UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

Caracterización nanoscópica superficial y fisicoquímica de películas de almidón extraído de zanahoria blanca (*Arracacia xanthorrhiza*), con arcillas de caolín y bentonita como aditivos

---

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

Autora: Andrea Monserrath Andachi Haro

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, 28 de junio de 2024



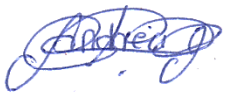
Dr. Santiago Casado Rojo

1759126954

TUTOR

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Andrea Monserrath Andachi Haro, 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 Ingeniera Biotecnóloga son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



Andrea Monserrath Andachi Haro

1805205463

AUTORA

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe Final del Trabajo de Titulación o 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.



Andrea Monserrath Andachi Haro

1805205463

AUTORA

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:
MARIO DANIEL GARCIA SOLIS

Presidente del Tribunal


Firmado electrónicamente por:
MARIA EUGENIA GARCIA PAZMINO

Mg. María Eugenia García Pazmiño

2100248505


Firmado electrónicamente por:
DOLORES DEL ROCIO ROBALINO MARTINEZ

Mg. Dolores del Rocío Robalino Martínez

1801769488

Ambato, 31 de julio de 2024

DEDICATORIA

A mi hija, ***Katita***

Juntas hemos aprendido tantas cosas, y agradezco a Diosito por haberte traído a mi vida. Tu alegría y tus locuras han iluminado mi mundo de una manera indescriptible. Eres mi mayor tesoro, y no hay palabras suficientes para expresar cuánto te amo.

A mi mami, ***Esthelita****,*

Por su amor inigualable y sus sabias palabras que han sido mi guía en los momentos más oscuros. Sus sacrificios y su fortaleza me han enseñado el verdadero significado de la dedicación.

A mi papito, ***Mario****,*

Quien ahora descansa en el cielo. Aunque no esté aquí para ver este logro, siento su presencia en cada paso que doy. Sus lecciones de vida y su ejemplo perduran en mi corazón y en mi trabajo diario.

A mis lindos hermanos, ***Alexito*** *y* ***Dianita****,*

Cuya inagotable motivación, cariño y apoyo me han dado la fuerza para superar cada obstáculo. Su presencia constante y amor incondicional han sido pilares fundamentales en mi vida. Gracias por ser mi inspiración y mi refugio.

Al padre de mi hija, ***Josue****,*

Por su apoyo y colaboración en este proyecto. Juntos compartimos la maravillosa tarea de criar a nuestra hija, y tu ayuda ha sido fundamental para alcanzar este objetivo. Gracias por tu respaldo y por ser parte de este viaje.

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer primero a Diosito, quien ha estado presente siempre en mi corazón tanto en los días difíciles como en los momentos de alegría. Gracias por la vida, por la fortaleza que me brinda Tu palabra y por ser mi guía constante en este camino.

A mi mamita y hermanos que cada día me incentivaron a cumplir con mis anhelos y no desfallecer.

A mis amigos de la U, Edgar, Marcelito, Pablito, Fabo, Nati y Eri, gracias por todas las anécdotas que vivimos a lo largo de este camino.

A mis compañeras de tesis Jenni y Eri, gracias por el invaluable apoyo mutuo que nos brindamos a lo largo de este viaje. Su colaboración, amistad y compromiso han sido fundamentales para alcanzar este logro.

A mi tutor de tesis, Dr. Santiago y a mi linda Inge Liz, cuya paciencia infinita y sabiduría, a pesar de los momentos de frustración, me incentivaron a continuar.

Gracias por su guía.

Que Diosito les bendiga…

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO

APROBACIÓN DEL TUTOR ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN iii
DERECHOS DE AUTOR iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO v
DEDICATORIA vi
AGRADECIMIENTO vii
ÍNDICE DE TABLAS xi
ÍNDICE DE FIGURAS xii
RESUMEN EJECUTIVO xiii
ABSTRACT xiv
CAPÍTULO I 1
1. MARCO TEÓRICO 1
1.1. Antecedentes investigativos 1
1.1.1. Contaminación por plásticos 1
1.1.2. Zanahoria blanca 2
1.1.2.1. Aspectos generales 2
1.1.2.2. Almidón de zanahoria blanca 2
1.1.3. Biomateriales 3
1.1.3.1. Películas de almidón 3
1.1.3.2. Aditivos 4
1.1.3.3. Bentonita 4
1.1.3.4. Caolín 4
1.1.4. Caracterización de las propiedades fisicoquímicas y estructurales 4
1.1.4.1. Caracterización mecánica 4
1.1.4.1.1. Módulo de Young 5
1.1.4.1.2. Resistencia a la máxima tensión 6
1.1.4.1.3. Deformación en la máxima tensión 6

1.1.4.2. Espectrofotometría infrarroja con transformada de Fourier 6
1.1.4.3. Espectrofotometría de UV-Vis 7
1.1.4.4. Contenido de humedad 7
1.1.4.5. Materia total soluble 7
1.1.5. Caracterización nanoscópica 8
1.1.5.1. Microscopía de fuerza atómica (AFM) 8
1.1.5.2. Modo de operación de contacto intermitente (tapping) 8
1.1.5.3. Potencial del AFM en el estudio de muestras biológicas 9
1.2. Objetivos 9
1.2.1. Objetivo general 9
1.2.2. Objetivos específicos 9
CAPÍTULO II 10
2. METODOLOGÍA 10
2.1. Materiales 10
2.1.1. Materiales de laboratorio 10
2.1.2. Equipos de laboratorio 10
2.1.3. Insumos de laboratorio 11
2.1.4. Materiales de escritorio 11
2.2. Métodos 12
2.2.1. Obtención de las muestras 12
2.2.1.1. Extracción del almidón 12
2.2.1.2. Elaboración de las películas de almidón 12
2.2.1.3. Elaboración de las películas de almidón con arcilla 12
2.2.2. Propiedades fisicoquímicas y estructurales 13
2.2.2.1. Ensayos de tracción 13
2.2.2.2. Caracterización por microscopia óptica 13
2.2.2.3. Caracterización colorimétrica 13
2.2.2.4. Espectrofotometría de infrarrojo con transformada de Fourier y reflectancia total atenuada 14

2.2.2.5. Espectrofotometría de UV-Vis 14
2.2.2.6. Análisis de humedad 14
2.2.2.7. Análisis de solubilidad 14
2.2.3. Caracterización nanoscópica y comparación de resultados 15
2.2.3.1. Microscopía de fuerza atómica (AFM) 15
2.2.3.2. Comparación entre el análisis nanoscópico y las propiedades fisicoquímicas. 15
CAPÍTULO III 16
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 16
3.1. Análisis y discusión de los resultados 16
3.1.1. Caracterización de las propiedades fisicoquímicas y estructurales 16
3.1.1.1. Propiedades elásticas 16
3.1.1.2. Caracterización por microscopia óptica y colorimétrica 18
3.1.1.3. Absorción infrarroja por transformada de Fourier 21
3.1.1.4. Opacidad 24
3.1.1.5. Contenido de humedad 25
3.1.1.6. Materia total soluble 26
3.1.2. Caracterización nanoscópica 27
3.1.3. Comparación entre el análisis nanoscópico y las propiedades fisicoquímicas y estructurales 28
CAPÍTULO IV 30
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 30
4.1. Conclusiones 30
4.2. Recomendaciones 31
BIBLIOGRAFÍA 32
ANEXOS 41

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Materiales de laboratorio 10

Tabla 2. Equipos de laboratorio.....10

Tabla 3. Insumos de laboratorio 11

Tabla 4. Materiales de escritorio 11

Tabla 5. Parámetros de color L* a* y b* de películas de almidón con diferentes cantidades de bentonita y caolín.....20

Tabla 6. Opacidad de películas de almidón con aditivos de arcilla (bentonita y caolín). 24

Tabla 7. Contenido de humedad de las películas de almidón con diferentes cantidades de arcilla 25

Tabla 8. Materia total soluble de películas de almidón con diferentes concentraciones de arcilla .26

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Propiedades mecánicas de películas de almidón. 16

Figura 2. Propiedades mecánicas de películas de almidón con aditivos de bentonita y caolín. 17

Figura 3. Imágenes fotográficas del aspecto visual aparente de películas de almidón con aditivos de bentonita y caolín. 19

Figura 4. Micrografías de películas de almidón con aditivos de bentonita y caolín. 21

Figura 5. Espectrograma ATR-FTIR de: películas de almidón con bentonita, bentonita pura, almidón y glicerol. 22

Figura 6. Espectrograma ATR-FTIR de: películas de almidón con caolín, caolín puro, almidón y glicerol. 23

Figura 7. Topografía de películas de almidón con aditivos de bentonita y caolín. 27

RESUMEN EJECUTIVO

A nivel global, se producen millones de toneladas de plástico, la mayoría destinadas a un solo uso y con una reciclabilidad limitada. Casi toda la materia prima utilizada en la fabricación de plásticos proviene de recursos derivados del petróleo. Toneladas de estos residuos acaban depositados en lagos, ríos y mares, descomponiéndose en microplásticos y nanoplásticos presentes en el ambiente. Esta contaminación tiene un impacto directo en todas las formas de vida. Por lo tanto, sustituir polímeros sintéticos por biopelículas de almidón es una alternativa beneficiosa. Este estudio de investigación se centra en el análisis de la estructura nanoscópica superficial y la caracterización fisicoquímica de películas de almidón extraído de zanahoria blanca (*Arracacia xanthorrhiza*), con aditivos de caolín y bentonita. Estos aditivos de arcilla provocan cambios en las propiedades de las películas tanto a nivel microscópico como fisicoquímico. Para darles una aplicación adecuada a este tipo de películas compuestas, es necesario conocer sus propiedades, y muchos de los factores que las influyen pueden explicarse mediante fenómenos observados a nivel nanoscópico. La caracterización reveló notables diferencias entre ambos tipos de aditivos, contrastando sus propiedades fisicoquímicas como el contenido de humedad, materia total soluble, propiedades mecánicas, opacidad, y aspecto visual y de color. Esta comparativa se basó en análisis complementados con imágenes de topografía obtenidas mediante microscopía de fuerza atómica en modo tapping. Los resultados indican que las películas con bentonita mejoran las propiedades mecánicas y tienen una topografía irregular, mientras que las películas con caolín muestran una estructura homogénea sin mejora mecánica.

Palabras clave: películas de almidón, zanahoria blanca, bentonita, caolín, microscopia de fuerza atómica, caracterización nanoscópica, recubrimientos comestibles.

ABSTRACT

On a global scale, millions of tons of plastic are produced, mostly for single-use purposes with limited recyclability. Almost all raw materials used in plastic manufacturing come from petroleum-derived resources. Tons of these residues end up deposited in lakes, rivers, and seas, breaking down into microplastics and nanoplastics present in the environment. This pollution directly impacts all forms of life. Therefore, replacing synthetic polymers with starch-based bioplastic films represents a beneficial alternative. This research study focuses on the analysis of the surface nanoscopic structure and physicochemical characterization of starch films derived from white carrot (*Arracacia xanthorrhiza*), with additives of bentonite and kaolin. These clay additives induce changes in the films' properties at both microscopic and physicochemical levels. To effectively apply these composite films, understanding their properties is essential, and many influencing factors can be explained by phenomena observed at the nanoscopic level. Characterization revealed significant differences between the two types of additives, contrasting their physicochemical properties such as moisture content, total soluble matter, mechanical properties, opacity, and visual and color appearance. This comparison was based on analyses complemented with topography images obtained by atomic force microscopy in tapping mode. The results indicate that films with bentonite improve mechanical properties and have an irregular topography, while films with kaolin show a homogeneous structure without mechanical improvement.

Keywords: starch films, white carrot, bentonite, kaolin, atomic force microscopy, nanoscale characterization, edible coatings.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes investigativos

1.1.1. Contaminación por plásticos

En los últimos 50 años, la elaboración de productos plásticos basados en petróleo ha aumentado veinte veces, generando aproximadamente 9200 millones de toneladas métricas de plástico a nivel mundial **(Walker, 2021)**. En el año 2019, la producción global de plásticos petroleoquímicos alcanzó el valor de 328 millones de toneladas métricas, y se prevé que esta cifra se duplique en los próximos 20 años **(Borrelle et al., 2020).** La mayoría de los plásticos están destinados para un solo uso, con una capacidad de reciclaje limitada, generando una acumulación sin precedentes **(Walker & Fequet, 2023)**. Solo el 9% de los desechos plásticos a nivel mundial son sometidos a procesos de reciclaje, mientras que el 12% es incinerado, y el 79% se acumula en entornos naturales **(Geyer et al., 2017)**. Es habitual que estos plásticos que se acumulan en entornos naturales, con un elevado lapso de biodegradabilidad, se rompan en partículas pequeñas, formando desechos microscópicos denominados "microplásticos" **(Bergmann et al., 2023).** Estas partículas que tienen un diámetro inferior a 5 mm incrementan el nivel de contaminación que afecta al agua, al suelo y al aire **(Hartmann et al., 2019)**. La contaminación plástica se ha vuelto ubicua, encontrándose niveles muy altos incluso en ecosistemas remotos como el hielo marino del Ártico o los sedimentos de las profundidades oceánicas **(Kaandorp et al., 2023)**.

