size: 5 x 5 μm²
- Resolución de imagen: 512 x 512 pixeles²
- Velocidad de escaneo: entre 0.5 y 1 Hz.

Para evitar posibles deformaciones plásticas debido a la presión lateral de la punta sobre la muestra, se utilizó el modo dinámico (*tapping*), consistente en el escaneo de la superficie por el mantenimiento de un valor constante de la amplitud de oscilación del cantiléver, ligeramente inferior al de la oscilación en resonancia libre (**Park Systems, 2022**).

2.2.3.3. Obtención de Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier

Los espectros de absorción óptica de las películas se registraron con un espectrofotómetro infrarrojo de transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (ATR-FTIR). El ATR se combina al FTIR para generar una onda evanescente que interactúa así con las moléculas de la muestra absorbiendo frecuencias específicas. Finalmente, dicha luz se recoge y analiza para producir un espectro de absorción infrarroja. Los espectros correspondientes a cada una de las muestras generadas se obtuvieron mediante idéntico protocolo: se posicionaron directamente sobre la celda ATR, se presionaron con el vástago y se hizo el barrido de números de onda (**Bai et al., 2023**).

Se aplicó una corrección de línea base para compensar la distorsión de la pendiente del espectro trazando una línea de conexión desde los puntos mínimos de absorbancia entre dos o más picos. De este modo se corrige la pendiente de base, creando una función paralela a los puntos mínimos de absorbancia a lo largo del espectro (**Smith et al., 2023**). Luego fue aplicada la corrección ATR, puesto que, al utilizarlo, éste induce cambios relativos en la intensidad de la banda, además de cambios de frecuencia, por lo que es necesario corregir estos desplazamientos relativos (**Corujo et al., 2018**).

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis y discusión de los resultados

3.1.1. Extracción del almidón

Siguiendo con el protocolo mencionado en el punto 2.2.1.1 de la metodología, se extrajo la harina (almidón) de las tres variedades de melloco. El resultado fue la obtención de una harina de color blanquecino independiente del color de la variedad de melloco, la cual fue utilizada para elaborar biomateriales (bioplásticos) (**Pacheco *et al.*, 2019**). En la Figura 1 se observan las partes principales del proceso de extracción de las harinas de melloco.



Figura 1. Proceso de la obtención de la harina de melloco rojo.

3.1.2 Elaboración de biopelículas

Las biopelículas se elaboraron una por una de acuerdo con las condiciones indicadas en el punto 2.2.1.2 de metodología. Asimismo, se ocuparon las cantidades indicadas en la Tabla 3 para generar un total de 33 tipos de biopelículas. Finalmente, se obtuvieron películas semejantes a las estructuras y apariencias de los plásticos convencionales como se muestra en la Figura 2. A simple vista y tacto, presentaban una buena conformación y consistencia como bioplástico. Con este biomaterial ya generado, se procedió con la caracterización fisicoquímica y con la caracterización óptica.



Figura 2. Proceso de generación de las biopelículas de melloco. Se muestra el caso de la variedad amarilla, como ejemplo.

3.1.1 Microscopía óptica EVOS XL

Tipo	0 % de Plastificante	5 % Sorbitol	5 % Glicerol
VA			
VB			
VR			

Figura 3. Microscopía de las biopelículas en porcentajes de los extremos, plastificantes y carencia de plastificante. Todas las barras de escala equivalen a 100 μm .

En la Figura 3, se presenta la diferencia morfológica microscópica de las biopelículas conformadas desde un contenido nulo de plastificante hasta el máximo indicado en la Tabla 3, esto es, 5 % para sorbitol (S) y 5 % para glicerol (G), observadas por microscopía óptica. Se observó que existe una

similitud en la estructura sin plastificante en las tres variedades. En los casos de la variedad amarilla (VA) y la variedad roja (VR), al utilizar un 5 % de S se observa una gran diferencia, comparado con las que carecían de plastificantes, en concordancia con un estudio realizado por **Gao et al., 2014**. Las estructuras ovoidales que se presentan en las imágenes pueden corresponder a la presencia de almidón en el biomaterial. En variedad roja (VR) se observa que en 5 % de S la estructura es similar a la que se muestra en 0%.

En los mellocos de VA al 5 % de G se presentó una estructura acoplada por lo que la distribución en las láminas fue equitativa en toda la imagen, mientras que, al mismo porcentaje, para VB y VR, se observa una baja cantidad de aquellas estructuras en comparación con VA, además, la cantidad y el tipo de plastificante puede ser la causa para que las estructuras se muestren de esa manera, puesto que en 5 % de S no se muestran estructuras con similar acoplamiento.

3.1.2 Determinación de propiedades elastométricas

Los resultados de las propiedades mecánicas se muestran a continuación de la siguiente manera: (R) que indica la resistencia a la máxima tensión (Figura 4), el Módulo de Young (MY), que representa la rigidez elástica del material (Figura 5) y la deformación en la máxima tensión (E), que permite comparar la modificación de la extensión la muestra en el punto de máxima tensión (Figura 6). La caracterización de dichas propiedades ayudará a entender la funcionalidad del biomaterial en la industria, como, por ejemplo, en los recubrimientos alimenticios, recubrimientos medicinales o sustituto del plástico convencional (**Tarique et al, 2021**).

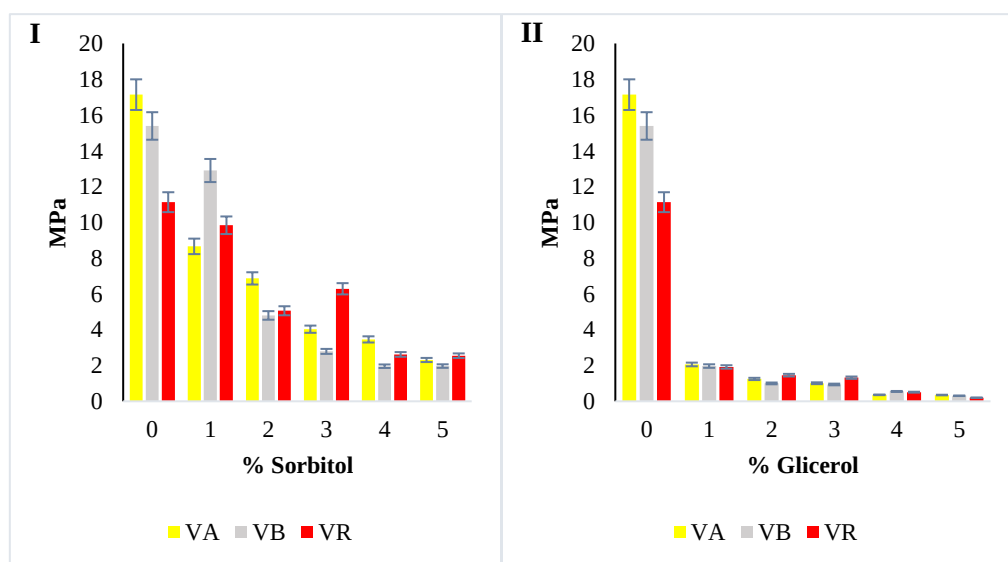


Figura 4. En la gráfica I representa la resistencia a la máxima tensión (R) de las biopelículas con sorbitol (S) para las variedades amarilla (VA), blanca (VB) y roja (VR). En la gráfica II se reflejan los resultados de la resistencia a la máxima tensión (R) de las biopelículas conformadas con glicerol (G).

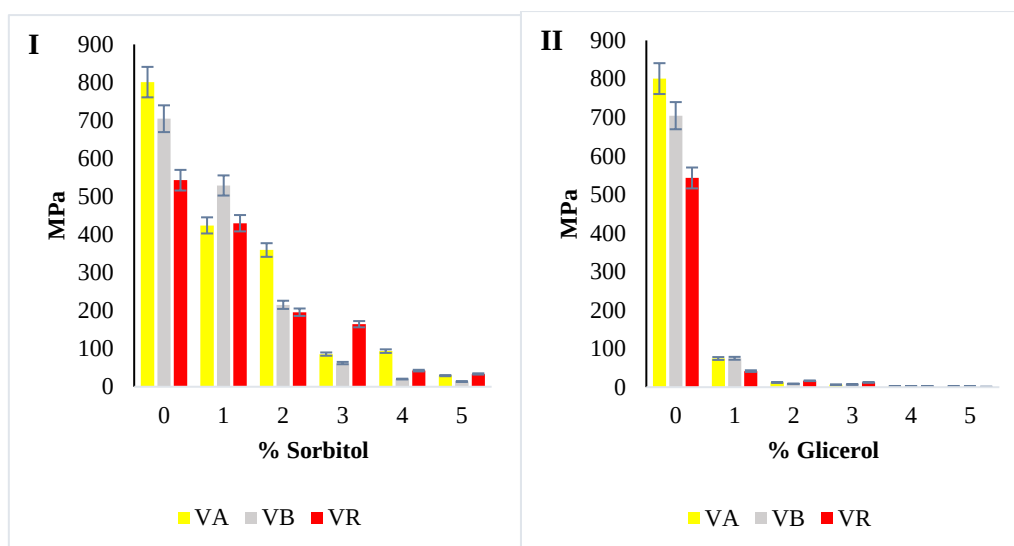


Figura 5. En la gráfica I representa el módulo de Young (MY) de las biopelículas con sorbitol (S), para la variedad amarilla (VA), blanca (VB) y roja (VR). En la gráfica II se observan los resultados de MY de las biopelículas conformadas con glicerol (G).

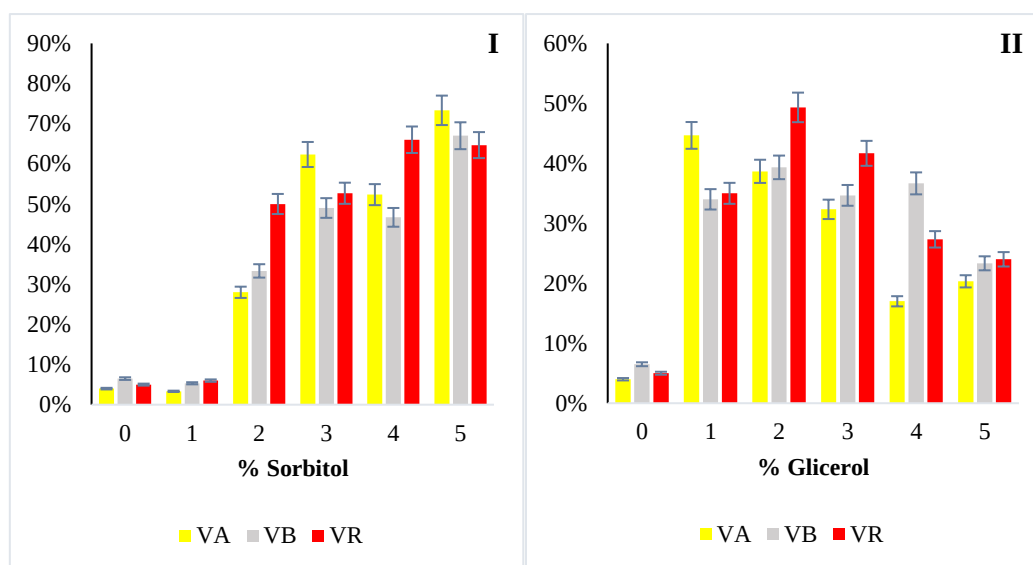


Figura 6. En la gráfica I representa la deformación en la máxima tensión (E) de las biopelículas con sorbitol (S), para la variedad amarilla (VA), blanca (VB) y roja (VR). En la gráfica II se observan los resultados de la deformación en la máxima tensión (E) de las biopelículas que se agregó glicerol (G).