Los microplásticos perturban todas las formas de vida, pues se ha registrado su presencia en alimentos como: mariscos, azúcar, leche, frutas y carne **(Pironti et al., 2021)**. Los microplásticos, presentes en el ambiente y en la cadena alimentaria, pueden afectar significativamente el metabolismo tanto en animales como en humanos. Estas pequeñas partículas, al ser ingeridas, pueden alterar procesos metabólicos fundamentales al interferir con la absorción de nutrientes y la función de los órganos **(Citterich et al., 2023)**. En animales se ha observado que la presencia de microplásticos puede causar inflamación, estrés oxidativo y daño celular, lo que impacta negativamente en su crecimiento y desarrollo **(Yose et al., 2023)**. En los humanos, la presencia de microplásticos pueden actuar como vehículos para contaminantes químicos, liberando toxinas en el cuerpo, e incluso podría desencadenar problemas respiratorios y cardiacos **(Vasse & Melgert, 2024)**.

La ONU busca combatir la amenaza global de la contaminación por plásticos derivados del petróleo mediante la implementación de prácticas sostenibles, en línea con los Objetivos de Desarrollo Sostenible **(Walker, 2021)**. Por ejemplo, el Objetivo 12 "Garantizar modalidades de consumo y producción sostenible", y el Objetivo 14 "Conservar y utilizar de manera sostenible los océanos, los mares y los recursos marinos para el desarrollo sostenible", promueven la disminución de la producción de plásticos sintéticos de un solo uso, por alternativas más sostenibles, como la implementación de películas biodegradables de fuentes vegetales o animales, con el fin de disminuir la densidad de desechos plásticos que son arrojados al mar y provocan una cadena de contaminación **(United Nations, 2015)**.

1.1.2. Zanahoria blanca

1.1.2.1. Aspectos generales

La zanahoria blanca es una raíz alimenticia que tiene su origen en la región andina de América del Sur, es cultivada a altitudes elevadas, conocida por su resistencia a condiciones climáticas adversas y su adaptabilidad a terrenos montañosos. Este alimento ha sido cultivado durante siglos por comunidades indígenas en los Andes, sin embargo, aunque constituye una fuente valiosa de nutrientes, presenta una baja aceptabilidad en la dieta común, debido a su sabor poco agradable **(Sanchez-Portillo et al., 2023).**

La zanahoria blanca pertenece a la familia Apiaceae y a la especie Arracacia xanthorrhiza, llamada también arracacha o vicarra. Es una planta herbácea caulescente con una altura de entre 0,50 y 1,50 metros **(Mazón N et al., 1996)**. Sus hojas son de color verde con nervaduras rojas. Sus raíces presentan formas ovoides, cónicas o fusiformes de color blanco o amarillo, cuyo tamaño puede variar de 8 a 20 cm de longitud y de 3 a 8 cm de diámetro. Comúnmente, cada planta produce de 3 a 10 raíces útiles **(Pacheco et al., 2020)**. Su producción requiere temperaturas de entre 14 y 21 ℃, una altitud entre 1500 y 2800 metros, y no tolera períodos largos de temperaturas superiores a 25 °C **(Villamil Carvajal et al., 2023)**. En Ecuador, la zanahoria blanca se distribuye a lo largo del callejón interandino, especialmente en las provincias de la zona sur del país como Cañar, Azuay y Loja.

1.1.2.2. Almidón de zanahoria blanca

Este tubérculo se caracteriza por su almidón de gránulos pequeños, con una composición de alrededor del 20% de amilosa y 80% de amilopectina **(Castanha et al., 2018)**. Su rico

contenido en calcio, fósforo y hierro lo hace un recurso prometedor para las industrias biotecnológicas y alimentarias **(Barrera et al., 2004).**

El almidón de zanahoria blanca (*Arracacia xanthorrhiza*) se caracteriza por sus particulares propiedades físicas y químicas, que le confieren diversas aplicaciones. Sus gránulos son típicamente ovalados o esféricos y presentan un tamaño variable. El almidón de zanahoria blanca gelatiniza a temperaturas relativamente bajas, haciéndolo útil en procesos que requieren espesamiento a bajas temperaturas **(Castanha et al., 2018)**. Además, exhibe una notable capacidad de hinchamiento y solubilidad en agua, lo que mejora su funcionalidad tanto en productos alimenticios como industriales **(Lescano et al., 2021).**

1.1.3. Biomateriales

Los biomateriales, ya sean naturales, sintéticos o una mezcla de ambos, interactúan de manera segura y beneficiosa con sistemas biológicos **(Surendren et al., 2022).** Dentro de este grupo se encuentran las biopelículas, que representan una alternativa sostenible a los polímeros derivados del petróleo, con gran versatilidad en diversas aplicaciones **(Thakur et al., 2019).**

1.1.3.1. Películas de almidón

Las películas de almidón son de gran importancia debido a su biocompatibilidad, biodegradabilidad y versatilidad en aplicaciones como la medicina, el empaque de alimentos, la industria textil y la agricultura. Estas películas no solo ofrecen soluciones sostenibles al reemplazar plásticos convencionales, sino que también contribuyen a reducir el impacto ambiental al provenir de fuentes renovables y de fácil degradación en el medio ambiente. Su capacidad para mejorar la liberación controlada de fármacos y sus propiedades como recubrimientos en diversos campos destacan su potencial para innovaciones tecnológicas y ambientales significativas **(Heydari et al., 2023).**

El almidón, ha sido extensamente utilizado en el desarrollo de películas de recubrimiento comestibles, debido a su abundancia, fácil accesibilidad y costo efectivo. A pesar de contar con excelentes propiedades ópticas organolépticas y de barrera, a menudo presentan deficiencias en sus características mecánicas, en comparación con los plásticos convencionales. Estos últimos suelen mantener mejor su forma y propiedades a lo largo del tiempo, además de ser más económicos. **(Abulyazied & Ene, 2021).**

1.1.3.2. Aditivos

Los aditivos pueden brindar propiedades de mejora a las películas de almidón, en cuanto a sus características mecánicas, antimicrobianas, físicas y de biodegradabilidad **(Jamróz et al., 2019).** Sin embargo, existen ciertos aditivos que necesitan de un tratamiento previo para que existan propiedades de mejora en las películas **(Ashaduzzaman, Saha, & Rashid, 2020)**. Entre las arcillas que pueden ser utilizadas como aditivos de biopelículas están la bentonita y el caolín **(Islam et al., 2020).**

1.1.3.3. Bentonita

La arcilla bentonita, compuesta por montmorillonita, pertenece a la familia de las esmectitas y es una arcilla expansiva, lo que significa que aumenta su volumen cuando está en contacto con el agua **(Punia et al., 2023)**. Esta arcilla se forma por la alteración de cenizas volcánicas y es conocida por sus propiedades absorbentes, por lo que resulta valiosa en una variedad de aplicaciones industriales y comerciales **(Heydari et al., 2023).**

1.1.3.4. Caolín

El caolín es una arcilla blanca compuesta por caolinita, que se forma por la descomposición de rocas feldespáticas que se encuentran en ambientes cálidos y húmedos **(Méité et al., 2021).** Tiene una estructura en capas y una pureza que lo hace especialmente valioso en diversas industrias **(Kwaśniewska et al., 2020).**

1.1.4. Caracterización de las propiedades fisicoquímicas y estructurales

1.1.4.1. Caracterización mecánica

La caracterización mecánica comprende el conjunto de métodos y técnicas para evaluar las propiedades fundamentales de los materiales frente a fuerzas externas y condiciones ambientales. Incluye la medición de la resistencia mecánica, elasticidad y tensión. Estas pruebas son esenciales en la ingeniería de materiales y el diseño de componentes, permitiendo explorar cómo los materiales responden bajo carga y asegurando su durabilidad y rendimiento en diversas aplicaciones industriales y científicas. La caracterización mecánica utiliza equipos especializados para obtener datos precisos que guían el desarrollo y la selección de materiales adecuados para diferentes usos. Uno de ello es el texturómetro **(Radoor et al., 2024).**

El texturómetro se emplea para medir tanto propiedades mecánicas como texturales diversos materiales, incluyendo alimentos y polímeros. Este dispositivo puede operar en modos de compresión y tracción, lo que permite una evaluación integral de la textura. En el modo de compresión, el texturómetro aplica una fuerza descendente sobre una muestra para medir su resistencia a la deformación, permitiendo la evaluación de propiedades como la dureza y la firmeza. En el modo de tracción, el instrumento aplica una fuerza de estiramiento para medir la resistencia a la ruptura o al alargamiento, proporcionando información sobre la elasticidad y la adhesividad del material. Estas capacidades duales hacen del texturómetro una herramienta versátil para el análisis de materiales en diversas aplicaciones industriales y de investigación **(Caballero et al., 2018).**

1.1.4.1.1. Módulo de Young

El módulo de Young o módulo de elasticidad es una medida de la rigidez de un material en el régimen elástico, que determina la relación entre el esfuerzo (fuerza aplicada por área) y la deformación (alargamiento porcentual) en una región elástica. Se utiliza para predecir cuánto se deformará un material bajo una carga determinada. Un valor alto indica un. material más rígido, mientras que un valor bajo indica mayor flexibilidad **(Guzev et al., 2023)**.

La región elástica se define como la fase inicial de deformación de un material bajo carga, donde la relación entre el esfuerzo aplicado y la deformación resultante es lineal y reversible, según la ley de Hooke. En esta región, el material es capaz de recuperar completamente su forma original cuando se retira la carga, sin experimentar deformaciones permanentes ni daños estructurales importantes **(Bažant & Jirásek, 2002).**

Por otra parte, el régimen plástico es la fase en la que un material experimenta deformaciones permanentes o irreversibles bajo carga, una vez que se ha superado el límite elástico. En esta etapa, la relación entre el esfuerzo aplicado y la deformación ya no sigue siendo lineal según la ley de Hooke, y el material no puede recuperar completamente su forma original al retirar la carga. Las deformaciones plásticas implican un reordenamiento permanente de la estructura interna del material, lo que puede llevar a cambios permanentes en sus propiedades físicas y mecánicas **(Guzev et al., 2023).**

1.1.4.1.2. Resistencia a la máxima tensión

Comúnmente conocida como resistencia a la tracción es la máxima fuerza de tracción que un material puede soportar antes de sufrir una deformación permanente o fracturarse. Es un valor crucial para evaluar la capacidad de un material para resistir fuerzas de estiramiento. Este parámetro es esencial en el diseño y selección de materiales, ya que indica su durabilidad y capacidad para soportar cargas sin fallar estructuralmente **(Thakur et al., 2019)**.

1.1.4.1.3. Deformación en la máxima tensión

Es una medida de cuánto puede estirarse un material antes de iniciarse la rotura, expresada como un porcentaje del aumento en longitud respecto a su longitud original. Este parámetro refleja la ductilidad del material, es decir, su capacidad para deformarse bajo tensión sin fracturarse, y es esencial para evaluar su flexibilidad y resistencia a la deformación **(Gleadall, 2015).**

1.1.4.2. Espectrofotometría infrarroja con transformada de Fourier

La espectrofotometría infrarroja de transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (ATR-FTIR) es una técnica empleada para analizar la composición y estructura de materiales **(Dutta, 2017).** Se fundamenta en la reflexión de la radiación infrarroja (IR) en la interfaz entre un material de alto índice de refracción y otro de bajo índice de refracción, de modo que se genera una reflexión total interna y se propaga una pequeña onda evanescente en la interfaz, la cual atraviesa la zona de la muestra en contacto con ese material, variando el espectro original. La intensidad de esta onda evanescente proporciona información valiosa sobre la estructura molecular de la muestra **(Alkhuder, 2023).** El espectro de IR resultante se puede utilizar para identificar los grupos funcionales presentes en la muestra **(Jaggi, 2006).** El registro de las frecuencias absorbidas se realiza a través de un interferograma, el cual grafica el número de onda (cm^{-1}) frente a la transmitancia (T), y mediante la transformada de Fourier se procesa éste para obtener datos precisos sobre las frecuencias absorbidas. La interpretación de los picos en el espectro se realiza con tablas que correlacionan grupos funcionales e intervalos de frecuencia **(Ismail et al., 1997).**

1.1.4.3. Espectrofotometría de UV-Vis

La espectrofotometría ultravioleta-visible (UV-Vis) es una técnica analítica que utiliza la absorción de luz en las regiones ultravioleta (UV) y visible (Vis) del espectro electromagnético **(Burgess, 2017).** Las moléculas absorben, reflejan o dispersan radiación electromagnética de longitudes de onda específicas, lo que permite detectar iridiscencia o reflexión de diversas longitudes de onda en diferentes ángulos. La longitud de onda absorbida está relacionada con la energía requerida para esta excitación electrónica **(Picollo et al., 2018)**. La técnica consiste en colocar la muestra entre una fuente de luz y un fotodetector, midiendo la intensidad de la luz UV-Vis, antes y después de pasar por ella, y en contrastar tales datos con los registrados a través de un patrón conocido. Permite evaluar la opacidad de la muestra a diferentes longitudes de onda, revelando la capacidad del material para bloquear parcial o completamente el paso de la luz a esas determinadas frecuencias **(Khalid et al., 2024).**

1.1.4.4. Contenido de humedad

El contenido de humedad se refiere a la cantidad de agua presente en un material sometido a condiciones ambientales, medida como un porcentaje de su masa o volumen total. Esta medida es fundamental en diversas industrias y disciplinas debido a su impacto en las propiedades físicas, químicas y mecánicas de los materiales **(Gleadall, 2015).** Determinar el contenido de humedad permite evaluar la estabilidad, la durabilidad y otras características importantes de productos como alimentos, materiales de construcción y productos farmacéuticos **(Thakur et al., 2019)**. Métodos como el secado gravimétrico y técnicas de espectroscopía se utilizan para obtener mediciones precisas y para guiar procesos de fabricación, almacenamiento y calidad en diversas aplicaciones industriales y científicas **(Suh et al., 2020).**

1.1.4.5. Materia total soluble

La materia total soluble se refiere a la cantidad de componentes solubles en agua presentes en la película, excluyendo aquellos que permanecen como sólidos insolubles. Este parámetro es crucial para entender y evaluar la capacidad de solubilidad y estabilidad de la película al liberar o retener agua y cualquier otra substancia soluble en el agua **(Thakur et al., 2019)**. La medición precisa de la materia total soluble se realiza típicamente mediante técnicas de extracción y análisis que separan los componentes solubles de los insolubles, proporcionando información crucial sobre la eficacia y funcionalidad de las películas de almidón en diferentes entornos y aplicaciones industriales **(Suh et al., 2020).**

1.1.5. Caracterización nanoscópica

1.1.5.1. Microscopía de fuerza atómica (AFM)

La microscopía de fuerza atómica (AFM), es una técnica avanzada de caracterización nanoscópica. Permite determinar la topografía, la rugosidad y algunas propiedades mecánicas de superficies a nivel casi atómico o molecular **(Casado, 2017).** Opera mediante la interacción de sus componentes: un fotodetector de 4 cuadrantes, un cantiléver con una punta, posicionadores piezoeléctricos, un láser y la muestra **(García & Kikut, 2020).** 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 **(Casado et al., 2017).**

1.1.5.2. Modo de operación de contacto intermitente (tapping)

En la microscopía de fuerza atómica en modo tapping el contraste de fase surge de las interacciones dinámicas entre la punta y la superficie. El modo tapping es un método de escaneo donde la punta de la sonda se desplaza hacia arriba y hacia abajo siguiendo una trayectoria sinusoidal a una altura constante sobre la superficie a analizar **(Phani et al., 2021),** minimizando las tensiones laterales durante el escaneo. La oscilación del cantiléver, relacionada con la fuerza entre la punta y la superficie, se mide continuamente, haciendo incidir un láser sobre la superficie del cantiléver y empleando sensores fotométricos para crear una imagen detallada de la topografía de la superficie. La punta, la cual termina en un radio de unos pocos nanómetros, está adherida a una micropalanca, la cual está unida a varios materiales piezoeléctricos que controlan su posición con una elevada resolución. De este modo es posible acercar la punta oscilante a la muestra y escanear su superficie monitoreando la amplitud de la oscilación de la micropalanca. Cuando la punta se acerca a una elevación durante el escaneo, la fuerza aumenta, lo que reduce la amplitud de la micropalanca. El equipo, al detectarlo, desplaza el material piezoeléctrico al cual está sujeta la micropalancahacia arriba para recuperar la amplitud inicial. Este desplazamiento es tomado como la altura de la muestra en ese punto específico. Si, en cambio, la punta se aleja de la muestra por encontrarse una depresión, la fuerza de interacción disminuye y la amplitud aumenta, con lo que el equipo hace descender la punta hacia abajo hasta recuperar la amplitud inicial, descenso que es tomado como la altura de la superficie. Esto permite obtener imágenes precisas, donde los picos representan elevaciones y los valles depresiones en la muestra escaneada **(Cappellaro et al., 2012).**

1.1.5.3. Potencial del AFM en el estudio de muestras biológicas

El Microscopio de Fuerza Atómica (AFM) ofrece un potencial excepcional en la investigación de películas de almidón y otras muestras biológicas. Su capacidad para generar imágenes de alta resolución a escala nanométrica permite estudiar con detalle la morfología y estructura de las películas de almidón, incluyendo la distribución de partículas y aditivos a nivel molecular. Además, el AFM es capaz de medir propiedades mecánicas como la rugosidad superficial, la adhesión y la elasticidad, proporcionando información crucial sobre las características físicas y funcionales de estas películas. Estas capacidades hacen del AFM una herramienta invaluable para avanzar en el diseño y desarrollo de aplicaciones innovadoras en áreas como el empaque sostenible, recubrimientos biodegradables o dispositivos biomédicos.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

- Caracterizar la nanoestructura superficial y fisicoquímica de películas de almidón extraído de zanahoria blanca (*Arracacia xanthorrhiza*), con arcillas de caolín y bentonita como aditivos.

1.2.2. Objetivos específicos

- Generar láminas de almidón extraído de zanahoria blanca, utilizando glicerol como plastificante y arcillas de caolín y bentonita como aditivos.

- Medir las propiedades fisicoquímicas y estructurales de las láminas obtenidas.

- Caracterizar las superficies de las láminas obtenidas nanoscópicamente, y contrastar los resultados con las propiedades fisicoquímicas halladas previamente.

CAPÍTULO II

2. METODOLOGÍA

2.1. Materiales

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.

2.1.1. Materiales de laboratorio

Tabla 1.

Materiales de laboratorio

Material	**Cantidad**
Celdas de cuarzo	2
Puntas de AFM modo *tapping*	2
Portaobjetos metálicos de AFM	4
Pinzas	1
Portaobjetos	2
Placas Petri	20
Vaso de precipitación	4

2.1.2. Equipos de laboratorio

Tabla 2.

Equipos de laboratorio

Equipo	**Cantidad**
Microscopio de Fuerza Atómica Park Systems	1
Computadora del AFM	2
Microscopio óptico Evos XL	1
Balanza de humedad Citizen	1
Balanza analítica VWR	1
Estufa de secado Binder	1
Espectrofotómetro UV-Vis Thermo Scientific	1

Espectrofotómetro de infrarrojo de TF Perkin Elmer con ATR	1
Texturómetro Brookfield CT3	1
Agitador mecánico vertical IKA Ultra Turrax	1
Plancha de calentamiento	1

2.1.3. Insumos de laboratorio

Tabla 3.

Insumos de laboratorio

Insumos	**Cantidad**
Cinta adhesiva doble cara	1
Guantes asépticos	4
Tijeras	1
Fundas ziploc	20
Pinzas	2

2.1.4. Materiales de escritorio

Tabla 4.

Materiales de escritorio

Material	**Cantidad**
Laptop	1
Cámara	1
USB	1
Rotulador	1

2.2. Métodos

2.2.1. Obtención de las muestras

2.2.1.1. Extracción del almidón

Para la extracción del almidón de la zanahoria blanca, se adquirieron éstas comercialmente, se lavaron, pelaron y cortaron en cubos pequeños. Luego se realizó un proceso de molienda con agua destilada, y después se filtró la mezcla utilizando una malla con un diámetro de poro de 0,5 mm. El filtrado resultante se dejó reposar por 24 horas en vasos de precipitación para que sedimente el almidón. Posterior a esto se realizaron lavados sucesivos con agua destilada, descartando el sobrenadante hasta asegurar que el almidón precipitado quede completamente blanco. El extracto de almidón se dejó secar sobre bandejas de aluminio en una estufa a 45 °C durante aproximadamente 24 horas, y luego se procedió a molerlo en un mortero hasta obtener un polvo fino **(Pico et al., 2022).**

2.2.1.2. Elaboración de las películas de almidón

Para la elaboración de las películas se empleó el protocolo descrito por **Pico et al. (2022)** y **Calambas et al. (2021)**, con ciertas modificaciones. Primero, se disolvió el almidón en 80 mL de agua destilada y se agitó la mezcla. Luego, por separado, se disolvió 1 mL de glicerol en 20 mL de agua destilada durante 5 minutos, para posteriormente añadirlo a la primera solución. Esta solución resultante se sometió a agitación constante en un agitador magnético de calentamiento, a 250 rpm durante aproximadamente 30 minutos a una temperatura de 70 °C. Después, se sometió a un agitador mecánico (ultraturrax) a 5000 rpm durante 10 minutos y, para retirar las burbujas de la superficie, se empleó una bomba de vacío. Posteriormente, se vertieron 25 gramos de la solución formadora de películas en cajas Petri y se procedió a secar en una estufa a 45 °C durante 24 horas. Las películas se elaboraron con 3, 4 y 5 gramos de almidón, para determinar el porcentaje que presentara mejores características mecánicas.

2.2.1.3. Elaboración de las películas de almidón con arcilla

Para la elaboración de las películas con aditivo, se colocó arcilla (caolín o bentonita) en 80 mL de agua destilada y se sometió a agitación mecánica durante 5 minutos. Posteriormente, se añadieron 5 gramos de almidón a esta solución y 1 mL de glicerol, luego se continuó con el mismo procedimiento descrito anteriormente.

2.2.2. Propiedades fisicoquímicas y estructurales

2.2.2.1. Ensayos de tracción

En base al método estándar ASTM D882 (Instron Universal Testing) se midieron las propiedades mecánicas de las películas con el uso del texturómetro Brookfield CT3 (Middleboro, Estados Unidos.). Se midió el módulo elástico o módulo de Young, la resistencia a la tracción o también denominada resistencia a la máxima tensión y el alargamiento a la rotura o elongación en la máxima tensión. Las películas se cortaron en rectángulos de 50 mm de largo por 20 mm de ancho para el respectivo análisis. Se realizaron 3 réplicas de cada tipo de muestra.

2.2.2.2. Caracterización por microscopia óptica

Se capturó la apariencia visual usando una cámara convencional de 12 Mpx. Se reflejó luz blanca difusa en las películas colocadas sobre un fondo blanco con letras y figuras.

Las micrografías ópticas se obtuvieron en modo de reflexión. Se empleó un microscopio EVOS XL Thermo Fisher Scientific (Washington, EE. UU), con un lente objetivo de 40x y 0,65 de apertura numérica utilizando iluminación blanca en transmisión **(Pico et al., 2022).** Las muestras se fijaron a un portaobjetos para poder tomar las imágenes.

2.2.2.3. Caracterización colorimétrica

Para determinar los parámetros de color de las películas, se realizaron pruebas con el colorímetro Lovibond (Amesbury, Reino Unido). Cada película se colocó en el compartimiento de medición del lente y se tomaron los datos de cada una de las películas por triplicado.

Los datos fueron analizados basados en el espacio de color CIELAB, donde: L* representa la luminosidad, a* indica la posición del color a lo largo del eje verde-rojo, valores positivos de a* indican tonos más rojizos, mientras que valores negativos indican tonos más verdosos. Y b* indica la posición del color a lo largo del eje azul-amarillo. Valores positivos de b* indican tonos más amarillentos, y valores negativos tonos más azulados **(Brill, 2021).**

2.2.2.4. Espectrofotometría de infrarrojo con transformada de Fourier y reflectancia total atenuada

Se utilizó el espectrofotómetro infrarrojo de transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (ATR-FTIR) y se empleó la metodología descrita por **Tarique et al. (2021).** Primero, se realizó la medida del espectro de referencia o blanco y, luego, se colocó la lámina de almidón directamente sobre la celda de reflectancia total atenuada (ATR), ajustándola con el vástago tensor para asegurar el impacto de la onda evanescente con la muestra. Se corrió el análisis en un rango de números de onda entre 4000 cm^{-1} y 600 cm^{-1} y se registraron los espectros de absorción óptica de cada película.

2.2.2.5. Espectrofotometría de UV-Vis

Para evaluar la opacidad de las láminas se utilizó un espectrofotómetro UV-Vis Thermo Fisher Scientific (Waltham,MA, EE. UU.) según el método descrito por Arancibia et al (2015)**.** Se colocó una muestra de la película directamente en la cara delantera de una celda de cuarzo y se analizó su absorción Luego, se registró la absorbancia a 560 nm y se calculó la opacidad utilizando el espesor de la película (x, mm) mediante la ecuación que se describe a continuación:

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

2.2.2.6. Análisis de humedad

El contenido de humedad de las películas se determinó utilizando una balanza de humedad Citizen (Tokio, Japón). En dicho proceso, se colocó una muestra de cada una de las láminas en el plato de la balanza, y se registró la disminución de peso a medida que la muestra libera vapor de agua debido al calentamiento mediante radiación infrarroja **(Aguirre et al., 2023).** Se realizaron 3 réplicas de cada tipo de muestra.