Se observó en las muestras evaluadas que, al aumentar la concentración de plastificante, aumentó E. De la misma manera fueron reportaron resultados similares por (Taljaet *et al.*, 2007) y (Jouki *et al.*, 2023). Además, el uso de S como plastificante presenta valores más altos en relación con el G. Sin embargo, las biopelículas generadas sin plastificantes presentan valores bajos de E en comparación con las que contenían plastificante. Esto puede estar relacionado con el contenido de humedad, donde el almidón interactúa con las moléculas de agua que asume el rol de plastificante (Talón *et al.*, 2017).

En contraste, los valores de R, que presentan un efecto contrario, mostraron que de menor a mayor concentración de plastificante disminuye la resistencia, y se observó que las biopelículas con G presentan una disminución significativa de R, a diferencia del S. Un valor de R alto en aquellas películas generadas sin plastificante o con menor concentración de éste podría deberse al predominio de fuertes enlaces de hidrógeno intermoleculares formados por las interacciones almidón-almidón o almidón-plastificante (Smits *et al.*,2003). De la misma manera, se reporta en varios estudios que las biopelículas a base de almidón presentan una reducción en R a medida que aumenta la concentración de plastificante, como por ejemplo los reportados revelados por (Muscat *et al.*,2012) y (López, 2011).

El valor del MY más alto indica una mayor rigidez del material (Tarique *et al.*, 2021). Se observó que sin plastificante y con menor concentración de plastificante (S) el valor de MY es mayor, a diferencia de los valores obtenidos a mayores concentraciones de G, que es menor. Según Ramin *et al.*, 2018, a menor concentración de plastificante se presentan mejores características de rigidez. Además, se observó que el valor de R es proporcional al MY, como en los datos reportados por (Daza *et al.*,2021).

3.1.3. Determinación de permeabilidad al vapor de agua (WVP)

En la Tabla 4 se puede observar una reacción escalar directa: cuanto mayor plastificante se le agregue a la mezcla, la permeabilidad de vapor aumenta, lo cual puede atribuirse a la naturaleza hidrofílica del G y del S. La adición de los plastificantes podría también permitir la reorganización de la red de los polisacáridos, provocando un aumento del volumen libre y de los movimientos segmentarios, logrando que las moléculas de agua se difundan más fácilmente, desarrollando una estructura menos permeable (Farhan & Hani, 2017).

Tabla 4.

Permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las biopelículas formadas en las diferentes variedades de melloco y plastificante, en unidades de $10^{-2} \text{ g mm min}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ kPa}^{-1}$. Las variedades están representadas como: variedad amarilla (VA), variedad blanca (VB) y variedad roja (VR), y los plastificantes como: glicerol (G) y sorbitol (S).

Variedad (plastificante) / concentración plastificante	0 %	1 %	2 %	3 %	4 %	5 %
VA(S)	4,1±0,3	5,1±0,2	5,4±0,2	5,9±0,3	6,3±0,1	6,8±0,2
VB(S)	4,4±0,3	4,6±0,4	6,0±0,2	6,3±0,1	6,9±0,1	7,1±0,1
VR(S)	4,7±0,2	4,9±0,1	5,8±0,2	5,4±0,3	6,5±0,1	6,7±0,2
VA(G)	4,1±0,3	7,1±0,2	7,4±0,1	7,6±0,1	8,3±0,1	8,5±0,1
VB(G)	4,4±0,3	7,2±0,1	7,8±0,2	8,0±0,1	8,4±0,1	8,5±0,1
VR(G)	4,7±0,2	7,3±0,1	7,5±0,1	7,8±0,1	8,3±0,1	8,4±0,1

De acuerdo con **Pico et al. (2022)**, las biopelículas generadas a partir de almidón de melloco tienen un valor de WVP igual a $8,1\pm0,1$. En el presente estudio, al utilizar una cantidad similar de almidón (en las láminas de VB al 3 % de G) coincide aproximadamente con el valor encontrado de $8,0\pm0,1$ en los valores de VA y VR con 3 % de G.

Los valores encontrados de WVP concuerdan con los resultados obtenidos previamente en las pruebas físicas, en donde, los valores mayores de permeabilidad representan menor resistencia a la máxima tensión, mayor flexibilidad y deformación en la máxima tensión. Al contrario, valores más pequeños de WVP reflejan que la biopelícula tiene una menor resistencia a la máxima tensión y rigidez mayor (**Cazón et al., 2017**).

3.1.4 Contenido de humedad para las películas

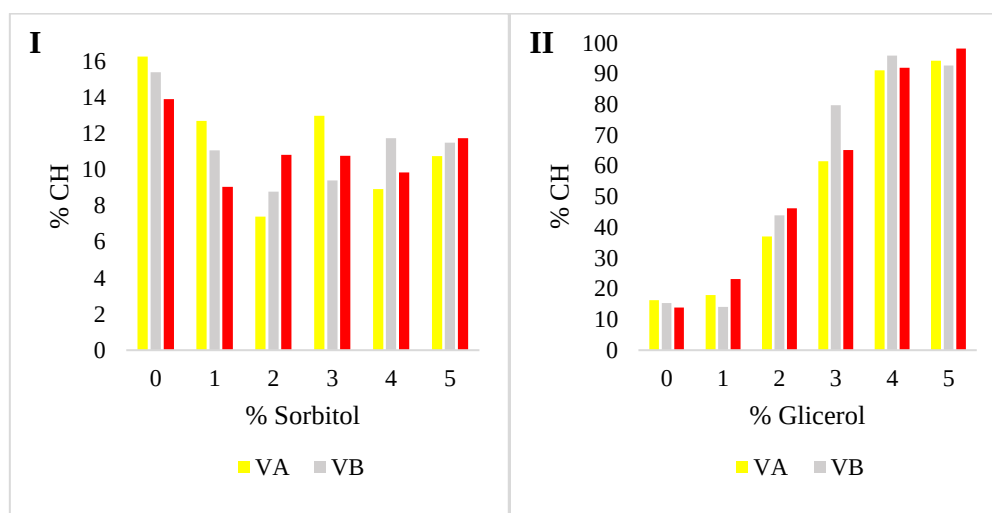


Figura 7. Se muestra el porcentaje del contenido de humedad (% CH) de las biopelículas formadas en las diferentes variedades de melloco y plastificante. Las variedades están representadas como: variedad amarilla (VA), variedad blanca (VB) y variedad roja (VR) para las figuras I y II.

De acuerdo con la Figura 7 el % CH fue menor en las biopelículas con S, siendo el de mayor valor el conformado por VA al 1 %, con un valor de $12,7\pm0,4$ % de contenido de humedad. Los valores de contenido de humedad de G fueron dependientes del porcentaje de plastificante utilizado. El valor menor para las muestras que contienen G fue de $14,1\pm0,5$ %, obtenido en el caso del 1 % de G en la muestra VB, mientras que el valor mayor corresponde a VR con un 5% de G, en cuyo caso fue de $98,1\pm1,9$ %. Cabe recalcar que los valores con 4 % y 5 % de G superan el 90 % de contenido de humedad debido a su comportamiento hidrófilo.

Majamo & Amibo, 2023 reportan en su investigación un % CH de $9,55\pm0,21$ % al 0 % de carga de fibra y de $8,32\pm0,32$ % con la mayor carga, que fue de un 16 % para biopelículas reforzadas de anchota y fibra de ensete. De esto se considera que la carga de fibra del refuerzo es alta, mientras que según los

resultados de la Figura 7, se consigue un valor de $7,4\pm0,5$ % utilizando tan solo un 2 % de S en VA, considerando todas las biopelículas generadas, aun así, esta película llega a ese valor con menor contenido de refuerzo utilizado.

En otro estudio, donde se utilizó queratina de plumas de pollo y almidón de jengibre, se reporta un $18,7\pm0,3$ de contenido de humedad en películas sin queratina, teniendo en cuenta que esta última ayuda a que este valor siga reduciéndose, dependiendo del porcentaje utilizado (**Oluba *et al.*, 2023**). En otro estudio, donde se usó el G como plastificante y se emplearon diferentes combinaciones al usar un 30 % total entre plastificante y agua para crear el biomaterial, se reportaron resultados entre $11,0\pm0,6$ con 15 % de G y 15 % de agua y $13,43\pm0,14$ con un 30 % de G (**Gao *et al.*, 2021**).

3.1.5 Solubilidad total de las películas

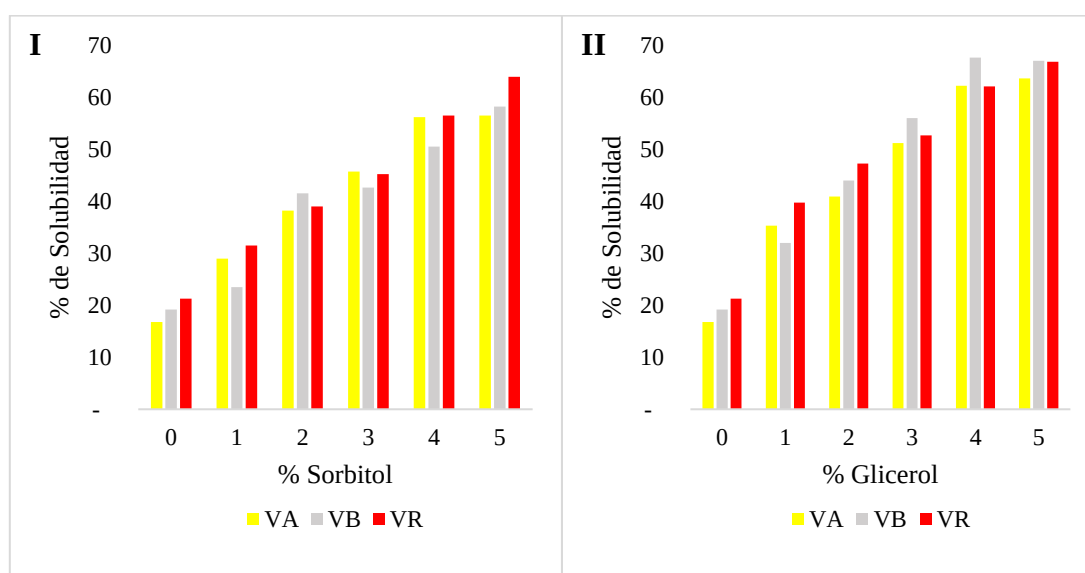


Figura 8. Solubilidad (% S) de las biopelículas formadas en las diferentes variedades de melloco y plastificante. Las variedades están representadas como: variedad amarilla (VA), variedad blanca (VB) y variedad roja (VR) para las figuras I y II.

Los porcentajes de solubilidad más bajos se obtuvieron sin plastificantes en cada una de las variedades. Los valores fueron mayores utilizando G en comparación con la solubilidad de los porcentajes de S. En el caso de S se encontró que los valores más altos están en VR, mientras que añadiendo G los valores mayores se presentaron dentro de VB.

El valor más bajo se encontró en VA sin plastificante, con un valor de $16,8\pm0,5$ % de solubilidad. El valor más alto se reportó en la VB con G al 5 %, con un valor de $67,0\pm0,5$ % de solubilidad. (**Majamo & Amibo, 2023**), también reportan valores entre $46,2\pm0,4$ % al 0 % de carga de fibra para el refuerzo hasta un $40,6\pm0,2$ % con una carga de 16 %.

De acuerdo a lo reportado por **Ballesteros-Mártinez *et al.*, 2020**, el uso de G y S a similares porcentajes del trabajo propuesto para la elaboración de películas basadas en almidón de camote, muestra un incremento progresivo con el aumento de plastificante para G (menor al que se muestra en la Figura 8 del presente estudio), con valores entre $23,2 \pm 0,3$ % y $33,4 \pm 1,0$ %, mientras que para S se encontraron valores entre $18,2 \pm 1,1$ % a $37,5 \pm 0,5$ %.

Farhan & Hani, (2017) crearon biopelículas de kappa-carragenina semirrefinada (SRC) con G y S de 20, 25 y 30% de p/w, encontrando un aumento significativo de solubilidad igual a $45,9 \pm 1,7$ y $49,5 \pm 1,9$ para SRC-25G y SRC-30G y para SRC-30S un valor de $46,3 \pm 0,6$ tomando referencia al control (sin plastificantes) de $42,8 \pm 1,6$. Los valores son cercanos a los valores presentados con dichos plastificantes al 2 % y 3 %, presentados en la Figura 8. Considerando que, la variabilidad de los datos respecto al aumento de solubilidad es mayor entre los porcentajes de plastificante en las películas basadas en melloco.

A mayor porcentaje de plastificante, se observa un aumento de solubilidad. Esto puede ser una consecuencia de que son hidrófilos. El menor peso molecular y la simpleza de la molécula de G es uno de los factores por lo que la solubilidad podría ser mayor, a diferencia de las películas de S (**Jaderi *et al.*, 2022**).

3.1.6 Opacidad por espectrofotometría ultravioleta visible

Tabla 5.

Espesor de las biopelículas formadas en las diferentes variedades de melloco y plastificante. Las variedades están representadas como: variedad amarilla (VA), variedad blanca (VB) y variedad roja (VR), y los plastificantes como: glicerol (G) y sorbitol (S). Los datos están dados en mm.

Variedad (plastificante) / concentración plastificante	0%	1%	2%	3%	4%	5%
VA(S)	$0,31 \pm 0,02$	$0,30 \pm 0,01$	$0,32 \pm 0,02$	$0,34 \pm 0,03$	$0,41 \pm 0,04$	$0,43 \pm 0,04$
VB(S)	$0,31 \pm 0,02$	$0,31 \pm 0,02$	$0,33 \pm 0,01$	$0,40 \pm 0,03$	$0,41 \pm 0,04$	$0,43 \pm 0,05$
VR(S)	$0,32 \pm 0,03$	$0,31 \pm 0,02$	$0,33 \pm 0,03$	$0,41 \pm 0,03$	$0,42 \pm 0,05$	$0,4 \pm 0,05$
VA(G)	$0,31 \pm 0,02$	$0,34 \pm 0,03$	$0,35 \pm 0,04$	$0,41 \pm 0,04$	$0,43 \pm 0,06$	$0,43 \pm 0,07$
VB(G)	$0,31 \pm 0,02$	$0,33 \pm 0,03$	$0,35 \pm 0,03$	$0,40 \pm 0,05$	$0,43 \pm 0,06$	$0,45 \pm 0,06$
VR(G)	$0,32 \pm 0,03$	$0,34 \pm 0,02$	$0,36 \pm 0,03$	$0,38 \pm 0,04$	$0,41 \pm 0,05$	$0,46 \pm 0,07$

Tabla 6.

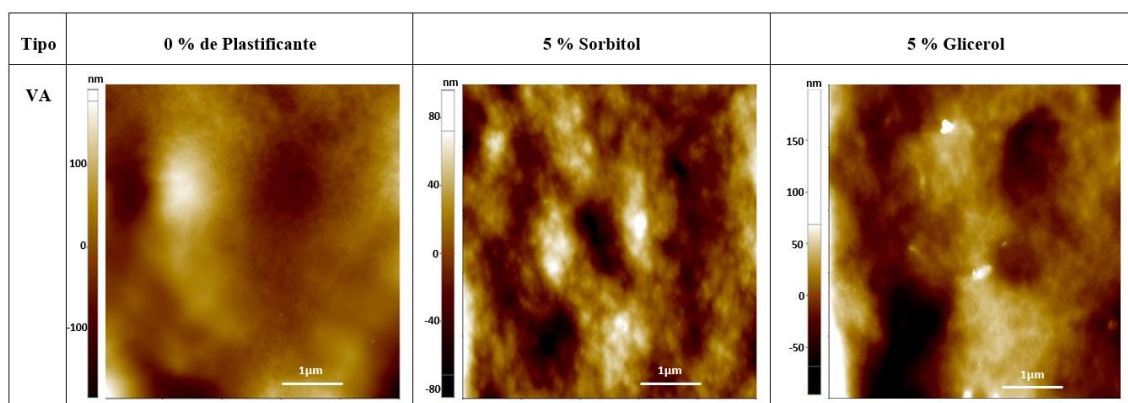
Opacidad de las biopelículas formadas con las diferentes variedades de melloco y plastificante. Las variedades están representadas como: variedad amarilla (VA), variedad blanca (VB) y variedad roja (VR), y los plastificantes: sorbitol (S) y glicerol (G). Se empleó una longitud de onda de 560 nm. La opacidad se da en unidades de absorbancia por mm^{-1} .

	0%	1%	2%	3%	4%	5%
Tipo						
VA(S)	0,42±0,04	0,32±0,05	0,31±0,05	0,41±0,03	0,39±0,02	0,67±0,05
VB(S)	0,56±0,02	0,26±0,03	0,27±0,02	0,60±0,03	0,33±0,04	0,60±0,06
VR(S)	0,39±0,03	0,47±0,05	0,46±0,03	0,33±0,05	0,59±0,03	0,50±0,03
VA(G)	0,39±0,03	0,31±0,06	0,42±0,04	0,45±0,05	0,54±0,04	0,53±0,02
VB(G)	0,56±0,02	0,39±0,08	0,57±0,04	0,36±0,02	0,57±0,02	0,62±0,02
VR(G)	0,39±0,03	0,37±0,05	0,66±0,03	0,48±0,02	0,58±0,04	0,51±0,05

La Tabla 5 representa el espesor de las películas que se utilizarán en la determinación de la opacidad, de la cual se representan los resultados en la Tabla 6. La opacidad es un parámetro que nos indica la capacidad de obstáculo que presentan las láminas en determinadas longitudes de onda (**Santacruz *et al.*, 2015**). En este caso, la longitud de onda empleada fue de 560 nm. Las láminas de almidón de melloco presentan una opacidad en un rango entre 0,26 y 0,67 unidades de absorbancia por mm^{-1} . Se observa que a mayor concentración de almidón aumenta la opacidad. Esto se puede relacionar con los datos reportados por (**Daza *et al.*, 2021**), los cuales fueron intermedios con los obtenidos. La concentración de almidón y plastificante es esencial para la formulación de las biopelículas, las cuales pueden afectar a las propiedades, donde la fibra y biocompuestos pueden aumentar la opacidad (**Niu *et al.*, 2017**).

3.1.7 Caracterización nanoscópica por AFM

3.1.7.1 Topografía



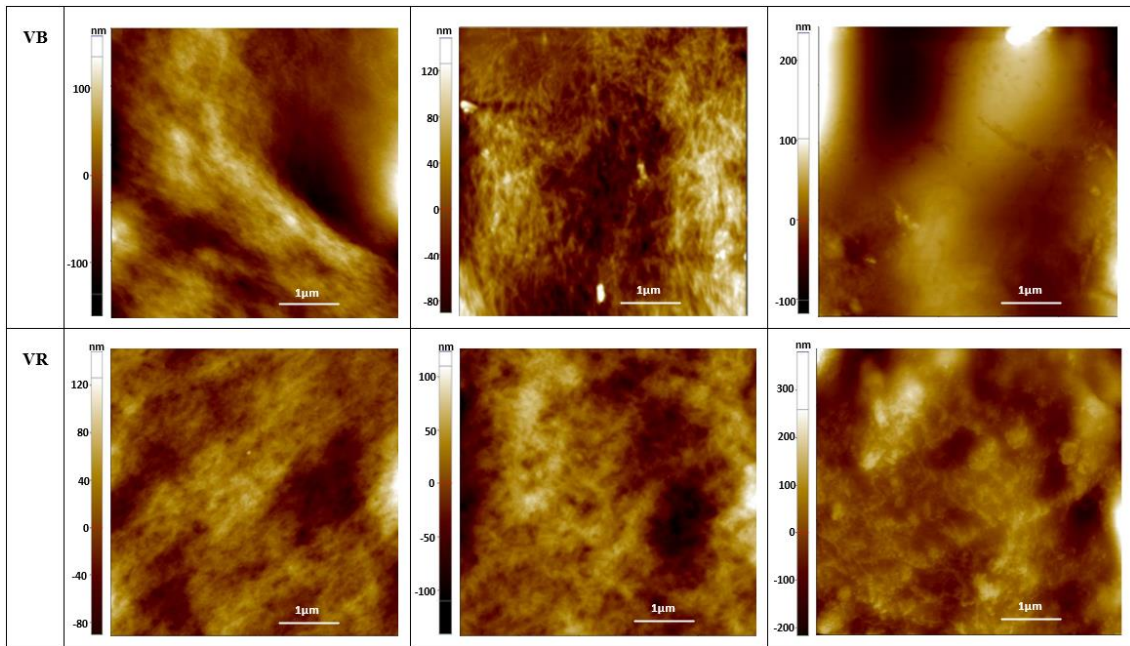


Figura 9. Topografía de las biopelículas en porcentajes de los extremos, plastificantes y carencia de plastificantes, la escala de las imágenes es de $5 \times 5 \mu\text{m}^2$. Las variedades están representadas como: variedad amarilla (VA), variedad blanca (VB) y variedad roja (VR).

En las topografías obtenidas se observa que las películas sin plastificante tienen una estructura homogénea. Las áreas oscuras de todas las imágenes reflejan declives de las estructuras generadas, las partes claras son partes altas de la nanoestructura. En VA con 5 % de G puede observarse la presencia de unos granos, quizás cristales. La corrugación medida a nanoescala podría estar correlacionada con los resultados de la deformación en la máxima tensión de las pruebas físicas: la estructura presentó una mayor rugosidad utilizando 5 % de S en las tres variedades, y éstas poseen una estructura más resistente en comparación con el otro plastificante. Para VB existe mayor declive dentro de la estructura sin plastificante, mientras que al 5 % de G presenta un valor menor. Sin embargo, existen puntos altos y granos dentro de ésta. Con S al 5 % hay una mayor rugosidad y se observa menos declinación de la estructura. Finalmente, en VR aparecen bajas rugosidades y el material presenta homogeneidad sin plastificante. Las biopelículas generadas con 5 % de G presentan gránulos, una estructura con una distribución poco homogénea y flexible por la imagen obtenida en el modo *tapping*. Los demás porcentajes se pueden apreciar en la parte de Anexos.