2.2.2.7. Análisis de solubilidad

Para determinar la materia total soluble (MST), se pesaron piezas laterales cuadradas de 5 mm de lado y se sumergieron en 30 mL de agua destilada. Luego se dejó en agitación suave y constante en condiciones ambientales durante 24 horas. Después, las porciones restantes de las

películas no disueltas se recuperaron mediante filtración y se secaron a 105 °C por 24 horas. Por último, los residuos se pesaron una vez más.

Se realizaron 3 réplicas de cada tipo de muestra y los valores de MTS se obtuvieron empelando la siguiente ecuación:

$$MTS = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100(\%)$$

Donde:

W_1 = peso inicial

W_2 = peso final

2.2.3. Caracterización nanoscópica y comparación de resultados

2.2.3.1. Microscopía de fuerza atómica (AFM)

Para la exploración nanoscópica de las muestras se utilizó el microscopio de fuerza atómica Park Systems XE7 (Santa Clara, CA, EE. UU.), primero se tomó una muestra de 1 cm^2 de dimensión y se colocó sobre la placa magnética de 2 cm de diámetro destinada a las mediciones del AFM. Las muestras preparadas se posicionaron dentro del rango del microscopio óptico acoplado al microscopio de fuerza atómica y se ajustó el objetivo óptico focalizado sobre la muestra. Finalmente, se cerró el sistema de aislamiento acústico para evitar perturbaciones externas, configurando los parámetros de medida en modo no contacto intermitente (tapping). La adquisición de las imágenes se llevó a cabo con el programa informático SmartScan, integrado en el equipo de AFM.

2.2.3.2. Comparación entre el análisis nanoscópico y las propiedades fisicoquímicas.

Una vez obtenidos los análisis fisicoquímicos y macroscópicos de las películas se contrastaron con la información nanoscópica proporcionada por el AFM. La comparación podrá permitir explicar algunas de las propiedades observadas.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis y discusión de los resultados

3.1.1. Caracterización de las propiedades fisicoquímicas y estructurales

3.1.1.1. Propiedades elásticas

Para analizar las propiedades mecánicas de las películas de almidón de zanahoria blanca, se elaboraron películas a partir de 3, 4, 5, 7 y 10% m/v de almidón, (masa en gramos en 100 mL de agua destilada), manteniendo constante la adición de 1% v/v de glicerol, a partir de ello se determina la cantidad adecuada de almidón para la incorporación de los aditivos.

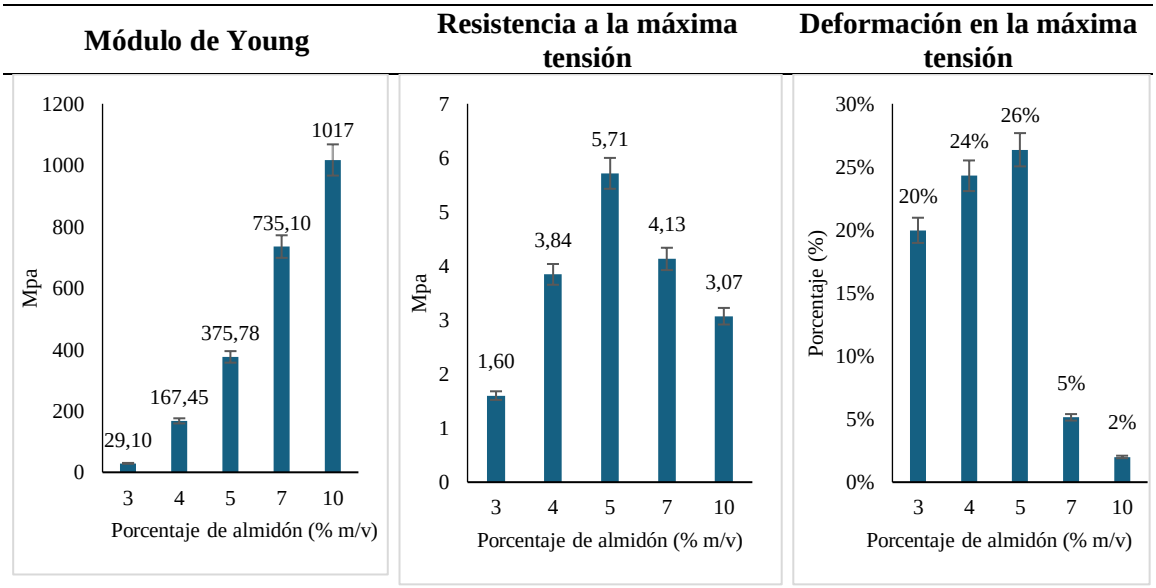


Figura 1. Propiedades mecánicas de películas de almidón.

Nota: Los resultados se obtuvieron mediante experimentación con tres réplicas y se presentan como la media ± la desviación estándar.

Las propiedades mecánicas de las películas de almidón se observan en la **Figura 1**, las películas elaboradas a partir de 5% m/v de almidón y 1% v/v de glicerol presentaron mayor resistencia a la máxima tensión y mayor deformación en la máxima tensión (5,71 Mpa y 26%, respectivamente). Sin embargo, el módulo de Young incrementa con el aumento de la cantidad de almidón, aunque esto afecta las propiedades de resistencia y deformación a la máxima

tensión en 7 y 10% m/v de almidón. Por lo tanto, se observan mejores características mecánicas al agregar 5% m/v de almidón. Estos valores concuerdan con los publicados por **Lescano et al. (2021)**, quienes mencionan que las concentraciones de 5% de almidón y 1% de glicerol son las proporciones óptimas para la elaboración de biopelículas de almidón de zanahoria blanca, ya que brindan un equilibrio ideal entre las propiedades mecánicas y visuales de las películas.

En base a este análisis se elaboraron películas de almidón con aditivos a partir de 5% m/v de almidón, 1% v/v de glicerol y diferentes porcentajes de arcilla bentonita y caolín (0,05, 0,5, y 1% m/v).

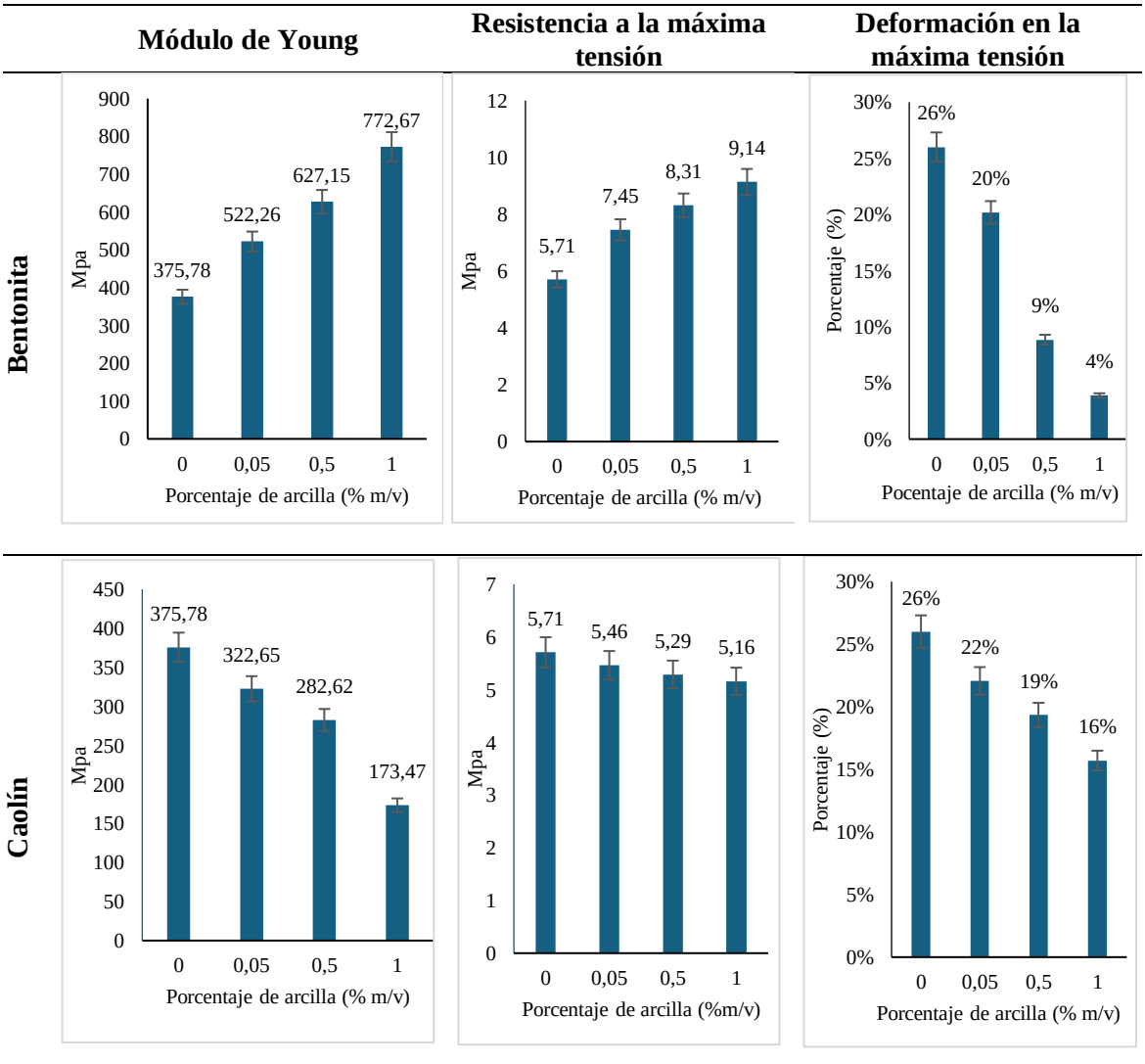


Figura 2. Propiedades mecánicas de películas de almidón con aditivos de bentonita y caolín.

Nota: Los resultados se obtuvieron mediante experimentación con tres réplicas y se presentan como la media ± la desviación estándar.

Los resultados de la **Figura 2** muestran un efecto considerable de las arcillas en los parámetros mecánicos de las películas. En particular, la adición de arcilla bentonita genera un incremento significativo en el módulo de Young y en la resistencia a la máxima tensión, pero una reducción progresiva en el porcentaje de deformación. Al agregar 1% m/v de este aditivo, los valores alcanzan 772,67 Mpa, 9,14 Mpa y 4%, respectivamente. Según **Cyras et al. (2008)**, la inclusión de bentonita tiene un efecto de mejora en el módulo de Young y en la resistencia a la máxima tensión. Esto podría ocurrir debido a la estructura laminar de la bentonita, que permite una mayor dispersión en la matriz polimérica **(Kgabi & Ambushe, 2023)**. Esta dispersión podría mejorar la interacción entre la bentonita y el polímero, lo que explica el registro de una mayor rigidez y la resistencia del material compuesto. Al mismo tiempo, la elongación disminuye porque el material se vuelve menos flexible, con una mayor tendencia a concentrar tensiones y formar grietas **(Monteiro, Oliveira, et al., 2018)**. Estos efectos son comunes cuando se añaden refuerzos inorgánicos a matrices poliméricas, mejorando la rigidez a costa de la ductilidad **(Punia et al., 2023)**.

Por otra parte, la adición de arcilla caolín muestra efectos distintos en las propiedades mecánicas, como se detalla en la **Figura 2**. El módulo de Young, la resistencia a la máxima tensión y la deformación en la máxima tensión alcanzan sus valores más altos en la película que no contiene arcilla, con 375,78 MPa, 5,71 MPa y 26%, respectivamente. Sin embargo, al aumentar la cantidad de caolín estas características disminuyen, con 1% m/v de caolín, el módulo de Young se reduce a 173,47 MPa, casi a la mitad que en la película sin el aditivo. Estos resultados concuerdan con los publicados por **Kwaśniewska et al. (2020),** quienes utilizaron almidón de papa y glicerol como plastificante, y observaron una disminución en los parámetros mecánicos al incrementar la cantidad de caolín. Sin embargo, en estudios de **Tabassum et al. (2024)** se recalca que al incrementar la cantidad de caolín aumenta la resistencia a la máxima tensión, mientras que menos caolín la disminuye. Esto podría deberse a una mejor dispersión del caolín en la matriz polimérica, resultado de un tratamiento previo del aditivo **(Meite et al., 2018)**.

3.1.1.2. Caracterización por microscopia óptica y colorimétrica

A medida que incrementa la cantidad de arcilla en las películas, surgen diferencias notables en el aspecto visual y en el color aparente de cada una, como se ilustra en la **Figura 3**. Se observa un cambio evidente de color al añadir arcilla bentonita, pasando de transparente a marrón debido al color del aditivo. Por otra parte, la incorporación de arcilla caolín hace que las películas se vuelvan más difusas, perdiendo así su transparencia inicial.