3.1.7.2 Fase

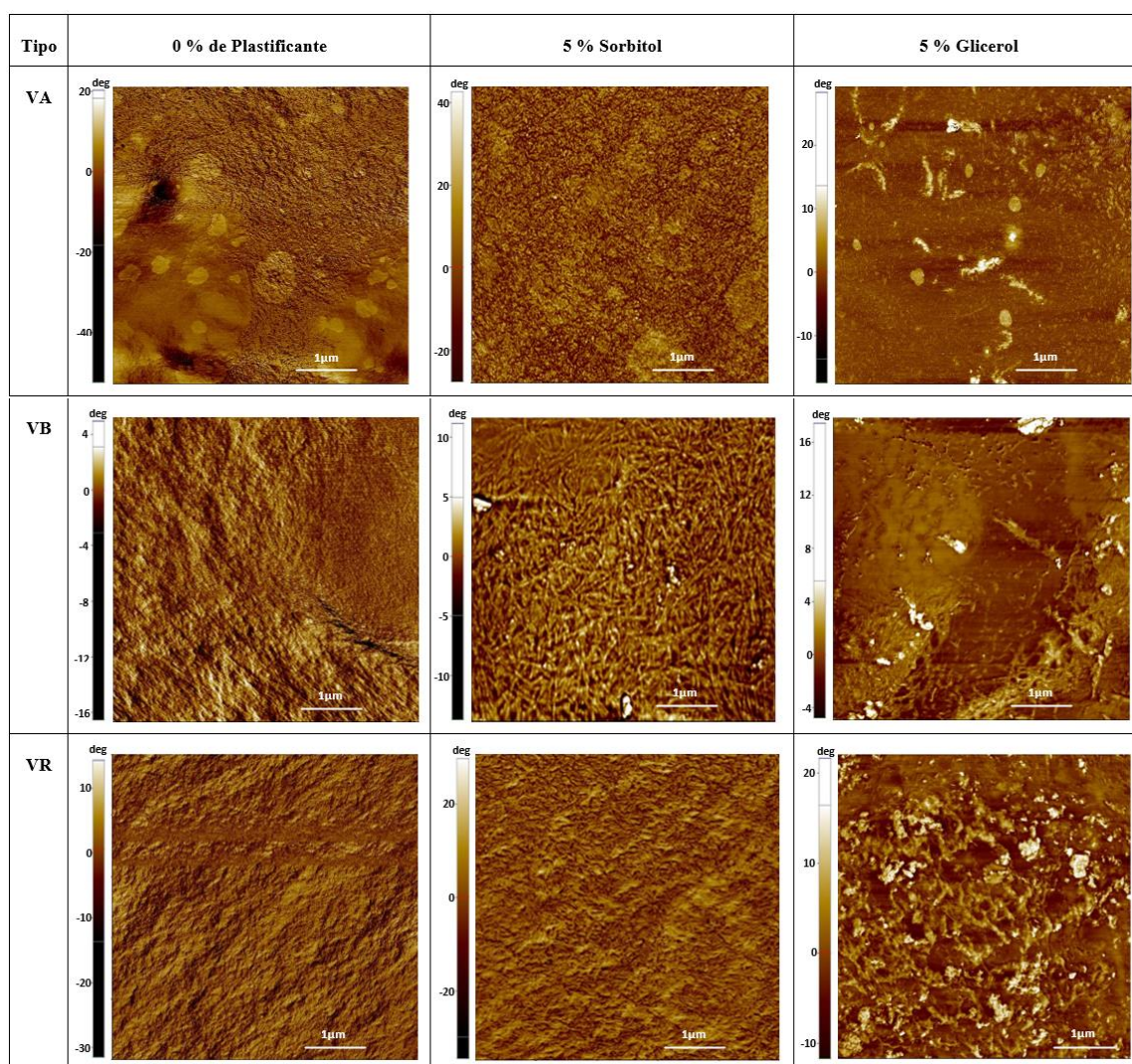


Figura 10. Fase de las biopelículas en porcentajes de los extremos, plastificantes y carencia de plastificantes en una escala $5 \times 5 \mu\text{m}^2$. Las variedades están representadas como: variedad amarilla (VA), variedad blanca (VB) y variedad roja (VR).

En la Figura 10, se muestra la fase de las biopelículas generadas. En VA sin plastificante no se refleja homogeneidad en la fase. Se observan gránulos, rugosidad y, además, un contraste de fase distinto, comparado con VB y VR al mismo porcentaje. Esto podría deberse a que existen regiones en donde la composición química es distinta en cierta área. En VA al 5 % de G, la estructura es homogénea y la estructura presenta algunos gránulos, pese a encontrarse en su mayoría con una estructura homogénea. La gráfica que presentó VA al 5 % de S muestra una homogeneidad mayor. En VB al 5 % de G se identificaron granos como puntos blancos que pueden deberse a restos segregados del plastificante. En VR, tanto sin plastificante como con un 5 % de S, se observa una fase similar, con una distribución homogénea, sin regiones de composición distintas. La diferencia significativa en VR está dada al 5 %

de G. Se muestra una estructura con contrastes diferentes, sin uniformidad, difiriendo de VA y VB. La variación del contraste fase de los demás porcentajes se puede apreciar en la parte de Anexos.

3.1.7.3 Amplitud

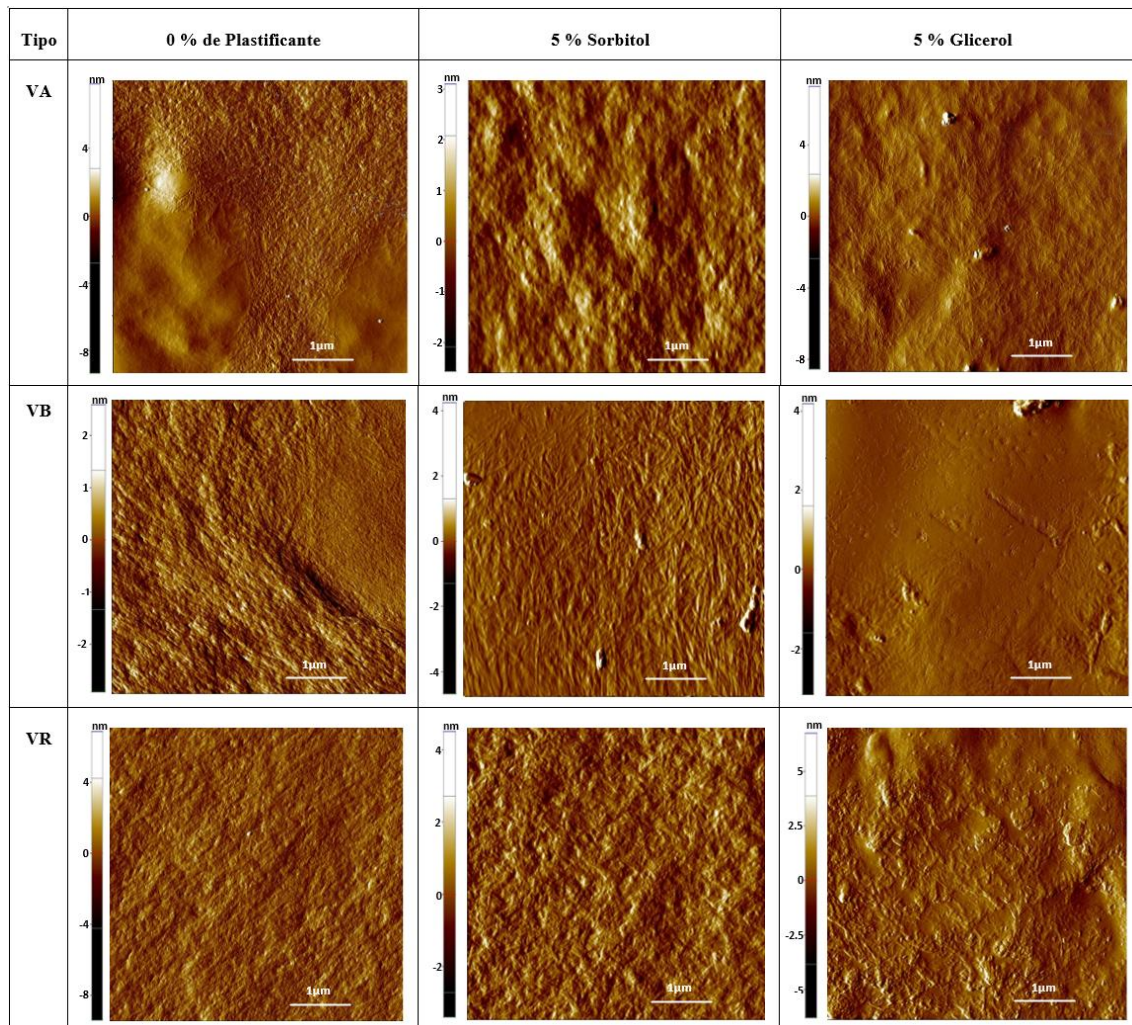


Figura 11. Amplitud de las biopelículas en porcentajes de los extremos, plastificante y carencia de plastificante a una escala de $5 \times 5 \mu\text{m}^2$. Las variedades están representadas como: variedad amarilla (VA), variedad blanca (VB) y variedad roja (VR).

Las imágenes de la Figura 11 corresponden a la medida de la amplitud. Se observa que, en VA sin plastificante, la imagen es heterogénea dentro de la estructura. En las películas al 5% de G las variaciones no son tan significativas esto puede ser debido al acoplamiento del almidón de melloco con esa cantidad de G. También existe una buena homogeneidad del biomaterial en una parte de la imagen. Al 5 % de S se muestra heterogéneo, el mal acoplamiento deriva en una variación de realces de la superficie.

En VB sin plastificante se muestra una diferencia de realces. La estructura se observa heterogénea. La distribución es similar a la de VA sin plastificante. En las biopelículas generadas al 5 % de G se carece de variaciones de realces apreciables. Existen un buen acoplamiento por la estructura la cual en su mayoría presenta una buena distribución mostrándose homogénea. En VB al 5 % de S, la variación de realces no es significativa.

La muestra con VR sin plastificante muestra una estructura con una homogeneidad mayor que las otras variedades al mismo porcentaje, la variación de realces según los relieves de las partes más claras de la imagen no es significativa. En VR al agregar 5 % de G, la estructura no es completamente homogénea. En el caso de VB, se evidencia una mejor distribución en este porcentaje. Finalmente, en VR al 5 % de S se observan resultados similares a los de VA. Se pueden visualizar las amplitudes del resto de las biopelículas en Anexos.

3.1.8. Obtención de espectrofotometría de absorción infrarroja con transformada de Fourier

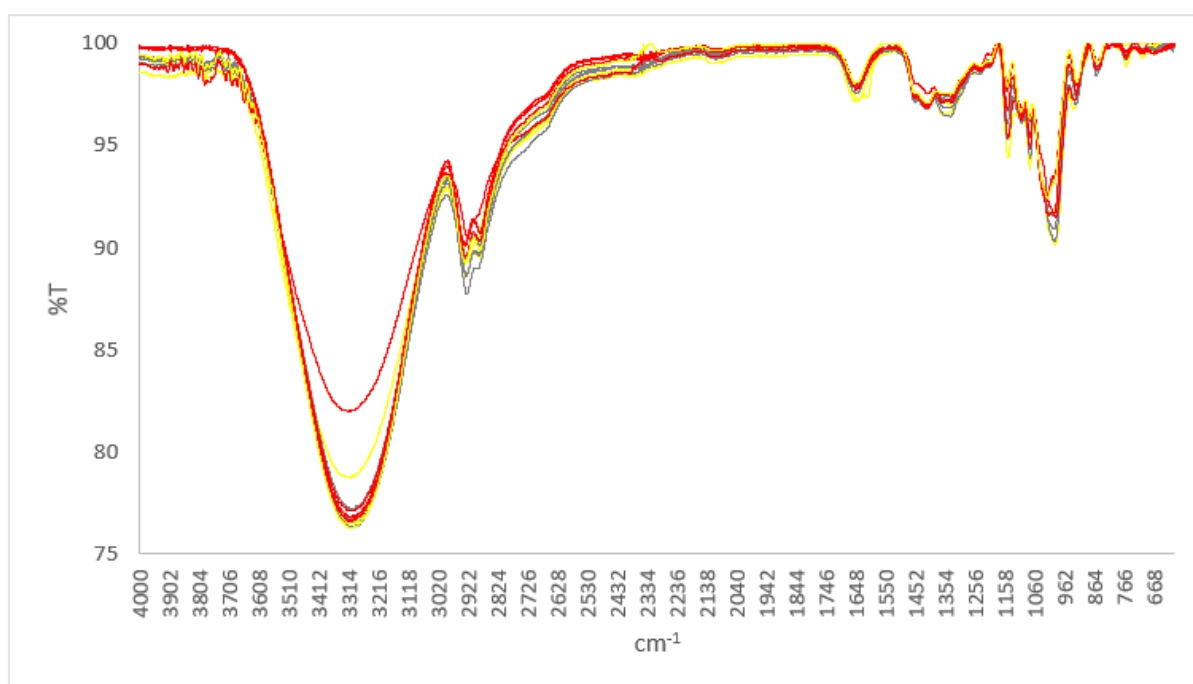


Figura 12. Espectros IR cm^{-1} de las biopelículas de almidón de variedad amarilla (VA), blanca (VB) y roja (VR) con sorbitol (S) obtenidas por FTIR acoplado el ATR, aplicando corrección de línea base, corrección del ATR y normalización.

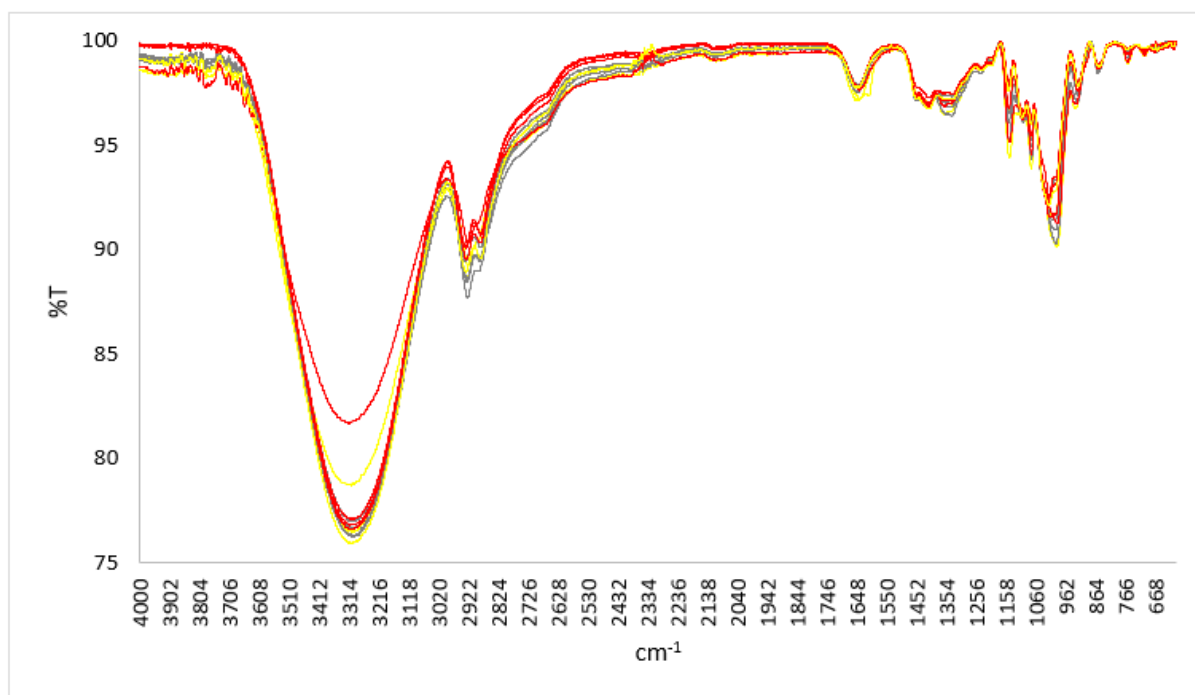


Figura 13. Espectros IR cm^{-1} de las biopelículas de almidón de variedad amarilla (VA), blanca (VB) y roja (VR) con glicerol (G) obtenidas por FTIR acoplado el ATR, aplicada corrección de línea base, corrección del ATR y normalización.

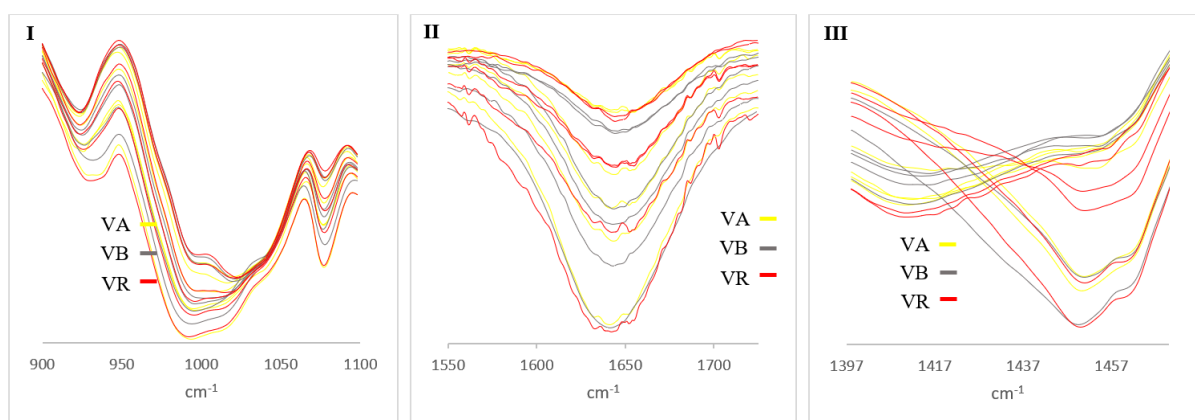


Figura 14. Acercamiento de espectros IR cm^{-1} de las biopelículas de almidón de variedad amarilla (VA), blanca (VB) y roja (VR) con sorbitol (S) y glicerol (G) obtenidas por FTIR acoplado el ATR, aplicada corrección de línea base, corrección del ATR y normalización. En las gráficas I, II y III, se muestran acercamientos de picos para analizar con mayor objetividad.

De acuerdo con los resultados, los espectros de las Figuras 12, 13 y 14 comparten ubicación en ciertos picos, sin embargo, hay diferencias que se pueden notar entre variedades de melloco y cantidad de plastificante. Los picos que se presentan entre 3400 cm^{-1} y 3300 cm^{-1} pertenecen a la vibración de tensión del grupo de los alcoholes O-H. Otro pico común presente en todas las biopelículas es el que se

encuentra a 1000 cm^{-1} que pertenece al grupo de alcoholes y representan la vibración de tensión C-O se muestra ampliada en la Figura 14 (I) (**Khedri et al., 2021**). El pico que se presentó en 3000 cm^{-1} es propio de la vibración de tensión de grupos pertenecientes a los hidrocarburos, exactamente de C-H, los picos presentes que van desde 2935 cm^{-1} a 2965 cm^{-1} , también corresponden con vibraciones de tensión del grupo funcional C-H de los alcanos, 1672 cm^{-1} a 1637 cm^{-1} corresponde a las vibraciones de tensión H-O-H se muestra ampliada en la Figura 14 (II), los valores de los picos cercanos a 1452 cm^{-1} indican que ocurrió una deformación del grupo CH_2 como se muestra en la Figura 14 (III). El comportamiento de los espectros con respecto al aumento del porcentaje de plastificante indica que, a mayor concentración de plastificante, menor será la transmitancia, por lo que, pese a ser de la misma variedad, los espectros se presentan separados como se observó en la Figura 14 (**Bai et al., 2024**).

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

- Se generaron biopelículas basadas en almidón extraído de las variedades de melloco amarilla, blanca y roja utilizando 1, 2, 3, 4 y 5 % de plastificante, incluyendo biopelículas sin plastificante. De estas, se obtuvieron las microscopías de cada muestra usando el microscopio EVOS XL, pudiendo observar diferencias dependiendo del tipo de melloco utilizado, de las cantidades y del tipo de plastificante.
- Las películas generadas presentaron valores bajos de resistencia a la máxima tensión y el módulo de Young respecto al aumento de los plastificantes. Para la deformación en la máxima tensión, al aumentar la cantidad de plastificante, las biopelículas se vuelven más flexibles por lo que los valores fueron aumentando dependientes a la concentración utilizada. En los resultados de permeabilidad de vapor de agua, valores menores se relacionan con que la estructura tiene mayor resistencia y rigidez, mientras que valores mayores les otorgaron mayor flexibilidad, menor resistencia y rigidez. Las películas generadas fueron más solubles con el aumento de plastificante; además, el contenido de humedad fue mayor utilizando glicerol que con sorbitol.
- Se obtuvieron imágenes de topografía, fase y amplitud utilizando el AFM, algunas con una estructura más homogénea que otras. La amplitud y la fase definieron estructuras con mejor acoplamiento en carencia de plastificante, de igual manera, el uso de un 5 % de S mostró mayor homogeneidad en sus estructuras contrario a 5 % de G que fueron más heterogéneas. Las espectroscopías IR presentaron vibraciones de tensión de los grupos funcionales propios de las biopelículas debido al contenido de los alcoholes y del almidón que conforman sus estructuras. Además, se determinó una opacidad en estas muestras en un rango de 0,26 a 0,67, valores que cambian dependiendo de la concentración de plastificante.