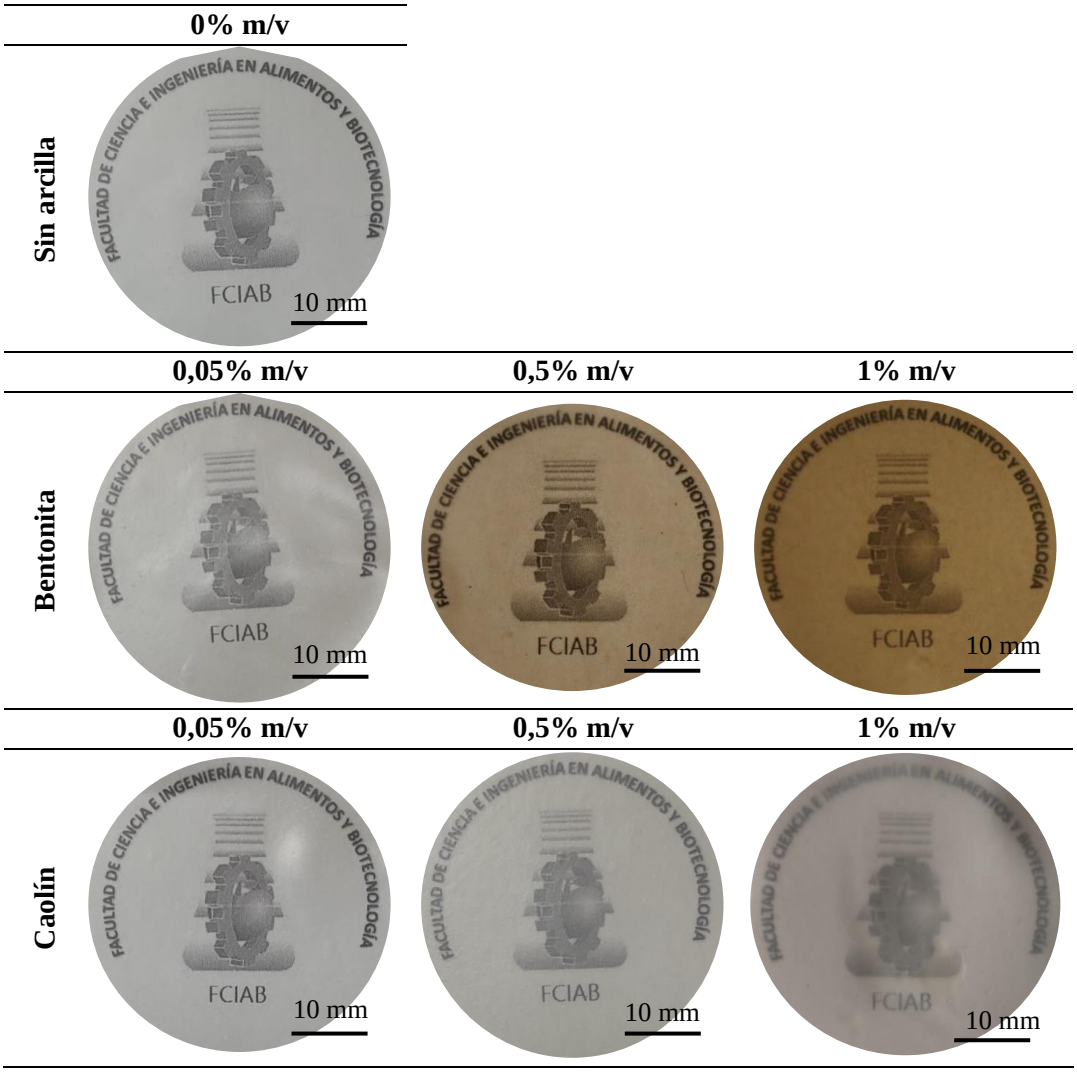


Figura 3. Imágenes fotográficas del aspecto visual aparente de películas de almidón con aditivos de bentonita y caolín.

Para una evaluación más precisa del aspecto visual de las películas, se llevaron a cabo mediciones de los parámetros de cromaticidad, lo que permitió cuantificar su variabilidad macroscópica de color, como se muestra en la **Tabla 5.**

Tabla 5.

Parámetros de color L* a* y b* de películas de almidón con diferentes cantidades de bentonita y caolín.

	Sin arcilla % m/v	Bentonita % m/v			Caolín % m/v		
	0	**0,05**	**0,5**	**1**	**0,05**	**0,5**	**1**
L*	91,3 ±0,24	88,8 ±0,15	76,6 ±0,14	60,2 ±0,40	89,9 ±0,50	87,3 ±0,06	85,5 ±0,67
a*	2,8 ±0,05	2,6 ±0,18	3,2 ±0,24	7,2 ±0,26	2,6 ±0,71	1,9 ±0.17	1,1 ±0,07
b*	-10,1 ±0,16	-6,4 ±0,08	12,7 ±0,28	31,1 ±0,07	-8,9 ±0,64	-2,2 ±0,64	0,6 ±1,09

Nota: Los resultados se obtuvieron mediante experimentación con tres réplicas y se presentan como la media ± la desviación estándar.

La adición de bentonita provoca una disminución en los valores de L*, lo que indica que las películas se vuelven más oscuras con la incorporación arcilla. Además, según los valores de a* y b*, las películas tienden a colores menos verdes y más amarillentos, en ambos casos a medida que aumenta la cantidad de bentonita. Según **Johansson & Clegg (2015)**, la disminución de los valores L* al incrementar la cantidad de bentonita en las películas se debe principalmente a las propiedades intrínsecas de la arcilla añadida. La bentonita, al tener un color natural que oscurece la matriz polimérica, reduce la reflectancia general de la luz visible. Esta reducción en la reflectancia se traduce en valores más bajos de L*, indicando que las películas se vuelven más oscuras. Además, **Naidu & John (2020),** mencionan que los valores a* y b* aumentan con el aumento del contenido de arcilla lo que indica que las películas se vuelven menos verdes y más amarillas, resultados similares a los obtenidos. Por lo tanto, la incorporación de bentonita altera los valores de L*, a* y b* de las películas, haciendo que sean más oscuras y amarillas.

Por otra parte, la adición de arcilla caolín también provoca una disminución en los valores de L*, es decir, que las películas van perdiendo luminosidad. Los valores de a* disminuyen a medida que se incrementa la cantidad de caolín, aunque mantienen una tendencia al rojo debido a sus valores positivos. Por otro lado, los valores de b* resultaron ser negativos, lo que indica una tendencia hacia el color azul. Como menciona **Johansson & Clegg (2015)**, las propiedades colorimétricas de las películas se deben a las propiedades intrínsecas de la arcilla. El caolín, una arcilla blanca compuesta principalmente por minerales de caolinita, tiene un impacto significativo en estas propiedades. La disminución de los valores de L* sugiere que la adición de caolín causa una pérdida de brillo en las películas. Esto se puede explicar por la capacidad del caolín para dispersar la luz incidente, lo que reduce la reflexión especular y, por ende, la luminosidad percibida de la película.

A nivel microscópico, se pueden observar diferencias significativas en las películas al añadir aditivos de arcilla, **Figura 4**. Los análisis microscópicos revelan una alteración en la estructura y disposición de las partículas de arcilla dentro de la matriz polimérica cuando se incorporan a las películas. La bentonita, que tiene una estructura laminar y una mayor capacidad de intercambio catiónico, tiende a formar agregados más grandes y dispersos en comparación con el caolín, que tiene una estructura más compacta y partículas de menor tamaño **(Monteiro, Oliveira, et al., 2018).**

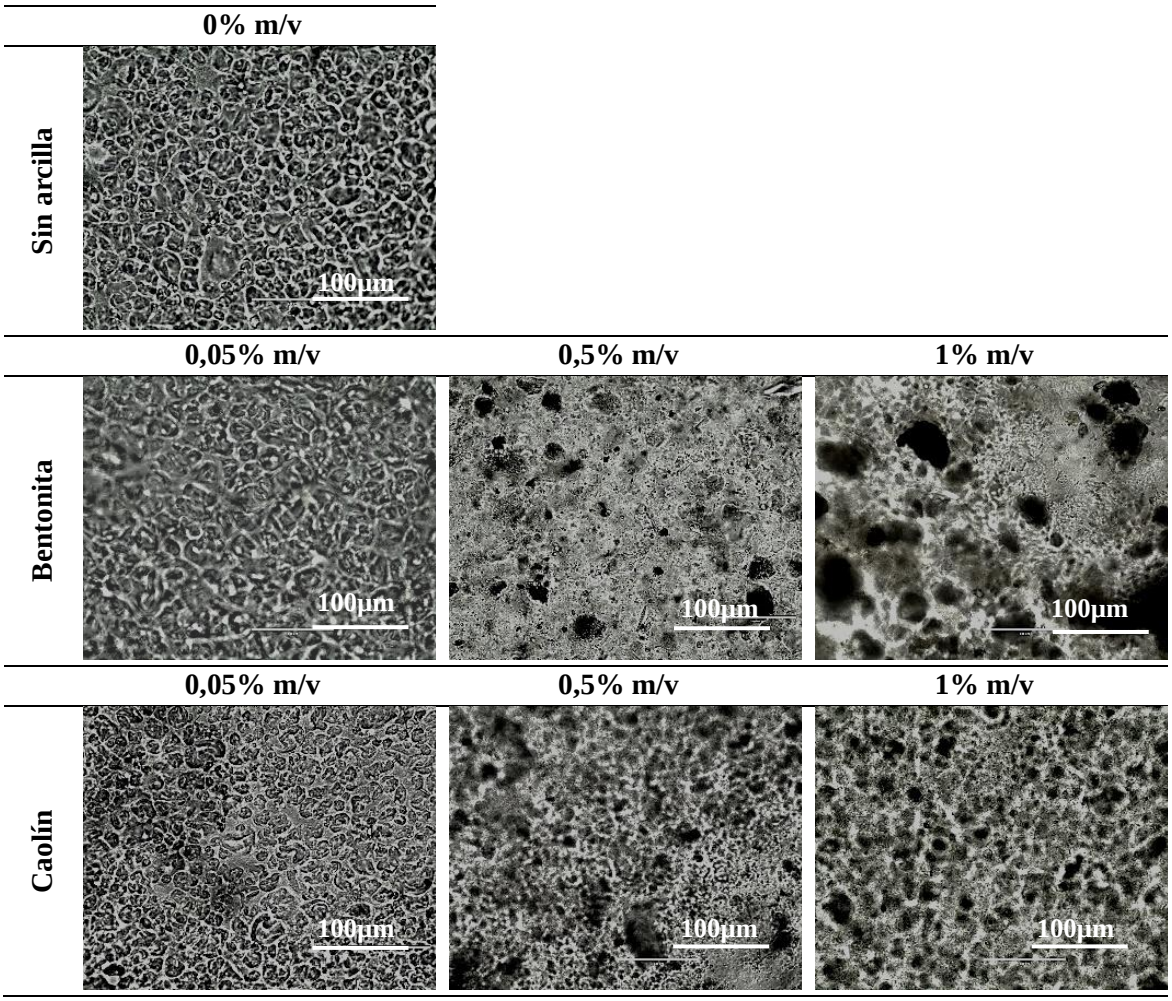


Figura 4. Micrografías de películas de almidón con aditivos de bentonita y caolín.