4.2. Recomendaciones

- El melloco es un tubérculo que no se ha explorado de mejor manera por expertos europeos, se debe considerar el estudio concreto de todos sus componentes, además del almidón, ya que se podría hallar otro elemento que sirva como material potencial para crear sustitutos bioamigables a otros que causan impacto ambiental negativo.
- Se recomienda realizar estudios de biodegradabilidad de las películas, con pruebas de descomposición en diferentes condiciones de estrés, ya que se puede determinar la viabilidad que tienen las películas generadas para aplicaciones sostenibles, además, se identificarían posibles mejoras en los procesos de su producción.
- Se podría investigar específicamente la variedad de melloco amarilla, pues, macroscópicamente, ésta contiene mayor viscosidad que las otras variedades. Esta sustancia podría ser utilizada en otras áreas, por lo que se podría aumentar la producción de estas biopelículas.

MATERIALES DE REFERENCIA

Referencias Bibliográficas

- Aguirre, A., Borneo, R., & León, A. E. (2013). Properties of triticale protein films and their relation to plasticizing–antiplasticizing effects of glycerol and sorbitol. *Industrial Crops and Products*, 50, 297-303. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.07.043>
- Bai, W., Portillo-Perez, G., Petronilho, S., Gonçalves, I., & Martinez, M. M. (2023). Exploring novel organocatalytic-acetylated pea starch blends in the development of hot-pressed bioplastics. *International Journal of Biological Macromolecules*, 258, 128740. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128740>
- Ballesteros-Mártinez, L., Pérez-Cervera, C., & Andrade-Pizarro, R. (2020). Effect of glycerol and sorbitol concentrations on mechanical, optical, and barrier properties of sweet potato starch film. *NFS Journal*, 20, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2020.06.002>
- Barandiaran, A., Montanes, N., Gomez-Caturla, J., Balart, R., Florez-Prieto, M. A., Ávila-Martin, L., & Perilla, J. E. (2024). “Development and characterization of edible films based on starch isolated from different Colombian potato varieties”. *International Journal of Biological Macromolecules*, 263, 130165. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.130165>
- Cazón, P., Velazquez, G., Ramírez, J. A., & Vázquez, M. (2017). Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. *Food Hydrocolloids*, 68, 136-148. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.09.009>
- Cárdenas-Alcaide, M. F., Godínez-Alemán, J. A., González-González, R. B., Iqbal, H. M. N., & Parra-Saldívar, R. (2022). Environmental impact and mitigation of micro(nano)plastics pollution using green catalytic tools and green analytical methods. *Green Analytical Chemistry*, 3, 100031. <https://doi.org/10.1016/j.greeac.2022.100031>
- Casado, S. (2017). Studying friction while playing the violin: Exploring the stick–slip phenomenon. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 8(1), 159-166. <https://doi.org/10.3762/bjnano.8.16>
- Casado, S., Lobo, M. del V. T., & Paíno, C. L. (2017). Dynamics of plasma membrane surface related to the release of extracellular vesicles by mesenchymal stem cells in culture. *Scientific Reports*, 7(1), 6767. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07265-x>
- Chemiru, G., & Gonfa, G. (2023). Preparation and characterization of glycerol plasticized yam starch-based films reinforced with titanium dioxide nanofiller. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 5, 100300. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2023.100300>

- Choque-Quispe, D., Obregón Gonzales, F. H., Carranza-Oropeza, M. V., Solano-Reynoso, A. M., Ligarda-Samanez, C. A., Palomino-Ríncón, W., Choque-Quispe, K., & Torres-Calla, M. J. (2024). Physicochemical and technofunctional properties of high Andean native potato starch. *Journal of Agriculture and Food Research*, 15, 100955. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100955>
- Chu, J., Zhou, Y., Cai, Y., Wang, X., Li, C., & Liu, Q. (2022). Life-cycle greenhouse gas emissions and the associated carbon-peak strategies for PS, PVC, and ABS plastics in China. *Resources, Conservation and Recycling*, 182, 106295. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2022.106295>
- Chu, T., Shi, J., Xia, Y., Wang, H., Fan, G., & Yang, M. (2022). Development of high strength potato starch nanocomposite films with excellent UV-blocking performance: Effect of heat moisture treatment synergistic with ligninsulfonic acid. *Industrial Crops and Products*, 187, 115327. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115327>
- Daza, L. D., Eim, V. S., & Váquiro, H. A. (2021). Influence of Ulluco Starch Concentration on the Physicochemical Properties of Starch–Chitosan Biocomposite Films. *Polymers*, 13(23), Article 23. <https://doi.org/10.3390/polym13234232>
- Ebrahimzade, I., Ebrahimi-Nik, M., Rohani, A., & Tedesco, S. (2022). Towards monitoring biodegradation of starch-based bioplastic in anaerobic condition: Finding a proper kinetic model. *Bioresource Technology*, 347, 126661. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126661>
- Elgarahy, A. M., Priya, A. K., Mostafa, H. Y., Zaki, E. G., Elsaeed, S. M., Muruganandam, M., & Elwakeel, K. Z. (2023). Toward a circular economy: Investigating the effectiveness of different plastic waste management strategies: A comprehensive review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 11(5), 110993. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.110993>
- Fadeel, B. (2022). Nanomaterial characterization: Understanding nano-bio interactions. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 633, 45-51. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2022.08.095>
- Farhan, A., & Hani, N. M. (2017). Characterization of edible packaging films based on semi-refined kappa-carrageenan plasticized with glycerol and sorbitol. *Food Hydrocolloids*, 64, 48-58. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.10.034>
- Gao, H., Cai, J., Han, W., Huai, H., Chen, Y., & Wei, C. (2014). Comparison of starches isolated from three different *Trapa* species. *Food Hydrocolloids*, 37, 174-181. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.11.001>

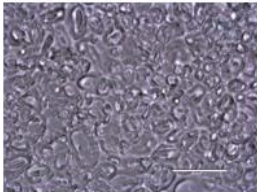
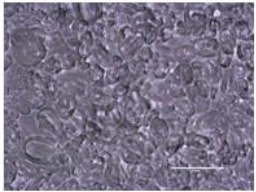
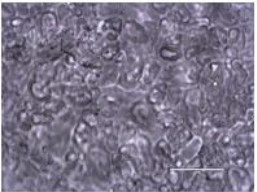
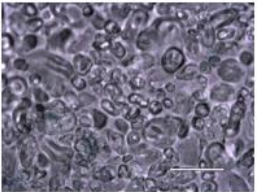
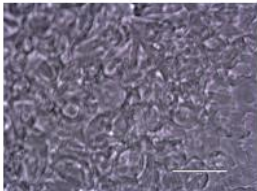
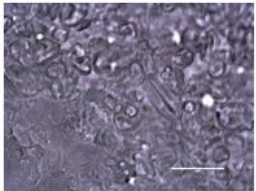
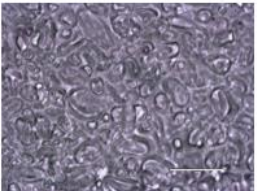
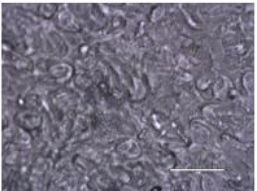
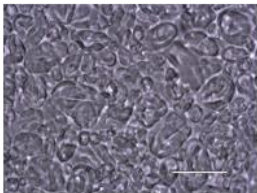
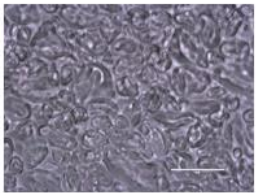
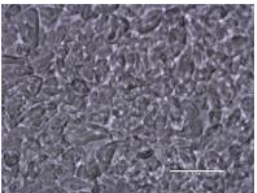
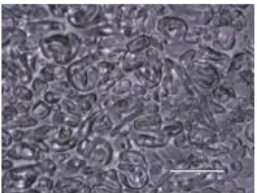
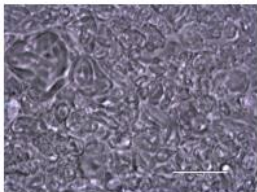
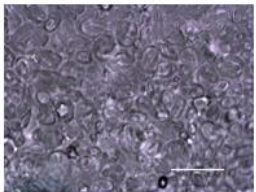
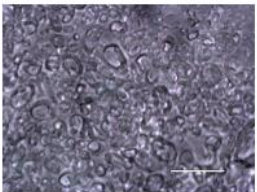
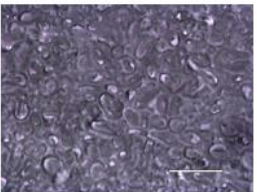
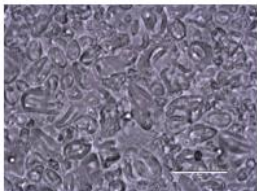
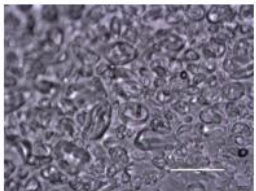
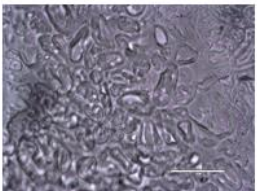
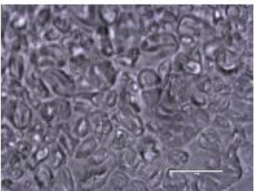
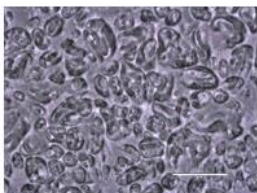
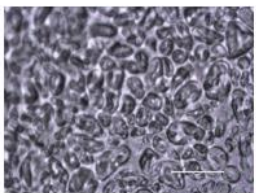
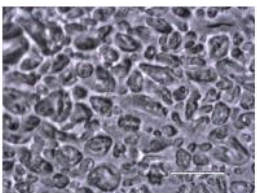
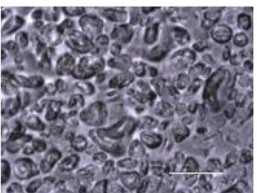
- Gao, W., Zhu, J., Kang, X., Wang, B., Liu, P., Cui, B., & Abd El-Aty, A. M. (2021). Development and characterization of starch films prepared by extrusion blowing: The synergistic plasticizing effect of water and glycerol. *LWT*, 148, 111820. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111820>
- Hashemi Tabatabaei, R., Jafari, S. M., Mirzaei, H., Mohammadi Nafchi, A., & Dehnad, D. (2018). Preparation and characterization of nano-SiO₂ reinforced gelatin-k-carrageenan biocomposites. *International Journal of Biological Macromolecules*, 111, 1091-1099. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.116>
- Ilvis, P., Acosta, J., Arancibia, M., & Casado, S. (2024). Nanoscopic Characterization of Starch-Based Biofilms Extracted from Ecuadorian Potato (*Solanum tuberosum*) Varieties. *Polymers*, 16(13), Article 13. <https://doi.org/10.3390/polym16131873>
- Jouki, M., Khazaei, N., Ghasemlou, M., & HadiNezhad, M. (2013). Effect of glycerol concentration on edible film production from cress seed carbohydrate gum. *Carbohydrate Polymers*, 96(1), 39-46. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.03.077>
- Khedri, S., Sadeghi, E., Rouhi, M., Delshadian, Z., Mortazavian, A. M., De Toledo Guimarães, J., Fallah, M., & Mohammadi, R. (2021). Bioactive edible films: Development and characterization of gelatin edible films incorporated with casein phosphopeptides. *LWT*, 138, 110649. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110649>
- Lim, W. S., Ock, S. Y., Park, G. D., Lee, I. W., Lee, M. H., & Park, H. J. (2020). Heat-sealing property of cassava starch film plasticized with glycerol and sorbitol. *Food Packaging and Shelf Life*, 26, 100556. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100556>
- López, O. V., Lecot, C. J., Zaritzky, N. E., & García, M. A. (2011). Biodegradable packages development from starch based heat sealable films. *Journal of Food Engineering*, 105(2), 254-263. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.02.029>
- Ma, C., Tan, C., Xie, J., Yuan, F., Tao, H., Guo, L., Cui, B., Yuan, C., Gao, W., Zou, F., Wu, Z., Liu, P., & Lu, L. (2023). Effects of different ratios of mannitol to sorbitol on the functional properties of sweet potato starch films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 242, 124914. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124914>
- Majamo, S. L., & Amibo, T. A. (2023). Study on extraction and characterization of anchote (*Coccinia abyssinica*) starch and reinforced enset (*Ensete ventricosum*) fiber for the production of reinforced bioplastic film. *Heliyon*, 10(1), e23098. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e23098>

- Muscat, D., Adhikari, B., Adhikari, R., & Chaudhary, D. S. (2012). Comparative study of film forming behaviour of low and high amylose starches using glycerol and xylitol as plasticizers. *Journal of Food Engineering*, 109(2), 189-201. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.10.019>
- Mustapha, S. N. H., & Wan, J. S. (2022). Effect of hybridization composition and glycerin content on novel corn starch/nata de coco plastic film: Thermal, mechanical, and degradation study. *Food Chemistry*, 373, 131440. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131440>
- Niu, F., Li, M., Huang, Q., Zhang, X., Pan, W., Yang, J., & Li, J. (2017). The characteristic and dispersion stability of nanocellulose produced by mixed acid hydrolysis and ultrasonic assistance. *Carbohydrate Polymers*, 165, 197-204. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.02.048>
- Oluba, O. M., Edeh, D. A., Ojeaburu, S. I., Bayo-Olorunmeke, O. A., & Josiah, S. J. (2023). Physicochemical and thermal characterization and antioxidant property of chicken feather keratin and ginger starch hybrid nanocomposite film. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 6, 100368. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2023.100368>
- Otálora González, C. M., Alvarez Castillo, E., Flores, S., Gerschenson, L. N., & Bengoechea, C. (2023). Effect of plasticizer composition on the properties of injection molded cassava starch-based bioplastics. *Food Packaging and Shelf Life*, 40, 101218. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2023.101218>
- Park Systems. 2022. "Tapping Mode.". Recuperado de: <https://www.parksystems.com/>
- Parker, A. C., Maryon, O. O., Kaffash, M. T., Jungfleisch, M. B., & Davis, P. H. (2022). Optimizing Magnetic Force Microscopy Resolution and Sensitivity to Visualize Nanoscale Magnetic Domains. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, 185, e64180. <https://doi.org/10.3791/64180>
- Pico, C., De la Vega, J., Tubón, I., Arancibia, M., & Casado, S. (2022). Nanoscopic Characterization of Starch Biofilms Extracted from the Andean Tubers *Ullucus tuberosus*, *Tropaeolum tuberosum*, *Oxalis tuberosa*, and *Solanum tuberosum*. *Polymers*, 14(19), Article 19. <https://doi.org/10.3390/polym14194116>
- Piccolo, M., Aceto, M., & Vitorino, T. (2019). UV-Vis spectroscopy. *Physical Sciences Reviews*, 4(4). <https://doi.org/10.1515/psr-2018-0008>
- Rhodes, C. J. (2018). Plastic pollution and potential solutions. *Science Progress*, 101(3), 207-260. <https://doi.org/10.3184/003685018X15294876706211>
- Santacruz, S., Rivadeneira, C., & Castro, M. (2015). Edible films based on starch and chitosan. Effect of starch source and concentration, plasticizer, surfactant's hydrophobic tail and mechanical treatment. *Food Hydrocolloids*, 49, 89-94. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.03.019>

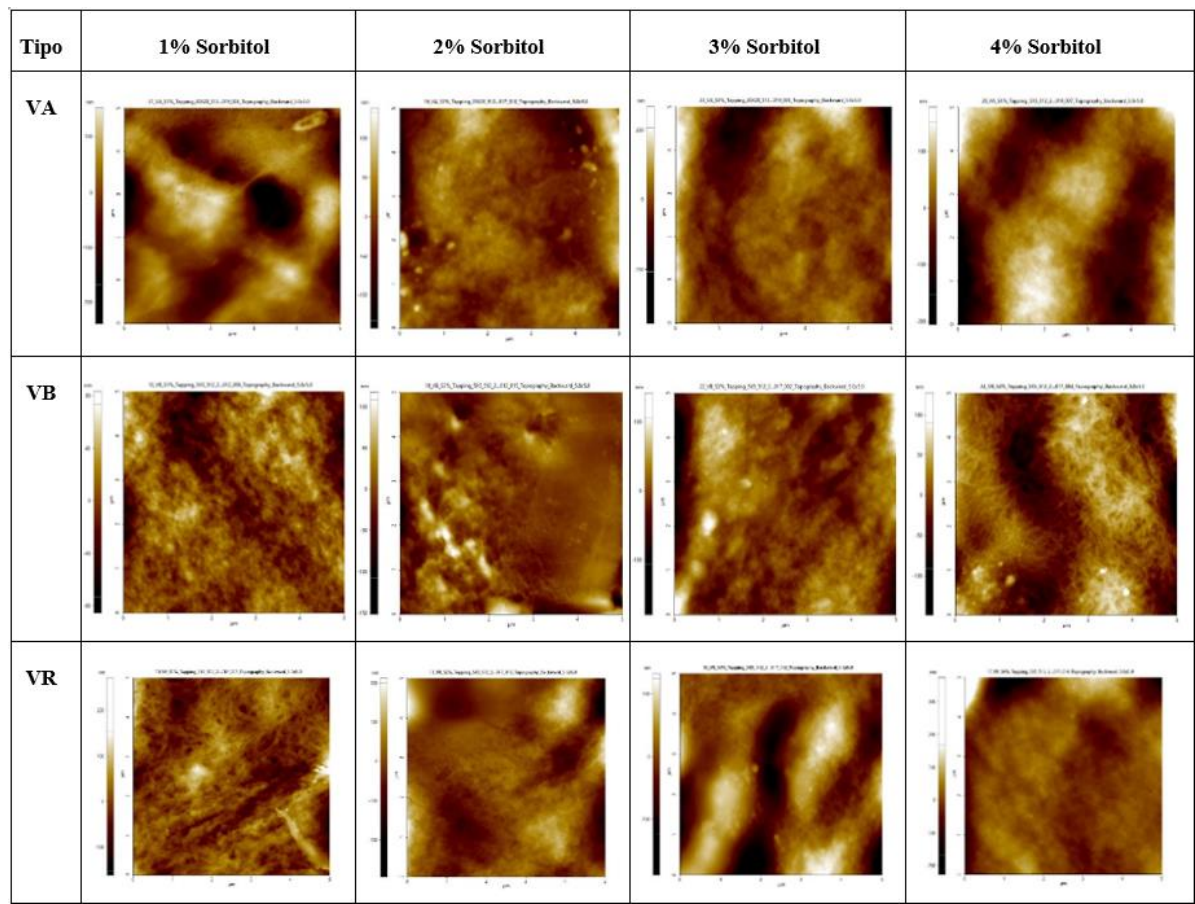
- Shafqat, A., Tahir, A., Mahmood, A., Tabinda, A. B., Yasar, A., & Pugazhendhi, A. (2020). A review on environmental significance carbon foot prints of starch based bio-plastic: A substitute of conventional plastics. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 27, 101540. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101540>
- Smits, A. L. M., Kruiskamp, P. H., van Soest, J. J. G., & Vliegthart, J. F. G. (2003). Interaction between dry starch and plasticisers glycerol or ethylene glycol, measured by differential scanning calorimetry and solid state NMR spectroscopy. *Carbohydrate Polymers*, 53(4), 409-416. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(03\)00119-X](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(03)00119-X)
- Talja, R. A., Helén, H., Roos, Y. H., & Jouppila, K. (2007). Effect of various polyols and polyol contents on physical and mechanical properties of potato starch-based films. *Carbohydrate Polymers*, 67(3), 288-295. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.05.019>
- Talón, E., Trifkovic, K. T., Nedovic, V. A., Bugarski, B. M., Vargas, M., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2017). Antioxidant edible films based on chitosan and starch containing polyphenols from thyme extracts. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1153-1161. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.10.080>
- Tarique, J., Sapuan, S. M., & Khalina, A. (2021). Effect of glycerol plasticizer loading on the physical, mechanical, thermal, and barrier properties of arrowroot (*Maranta arundinacea*) starch biopolymers. *Scientific Reports*, 11(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93094-y>
- Tsoligkas, A. N., Bowen, J., Winn, M., Goss, R. J. M., Overton, T. W., & Simmons, M. J. H. (2012). Characterisation of spin coated engineered *Escherichia coli* biofilms using atomic force microscopy. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 89, 152-160. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.09.007>

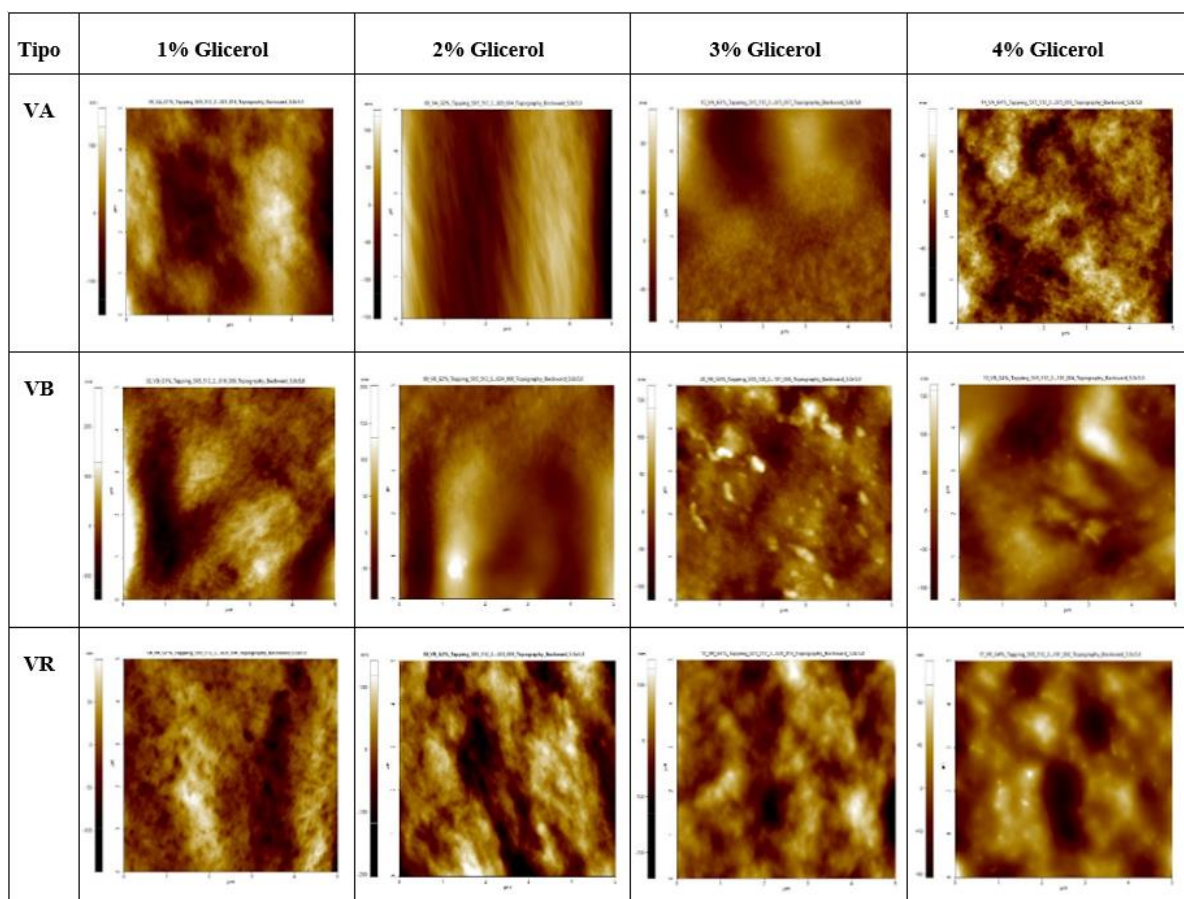
Anexos

Anexo 1. Microscopía de las biopelículas en porcentajes de las muestras restantes con su respectiva variedad y plastificantes.