3.1.1.3. Absorción infrarroja por transformada de Fourier

En las **Figuras 5** y **6** se muestran los espectros de ATR-FTIR de las películas de almidón con bentonita y caolín. Se observa que las bandas de los grupos funcionales distintivos de las películas son casi idénticas. Todos los espectros encontrados tienen un pico ancho en 3300 cm^{-1},

que podría corresponder con la oscilación longitudinal de los grupos OH libres, los cuales están asociados a los componentes individuales de los biopolímeros como el almidón y el glicerol **(Liu et al., 2011).**

Además del pico en 3300 cm^{-1}, el pico ubicado en 1630 cm^{-1} puede estar relacionado con las contribuciones de las absorciones de agua, este último pico mencionado corresponde a la flexión de los enlaces OH. Las bandas ubicadas alrededor de 2920 cm^{-1} están relacionadas con las oscilaciones longitudinales del grupo C-H, característico del almidón **(Torres et al., 2011).**

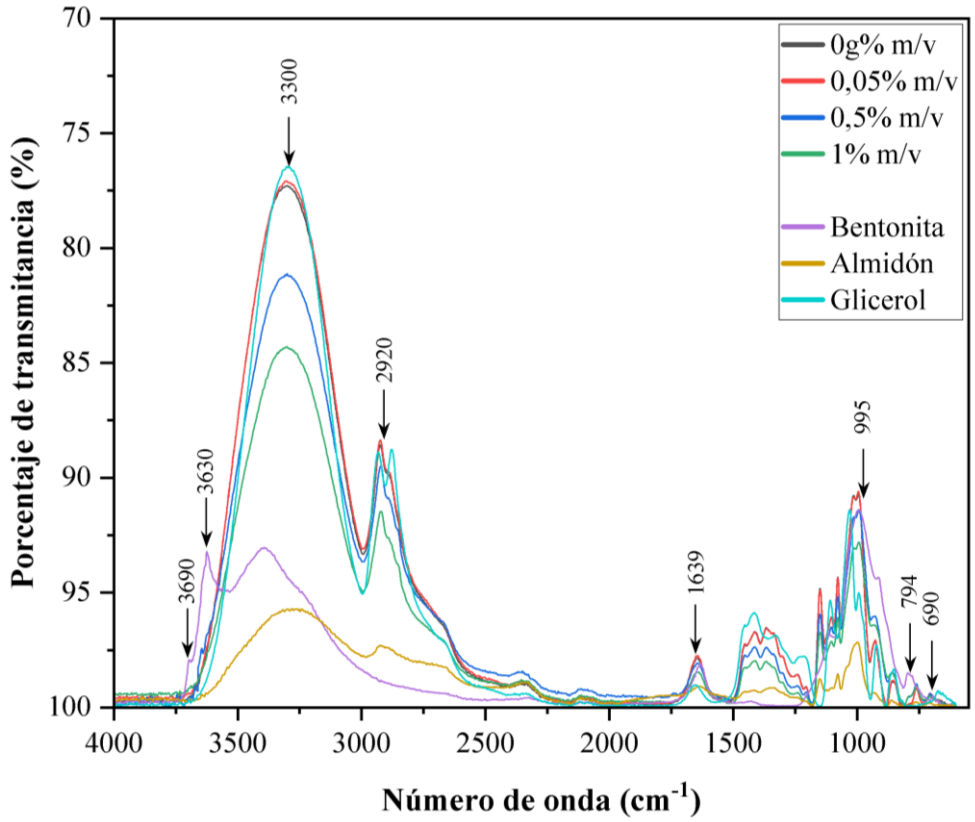


Figura 5. Espectrograma ATR-FTIR de: películas de almidón con bentonita, bentonita pura, almidón y glicerol.

Nota: En el espectrograma se indican con fechas los números de los picos más relevantes.

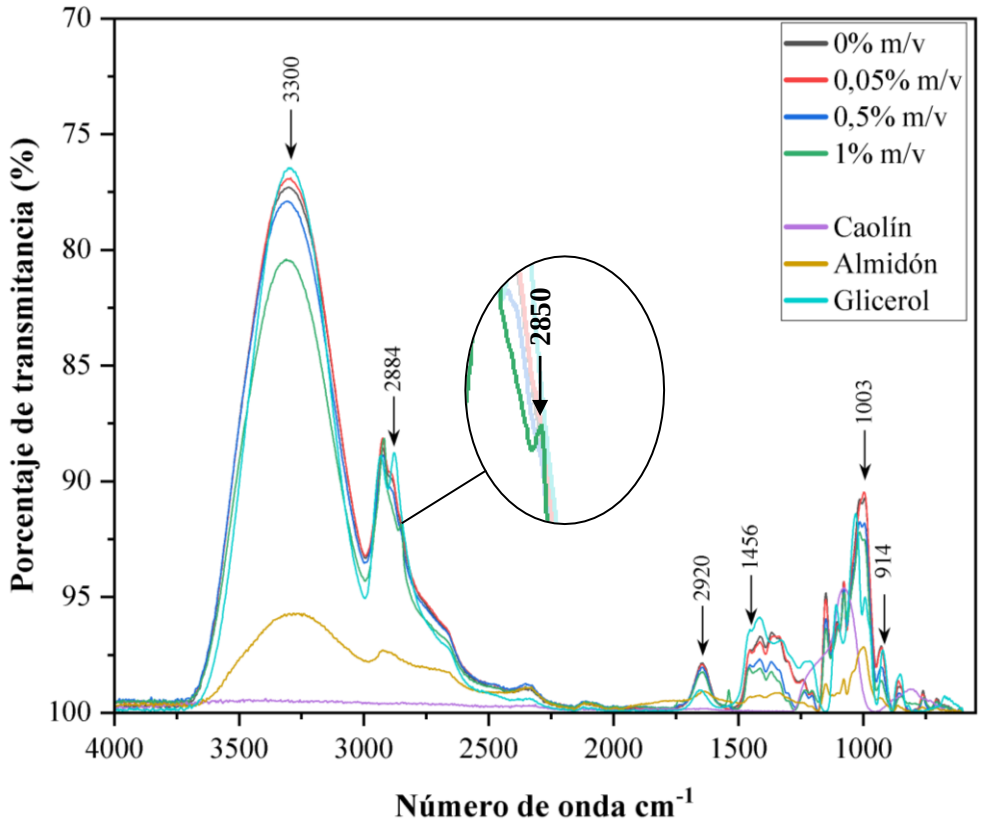


Figura 6. Espectrograma ATR-FTIR de: películas de almidón con caolín, caolín puro, almidón y glicerol.

Nota: En el espectrograma se indican con fechas los números de los picos más relevantes.

Los espectros de las películas compuestas de almidón-bentonita (**Figura 5**) muestran un pico de 3000 a 3600 cm^{-1}, correspondiente al grupo OH libre. Se observa un desplazamiento de los picos a una frecuencia más baja tras la adición de la bentonita. Esto podría deberse a una mayor interacción entre las cadenas de almidón y bentonita a través de los enlaces de hidrógeno **(Johansson & Clegg, 2015)**. Es decir, que los enlaces de hidrógeno entre las moléculas de almidón se deshacen, permitiendo la formación de nuevos enlaces de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de la arcilla y los de las moléculas de almidón **(Slavutsky et al., 2012).** En contraste, los espectros de las películas compuestas de almidón-caolín (**Figura 6**) muestran picos que podrían corresponder con la oscilación longitudinal de los grupos OH, que se desplazan a frecuencias más altas, inducidas por la banda del caolín **(Ashaduzzaman et al., 2020).**

Las vibraciones que se relacionan con los grupos hidroxilo a 3690 cm^{-1} (**Figura 5**) confirmarían la presencia de bentonita. Aunque estas vibraciones no se observan en los espectros de las películas (**Figura 5**: 0,05% m/v, 0,5% m/v, 1% m/v), probablemente por el bajo contenido de arcilla añadido en relación con la matriz polimérica **(Naidu & John, 2020)**. Sin embargo, la desaparición de esta banda fue reportada por **Liu et al. (2011)**, indicando que el agua libre en la

capa intermedia de la arcilla ha sido reemplazada. Esto indica la formación de nuevos enlaces entre los grupos OH del almidón y glicerol.

Por otra parte, los espectros de las películas compuestas de almidón-caolín, **Figura 6**, muestran la aparición de un nuevo pico en 2850 cm^{-1} (**Figura 6**: 1% m/v), atribuido a los grupos CH_2. También reflejan un aumento de la intensidad de la banda en 1463 cm^{-1}, que proviene de los grupos OCH y CH_2. El glicerol muestra la primera de estas bandas en 2884 cm^{-1} y la segunda en 1456 cm^{-1}. Estos desplazamientos en las bandas del glicerol indican que al menos una parte del glicerol se ha ubicado en las galerías de la arcilla **(Wilhelm et al., 2003).**

De acuerdo con la **Figura 5**, la zona más relevante del espectro de la arcilla bentonita presenta un pico de absorción a 995 cm^{-1}, característico de los minerales de montmorillonita de silicato en capas, asociado a la oscilación longitudinal del grupo Si-O. Los enlaces Al-OH-Mg se detectan a 864 cm^{-1}, junto con el pico a 794 cm^{-1}. La banda a 690 cm^{-1} corresponde a los modos de deformación de Si-O-Al o Si-O-Mg. Las bandas a 3394 cm^{-1} y 1639 cm^{-1} se asignan a la oscilación longitudinal y flexión de los grupos OH del agua adsorbida, y a la banda a 3630 cm^{-1} a la vibración del grupo OH **(Kgabi & Ambushe, 2023).**

El espectro del caolín (**Figura 6**) muestra un pico a 1003 cm^{-1}, asignado a enlaces Si-O-Al, y a 914 cm^{-1} correspondiente a Al-OH, típicas del mineral caolinita. La banda a 1003 cm^{-1} se atribuye a la oscilación longitudinal del grupo Si-O, indicando una estructura de silicato. Las bandas a 3684 cm^{-1} y 3618 cm^{-1} corresponden a la oscilación longitudinal del grupo OH, mientras que la banda a 1114 cm^{-1} se debe a la oscilación longitudinal del grupo Si-O **(Kgabi & Ambushe, 2023).**

3.1.1.4. Opacidad

Tabla 6.

Opacidad de películas de almidón con aditivos de arcilla (bentonita y caolín).

	% m/v	Opacidad (AU/mm)
Sin arcilla	0	0,89 ± 0,01
Bentonita	0,05	1,05 ± 0,02
	0,5	1,58 ± 0,08
	1	2,65 ± 0,14
Caolín	0,05	0,97 ± 0,01
	0,5	2,75 ± 0,11
	1	4,21 ± 0,02

Los resultados representan la media ± la desviación estándar (SD)

En la **Tabla 6**, se puede observar que el incremento del porcentaje de arcillas bentonita y caolín provocan un aumento en la opacidad y una disminución en la transparencia, en comparación con la película que no contiene aditivo.

Estos resultados concuerdan con los publicados por **Frangopoulos et al. (2023),** pues al aumentar el porcentaje de arcilla resultó en un aumento de la opacidad de las películas. Además, **Monteiro et al. (2018)** indicaron que al aumentar el contenido de bentonita existe un incremento en el tamaño de partículas dentro de la matriz polimérica. Por lo tanto, la aglomeración de partículas conduce a una menor transmitancia de luz.

Sin embargo**, Mbey et al. (2012)** menciona que las partículas de arcilla más grandes y mal distribuidas dentro de la matriz polimérica resultan en una mayor transparencia que las partículas más pequeñas y mejor dispersas, lo que coincide con las micrografías de la **Figura 4**. Por lo tanto, las películas con agregados de caolín tienen mayor opacidad que las películas con bentonita, siendo estas últimas más transparentes.

3.1.1.5. Contenido de humedad

Tabla 7.

Contenido de humedad de las películas de almidón con diferentes cantidades de arcilla

	% m/v	**Contenido de humedad (%)**
Sin arcilla	0	12,02 ± 0,25
Bentonita	0,05	11,70 ±0,39
	0,5	10,64 ± 0,11
	1	9,89 ± 0,21
Caolín	0,05	11,88 ± 0,18
	0,5	10,71 ± 0,08
	1	10,59 ± 0,10

Los resultados representan la media ± la desviación estándar (SD).

En la **Tabla 7** se observa el contenido de humedad, es decir, la cantidad de agua presente en las películas después de haber sido elaboradas. La película de almidón sin aditivo presenta un contenido de humedad mayor, antes de la adición de las arcillas, con un porcentaje de 12,02%. Estos valores están de acuerdo con los publicados por **(Sánchez et al., 2022)**. Tras la adición de arcilla, se observa una ligera disminución de los porcentajes de humedad, siendo más notable en las películas con bentonita que en las películas que contienen caolín. Aunque las películas con caolín tienen un ligero aumento en el contenido de humedad, esta variación mínima podría afectar a los parámetros mecánicos, haciendo que estas películas tiendan a ser menos resistentes.

3.1.1.6. Materia total soluble

Tabla 8.

Materia total soluble de películas de almidón con diferentes concentraciones de arcilla

	% m/v	MTS (%)
Sin arcilla	0	65,41 ± 0,12
Bentonita	0,05	31,69 ± 0,18
	0,5	29,37 ± 0,13
	1	25,67 ± 0,15
Caolín	0,05	30,67 ± 0,20
	0,5	21,80 ± 0,09
	1	18,23 ± 0,12

Los resultados representan la media ± la desviación estándar (SD).