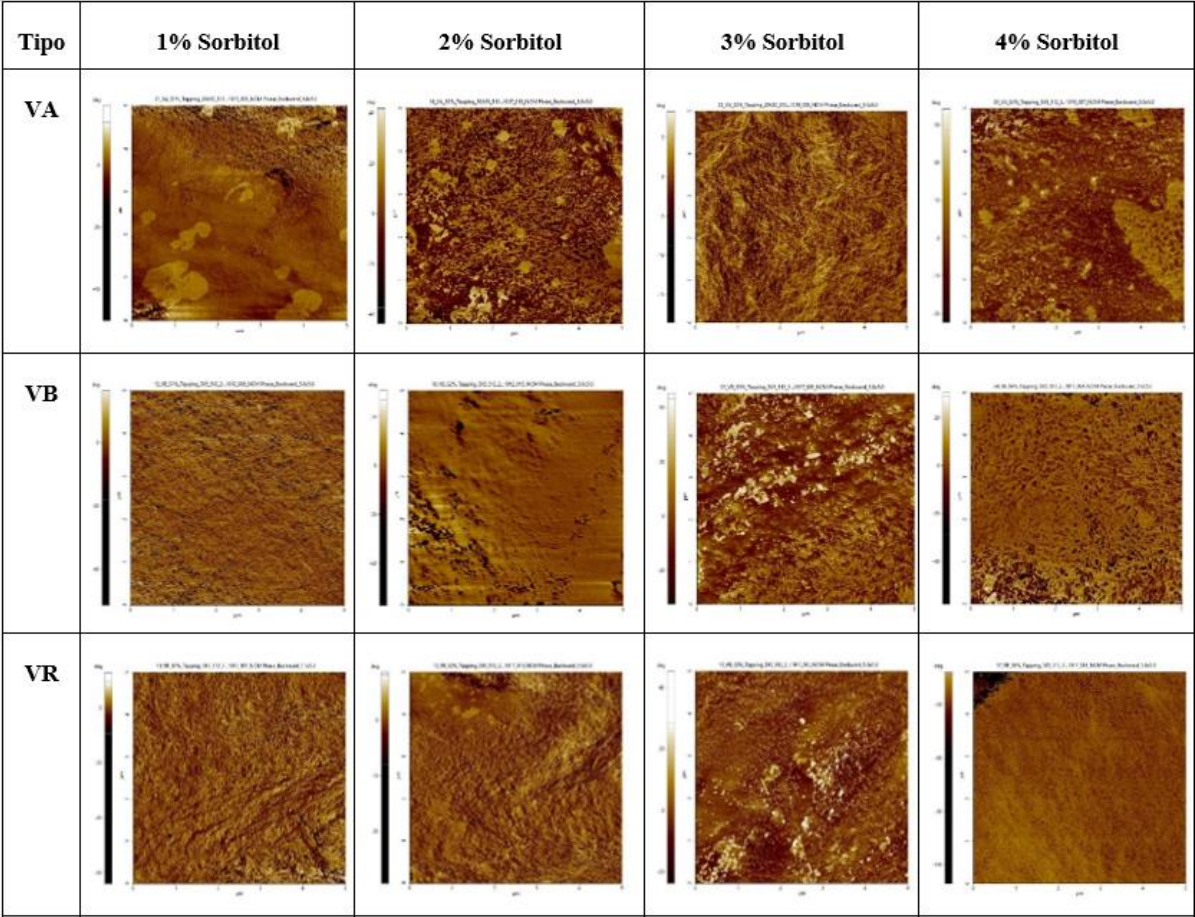
Tipo	1% Sorbitol	2% Sorbitol	3% Sorbitol	4% Sorbitol
VA				
VB				
VR				
Tipo	1% Glicerol	2% Glicerol	3% Glicerol	4% Glicerol
VA				
VB				
VR				

Anexo 2. Topografía de las biopelículas en porcentajes de las muestras restantes con su respectiva variedad y plastificante a una escala de 5um x 5um



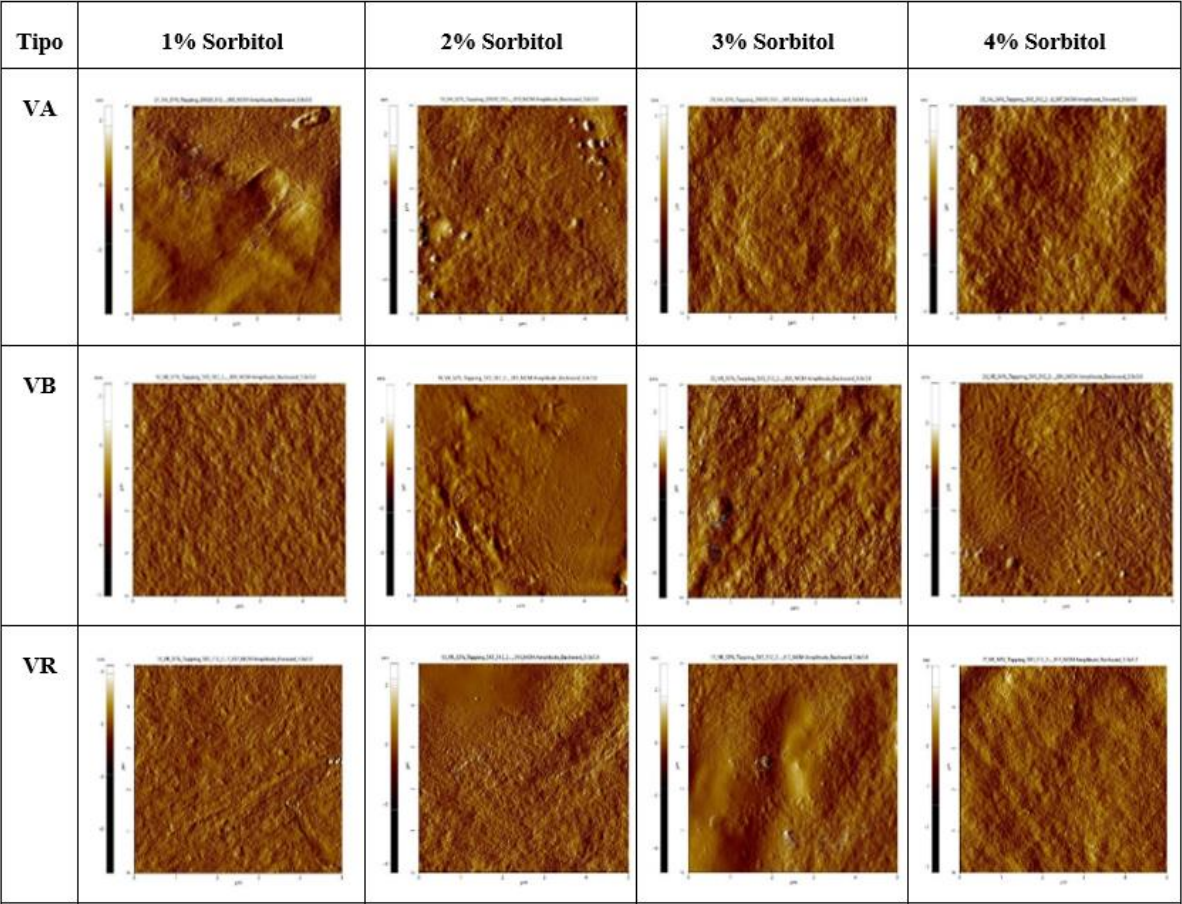


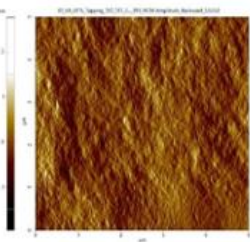
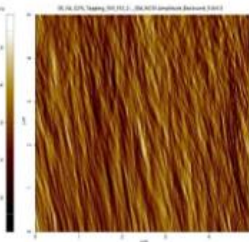
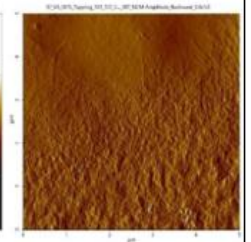
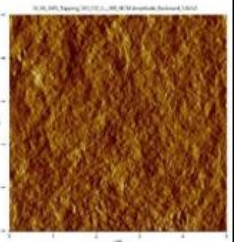
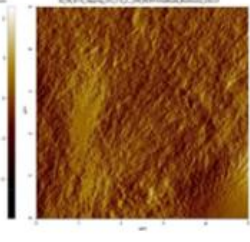
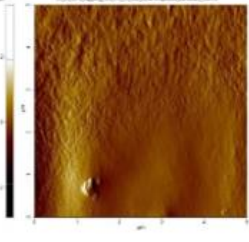
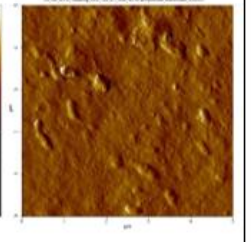
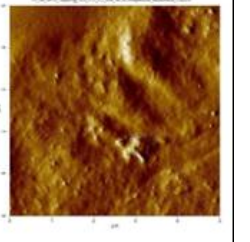
Anexo 3. Fase de las biopelículas en porcentajes de las muestras restantes con su respectiva variedad y plastificante a una escala de 5um x 5um.



Tipo	1% Glicerol	2% Glicerol	3% Glicerol	4% Glicerol
VA				
VB				
VR				

Anexo 4. Amplitud de las biopelículas en porcentajes de las muestras restantes con su respectiva variedad y plastificante a una escala de 5um x 5um



Tipo	1% Glicerol	2% Glicerol	3% Glicerol	4% Glicerol
VA				
VB				
VR	