Las películas de almidón sin aditivos mostraron un mayor porcentaje de materia total soluble, en comparación con las películas que contenían aditivos (**Tabla 8**). Esta diferencia se atribuye a las propiedades hidrofílicas intrínsecas de los componentes del almidón de zanahoria blanca. Específicamente, las películas de almidón con la arcilla bentonita exhibieron una mayor solubilidad en agua en comparación con aquellas que contenían arcilla caolín. Generalmente, una mayor solubilidad en agua indica una menor resistencia al agua por parte de las películas **(Derakhshani & Naghizadeh, 2018).**

Antes de la adición de bentonita o caolín, las películas de almidón de zanahoria blanca no tienen refuerzos estructurales que puedan reducir su solubilidad. Estos aditivos, una vez incorporados, crean una estructura más densa y menos permeable al agua, lo que disminuye la solubilidad de la película **(Islam et al., 2020)**. Además, los aditivos forman enlaces de hidrógeno con los componentes de la película, lo cual limita la capacidad de estos componentes para interactuar con las moléculas de agua **(Abdollahi et al., 2013).**

Las películas de almidón con bentonita muestran un mayor porcentaje de solubilidad en agua debido a las propiedades únicas de este aditivo. La bentonita es una arcilla con una estructura en capas que puede absorber y retener grandes cantidades de agua, lo que facilita su hinchamiento y dispersión en agua con relativa facilidad **(Monteiro et al., 2018)**. Esta característica hace que la bentonita sea altamente plástica y tenga una notable capacidad de intercambio catiónico **(Naidu & John, 2020).**

En contraste, el caolín es una arcilla que muestra una resistencia superior al agua. Posee una estructura cristalina más estable y no experimenta el mismo grado de hinchamiento al estar en

contacto con el agua como lo hace la bentonita. Como resultado, el caolín presenta un porcentaje de solubilidad al agua significativamente menor en comparación con la bentonita **(Mouzahim et al., 2023).** Es decir, la diferencia en el porcentaje de solubilidad entre las películas de almidón con bentonita y caolín se debe principalmente a las propiedades estructurales y de absorción de agua distintivas en cada tipo de arcilla. La adición de bentonita a las películas las hace menos resistentes al agua, mientras que el caolín, aunque no mejora las propiedades mecánicas, reduce significativamente su degradabilidad en presencia de agua, haciéndolas más resistentes a estas condiciones.

3.1.2. Caracterización nanoscópica

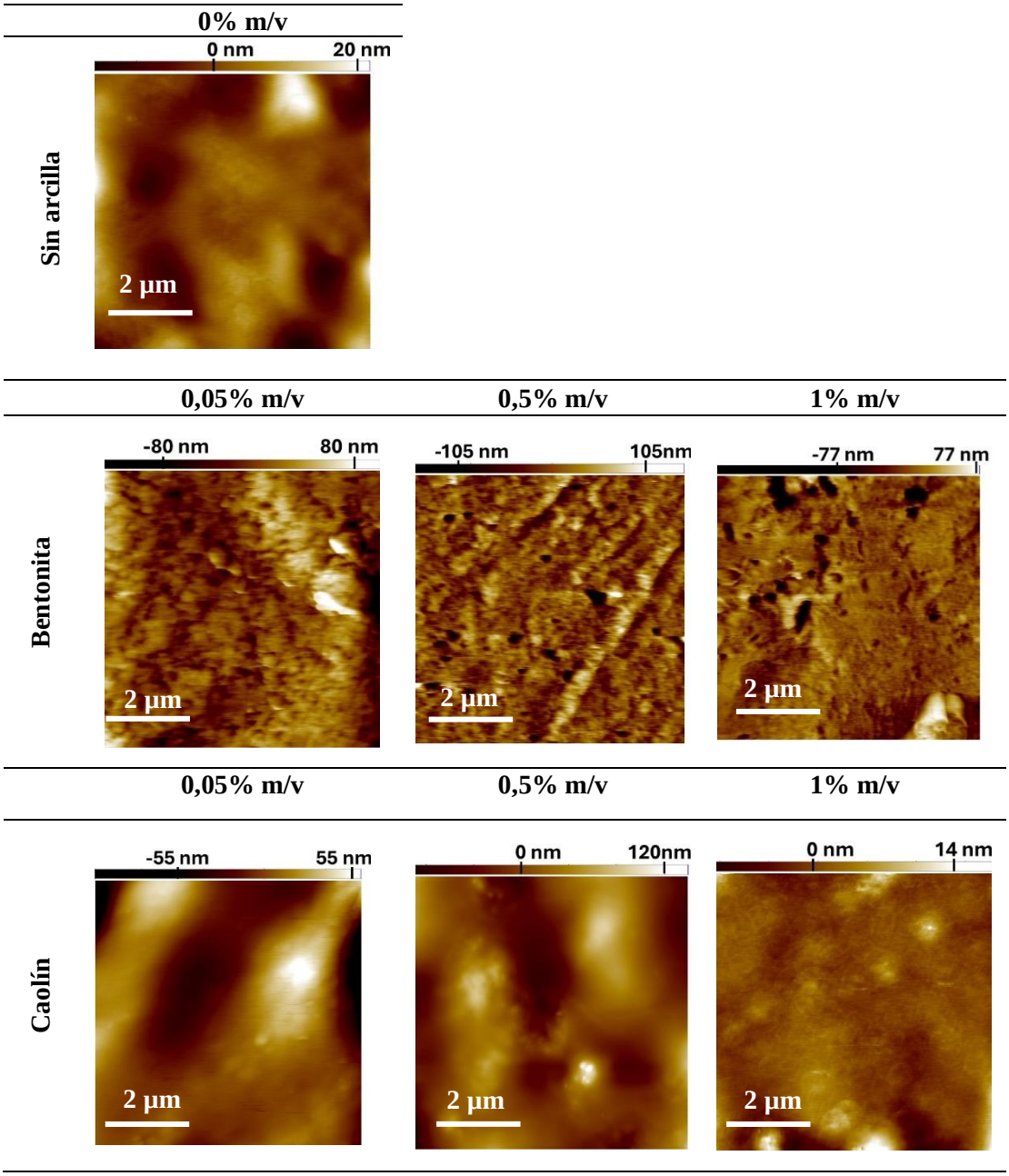


Figura 7. Topografía de películas de almidón con aditivos de bentonita y caolín.

La **Figura 7** muestra imágenes de la topografía superficial de películas de almidón con diferentes porcentajes de arcilla bentonita y caolín, obtenidas mediante microscopía de fuerza atómica en modo tapping.

Al comparar las imágenes obtenidas por AFM, se observa que las películas con agregados de bentonita tienen características topográficas de baja homogeneidad con un aspecto irregular. Esto podría atribuirse a una dispersión poco uniforme de las partículas de bentonita y a su tamaño relativamente grande. En contraste, las superficies de las películas con caolín muestran una topografía más homogénea y lisa. Esto podría explicarse por el hecho de que este tipo de arcilla se dispersa de manera más uniforme dentro de la matriz polimérica, ya que sus partículas son más pequeñas en comparación con las partículas de bentonita. Este tipo de análisis nanométrico permite relacionar y dar una posible explicación a lo que sucede con las películas de almidón al añadir arcillas a nivel macroscópico y fisicoquímico.

3.1.3. Comparación entre el análisis nanoscópico y las propiedades fisicoquímicas y estructurales

A nivel nanoscópico, las imágenes de la topografía de las películas con bentonita muestran una estructura irregular, mientras que las películas con caolín presentan una estructura más homogénea. A nivel microscópico (**Figura 4**), las partículas de arcilla bentonita dispersas en la matriz de almidón tienen un aspecto poco homogéneo en comparación con las partículas de caolín, que se observan distribuidas de manera más uniforme. Por lo tanto, la presencia de formas irregulares en la topografía de las películas con bentonita podría estar relacionada con la distribución de estas partículas en la matriz de almidón, lo que justifica la aparición de formas no homogéneas. En contraste, las películas con caolín muestran una estructura más homogénea, aunque con la presencia pequeñas irregularidades atribuidas a la presencia misma de gránulos de almidón y caolín.

En cuanto al análisis colorimétrico de las películas (**Tabla 5**), los parámetros de color L* muestran una mayor luminosidad en las películas sin arcilla, seguido por las películas que contienen caolín y, mostrando menos luminosidad aquellas que contienen bentonita. Estos resultados son coherentes con los obtenidos a nivel nanoscópico, ya que las películas que muestran mayor luminosidad son aquellas que tienen una topografía más lisa y homogénea. Tal es el caso de las películas sin arcilla y las que contienen caolín. Este fenómeno sucede debido a que una superficie lisa y homogénea puede reflejar la luz de manera más uniforme, lo que contribuye a una mayor luminosidad. En contraste, la topografía nanoscópica de las películas

con bentonita muestran una estructura poco homogénea e irregular, lo que interferiría su luminosidad.

Las partículas más grandes de bentonita pueden indicar una mayor interacción entre las partículas de arcilla y la matriz de almidón, lo que podría estar contribuyendo a una mejora de las propiedades mecánicas observadas en las películas con bentonita (**Figura 2**). Estas propiedades mejoradas podrían ser resultado de una mayor rigidez y resistencia debido a la mayor dimensión de las partículas y su interacción efectiva con la matriz polimérica, proporcionando una mejor distribución de las tensiones y reduciendo la deformación bajo carga.

Por otra parte, los espectrogramas obtenidos por ATR-FTIR permitieron conocer los grupos funcionales presentes en las estructuras de cada muestra, mostrando que las conformaciones entre estas películas analizadas son bastante similares. Algunos picos están relacionados a los componentes del almidón, glicerol, bentonita y caolín. Los picos ubicados en el rango de 3000 a 3600 cm^{-1} podrían destacar la presencia de agua absorbida por cada película, confirmado la presencia de esta en cada lámina. Estos resultados concuerdan con los análisis de humedad y solubilidad: al agregar aditivos de arcilla a las películas, su solubilidad disminuye, al igual que su contenido de humedad.

Finalmente, de acuerdo con los análisis de los resultados obtenidos durante el desarrollo de esta investigación, se verifica que las características observadas a nivel nanoscópico mediante microscopía de fuerza atómica (AFM) de las películas de almidón con aditivos de arcilla bentonita y caolín permiten dar una posible explicación a las características macroscópicas previamente halladas.

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

- Las películas de almidón con 5% m/v de almidón y 1% v/v de glicerol demostraron excelentes propiedades mecánicas, incluyendo un alto módulo de Young de 375,78 MPa, resistencia a la máxima tensión de 5,71 Mpa y una deformación en la máxima tensión del 26%. La adición de 1% m/v de arcilla bentonita incrementó notablemente el módulo de Young a 772,67 Mpa y la resistencia a la máxima tensión a 9,14 MPa, aunque redujo la deformación al 4%, debido a la estructura laminar que refuerza la matriz polimérica. En contraste, la incorporación de 1% m/v de arcilla caolín disminuyó el módulo de Young, resistencia a la máxima tensión y deformación en la máxima tensión a 173,47 Mpa, 5,16 Mpa y 16%, respectivamente.

- La adición de arcilla bentonita y caolín altera significativamente las propiedades visuales de las películas de almidón, volviéndolas más opacas y cambiando su coloración. La bentonita, por su color natural marrón, reduce los valores de L* (luminosidad) y desplaza los valores de a* y b* hacia tonos más amarillentos. Por otro lado, el caolín también disminuye la transparencia de las películas, reduciendo los valores de L* y mostrando una inclinación hacia tonos rojos en a* y tonalidades azules en b*. Estos efectos son consecuencia de las propiedades intrínsecas de cada arcilla para oscurecer la matriz polimérica y dispersar la luz incidente, respectivamente. Además, los análisis microscópicos revelan diferencias significativas en la estructura de las películas al añadir arcillas. La bentonita tiende a formar agregados más grandes y dispersos debido a su estructura laminar y a su alta capacidad de intercambio catiónico, mientras que el caolín presenta una estructura más compacta con partículas más pequeñas. Estas características estructurales afectan no solo las propiedades visuales, sino también las propiedades físicas.

- El aumento en la concentración de arcillas bentonita y caolín en películas de almidón de zanahoria blanca conduce a una mayor opacidad y menor transparencia, comparado con películas sin aditivo, debido al incremento en el tamaño y aglomeración de partículas dentro de la matriz polimérica. La bentonita, con su capacidad de retención de agua e hinchamiento, resulta en películas menos resistentes al agua, pero más solubles, mientras que el caolín, con una estructura cristalina más estable, muestra menor

solubilidad y resistencia superior al agua. Estas diferencias subrayan cómo las propiedades únicas de cada arcilla influyen significativamente en las características finales de las películas de almidón.

- El análisis mediante AFM en modo *tapping* de películas de almidón con arcillas bentonita y caolín revela diferencias significativas en su topografía a nivel nanoscópico. Mientras que la bentonita induce una estructura topográfica más heterogénea y fibrosa debido a la distribución irregular y tamaño de sus partículas, el caolín proporciona una superficie más uniforme y lisa, gracias a la dispersión homogénea de partículas más pequeñas en la matriz polimérica. Este enfoque de medición no sólo preserva la integridad de las estructuras complejas de las películas, reduciendo la fricción y las fuerzas laterales, sino que también ofrece una comprensión detallada de las características nanoscópicas de las arcillas, lo que permite dar una posible explicación a las propiedades macroscópicas y fisicoquímicas de los materiales.

4.2. Recomendaciones

- Explorar la adición de aditivos de arcilla en concentraciones más altas que las habitualmente empleadas, con el fin de optimizar sus propiedades.

- Reducir el tamaño de las partículas de arcilla, mediante el empleo de molinos de bolas, molinos de martillos o equipos de trituración adecuados que puedan reducir el tamaño de las partículas a dimensiones más pequeñas.

- Probar otros modos de medición en el AFM como el PinPoint. Este modo realiza mediciones puntuales muy precisas en lugares específicos de la muestra. Lo que permite obtener información cuantitativa a través del mapeo de espectroscopía de fuerza.

BIBLIOGRAFÍA

Abdollahi, M., Alboofetileh, M., Rezaei, M., & Behrooz, R. (2013). Comparing physico-mechanical and thermal properties of alginate nanocomposite films reinforced with organic and/or inorganic nanofillers. *Food Hydrocolloids*, *32*(2), 416–424. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.02.006

Abulyazied, D. E., & Ene, A. (2021). An investigative study on the progress of nanoclay-reinforced polymers: Preparation, properties, and applications: A review. *Polymers*, *13*(24). https://doi.org/10.3390/polym13244401

Aguirre, L., Fonseca, A., Calambas, L., Salazar, A., & Caicedo, C. (2023). Improvements of thermal and mechanical properties of achira starch/chitosan/clay nanocomposite films. *Heliyon*, 9(6). https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16782

Alkhuder, K. (2023). Fourier-transform infrared spectroscopy: A universal optical sensing technique with auspicious application prospects in the diagnosis and management of autoimmune diseases. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, *42*, 103606. https://doi.org/10.1016/J.PDPDT.2023.103606

Arancibia, M. Y., Alemán, A., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C., & Montero, P. (2015). Development of active films of chitosan isolated by mild extraction with added protein concentrate from shrimp waste. *Food Hydrocolloids*, *43*, 91–99. https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2014.05.006

Ashaduzzaman, M., Saha, D., & Rashid, M. M. (2020). Mechanical and thermal properties of self-assembled kaolin-doped starch-based environment-friendly nanocomposite films. *Journal of Composites Science*, *4*(2). https://doi.org/10.3390/jcs4020038

Ashaduzzaman, Md., Saha, D., & Mamunur Rashid, M. (2020). Mechanical and Thermal Properties of Self-Assembled Kaolin-Doped Starch-Based Environment-Friendly Nanocomposite Films. *Journal of Composites Science*, *4*(2), 38. https://doi.org/10.3390/jcs4020038

Barrera V, T. C. y M. A. (2004). *Raíces y Tubérculos Andinos: Alternativas para la conservación y uso sostenible en el Ecuador*.

Bažant, Z. P., & Jirásek, M. (2002). Nonlocal integral formulations of plasticity and damage: Survey of progress. *Journal of Engineering Mechanics*, *128*(11), 1119–1149. https://doi.org/10.1061/(ASCE)0733-9399(2002)128:11(1119)

Bergmann, M., Allen, S., Krumpen, T., & Allen, D. (2023). High Levels of Microplastics in the Arctic Sea Ice Alga Melosira arctica, a Vector to Ice-Associated and Benthic Food Webs. *Environmental Science and Technology*, *57*(17), 6799–6807. https://doi.org/10.1021/acs.est.2c08010

Borrelle, S. B., Ringma, J., Lavender Law, K., Monnahan, C. C., Lebreton, L., McGivern, A., Murphy, E., Jambeck, J., Leonard, G. H., Hilleary, M. A., Barnes, M., & Rochman, C. M. (2020). Predicted growth in plastic waste exceeds efforts to mitigate plastic pollution. *Science*, *369*(6509), 1515–1518. https://doi.org/10.1126/SCIENCE.ABA3656

Brill, M. H. (2021). Is CIELAB one space or many? *Coloration Technology*, *137*(1), 83–85. https://doi.org/10.1111/cote.12486

Burgess, C. (2017). The Basis for Good Spectrophotometric UV–Visible Measurements. *UV-Visible Spectrophotometry of Water and Wastewater*, 1–35. https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63897-7.00001-9

Caballero, A. D., Dunoyer, A. T., Bustillo, J. M., Vergara, A. C., Guarín, R. G., & Parra Castellanos, J. (2018). Evaluación de la dureza de diversos alimentos Evaluation of the hardness of various foods. In *Revista Cubana de Estomatología* (Vol. 55, Issue 1). http://scielo.sld.cu

Calambas, H. L., Fonseca, A., Adames, D., Aguirre-Loredo, Y., & Caicedo, C. (2021). Physical-mechanical behavior and water-barrier properties of biopolymers-clay nanocomposites. *Molecules*, *26*(21). https://doi.org/10.3390/molecules26216734

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., Del Val Toledo Lobo, M., & 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). https://doi.org/10.1038/s41598-017-07265-x

Castanha, N., Villar, J., Matta Junior, M. D. da, Anjos, C. B. P. dos, & Augusto, P. E. D. (2018). Structure and properties of starches from Arracacha (Arracacia xanthorrhiza) roots. *International Journal of Biological Macromolecules*, *117*, 1029–1038. https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2018.06.015

Citterich, F., Lo Giudice, A., & Azzaro, M. (2023). A plastic world: A review of microplastic pollution in the freshwaters of the Earth's poles. *Science of The Total Environment*, *869*, 161847. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2023.161847

Cyras, V. P., Manfredi, L. B., Ton-That, M. T., & Vázquez, A. (2008). Physical and mechanical properties of thermoplastic starch/montmorillonite nanocomposite films. *Carbohydrate Polymers*, *73*(1), 55–63. https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2007.11.014

Derakhshani, E., & Naghizadeh, A. (2018). Optimization of humic acid removal by adsorption onto bentonite and montmorillonite nanoparticles. *Journal of Molecular Liquids*, *259*, 76–81. https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2018.03.014

Dutta, A. (2017). Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Spectroscopic Methods for Nanomaterials Characterization*, *2*, 73–93. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46140-5.00004-2

Frangopoulos, T., Marinopoulou, A., Goulas, A., Likotrafiti, E., Rhoades, J., Petridis, D., Kannidou, E., Stamelos, A., Theodoridou, M., Arampatzidou, A., Tosounidou, A., Tsekmes, L., Tsichlakis, K., Gkikas, G., Tourasanidis, E., & Karageorgiou, V. (2023). Optimizing the Functional Properties of Starch-Based Biodegradable Films. *Foods*, *12*(14). https://doi.org/10.3390/foods12142812

Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, *3*(7). https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782

Gleadall, A. (2015). Mechanical properties of biodegradable polymers for medical applications. In *Modelling Degradation of Bioresorbable Polymeric Medical Devices*. https://doi.org/10.1533/9781782420255.2.163

Guzev, M. A., Riabokon, E. P., Turbakov, M. S., Poplygin, V. V., Kozhevnikov, E. V., & Gladkikh, E. A. (2023). Classical and Non-Classical Models of Changes in the Young

Modulus of Geomaterials Under Alternating Loads. In *Advanced Structured Materials* (Vol. 170). https://doi.org/10.1007/978-3-031-26186-2_21

Hartmann, N. B., Hüffer, T., Thompson, R. C., Hassellöv, M., Verschoor, A., Daugaard, A. E., Rist, S., Karlsson, T., Brennholt, N., Cole, M., Lusher, A. L., & Wagner, M. (2019). Are We Speaking the Same Language? Recommendations for a Definition and Categorization Framework for Plastic Debris. *Environmental Science and Technology*, *53*(3), 1039–1047. https://doi.org/10.1021/acs.est.8b05297

Heydari, A., KhajeHassani, M., Daneshafruz, H., Hamedi, S., Dorchei, F., Kotlár, M., Kazeminava, F., Sadjadi, S., Doostan, F., Chodak, I., & Sheibani, H. (2023). Thermoplastic starch/bentonite clay nanocomposite reinforced with vitamin B2: Physicochemical characteristics and release behavior. *International Journal of Biological Macromolecules*, *242*, 124742. https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2023.124742

Islam, H. B. M. Z., Susan, M. A. B. H., & Imran, A. B. (2020). Effects of Plasticizers and Clays on the Physical, Chemical, Mechanical, Thermal, and Morphological Properties of Potato Starch-Based Nanocomposite Films. *ACS Omega*, *5*(28), 17543–17552. https://doi.org/10.1021/acsomega.0c02012

Ismail, A. A., van de Voort, F. R., & Sedman, J. (1997). Chapter 4 Fourier transform infrared spectroscopy: Principles and applications. *Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry*, *18*(C), 93–139. https://doi.org/10.1016/S0167-9244(97)80013-3

Jamróz, E., Kulawik, P., & Kopel, P. (2019). The effect of nanofillers on the functional properties of biopolymer-based films: A review. *Polymers*, *11*(4). https://doi.org/10.3390/polym11040675

Johansson, C., & Clegg, F. (2015). Hydrophobically modified poly(vinyl alcohol) and bentonite nanocomposites thereof: Barrier, mechanical, and aesthetic properties. *Journal of Applied Polymer Science*, *132*(13). https://doi.org/10.1002/app.41737

Kaandorp, M. L. A., Lobelle, D., Kehl, C., Dijkstra, H. A., & van Sebille, E. (2023). Global mass of buoyant marine plastics dominated by large long-lived debris. *Nature Geoscience*, *16*(8), 689–694. https://doi.org/10.1038/s41561-023-01216-0

Kgabi, D. P., & Ambushe, A. A. (2023). Characterization of South African Bentonite and Kaolin Clays. *Sustainability (Switzerland)*, *15*(17). https://doi.org/10.3390/su151712679

Khalid, K., Ishak, R., & Chowdhury, Z. Z. (2024). UV–Vis spectroscopy in non-destructive testing. *Non-Destructive Material Characterization Methods*, 391–416. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91150-4.00021-5

Kwaśniewska, A., Chocyk, D., Gładyszewski, G., Borc, J., Świetlicki, M., & Gładyszewska, B. (2020). The influence of kaolin clay on the mechanical properties and structure of thermoplastic starch films. *Polymers*, *12*(1). https://doi.org/10.3390/polym12010073

Lescano, M., Vásquez, N., Tarrillo, S., Yoplac, I., & Velásquez-Barreto, F. F. (2021). Development and Optimization of Biofilms Made from Potato or Arracacha Starch. *Starch/Staerke*, *73*(9–10). https://doi.org/10.1002/star.202100075

Liu, H., Chaudhary, D., Yusa, S. I., & Tadé, M. O. (2011a). Glycerol/starch/Na+-montmorillonite nanocomposites: A XRD, FTIR, DSC and 1H NMR study. *Carbohydrate Polymers*, *83*(4), 1591–1597. https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2010.10.018

Liu, H., Chaudhary, D., Yusa, S. I., & Tadé, M. O. (2011b). Glycerol/starch/Na+-montmorillonite nanocomposites: A XRD, FTIR, DSC and 1H NMR study. *Carbohydrate Polymers*, *83*(4), 1591–1597. https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2010.10.018

Mazón N, Castillo R, Hermann M, & Espinoza P. (1996). La arracacha o zanahoria blanca en Ecuador. *INIAP - Estación Experimental Santa Catalina , N° 17*. https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/2696/1/iniapscpm67.pdf

Mbey, J. A., Hoppe, S., & Thomas, F. (2012). Cassava starch-kaolinite composite film. Effect of clay content and clay modification on film properties. *Carbohydrate Polymers*, *88*(1), 213–222. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.11.091

Meite, N., Konan, L. K., Bamba, D., Goure-Doubi, B. I. H., & Oyetola, S. (2018). Structural and Thermomechanical Study of Plastic Films Made from Cassava-Starch Reinforced with Kaolin and Metakaolin. *Materials Sciences and Applications*, *09*(01), 41–54. https://doi.org/10.4236/msa.2018.91003

Méité, N., Konan, L. K., Tognonvi, M. T., Doubi, B. I. H. G., Gomina, M., & Oyetola, S. (2021). Properties of hydric and biodegradability of cassava starch-based bioplastics reinforced with thermally modified kaolin. *Carbohydrate Polymers*, *254*, 117322. https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2020.117322

Monteiro, M. K. S., de Oliveira, V. R. L., dos Santos, F. K. G., de Barros Neto, E. L., de Lima Leite, R. H., Aroucha, E. M. M., & de Oliveira Silva, K. N. (2018). Synergistic effect of the sequential intercalation of three types of surfactants in the exfoliation degree of bentonite clay in films of cassava. *Journal of Molecular Liquids*, *266*, 770–780. https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2018.07.012

Monteiro, M. K. S., Oliveira, V. R. L., Santos, F. K. G., Barros Neto, E. L., Leite, R. H. L., Aroucha, E. M. M., Silva, R. R., & Silva, K. N. O. (2018). Incorporation of bentonite clay in cassava starch films for the reduction of water vapor permeability. *Food Research International*, *105*, 637–644. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.030

Mouzahim, M. El, Eddarai, E. M., Eladaoui, S., Guenbour, A., Bellaouchou, A., Zarrouk, A., & Boussen, R. (2023). Effect of Kaolin clay and Ficus carica mediated silver nanoparticles on chitosan food packaging film for fresh apple slice preservation. *Food Chemistry*, *410*, 135470. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2023.135470

Naidu, D. S., & John, M. J. (2020). Effect of Clay Nanofillers on the Mechanical and Water Vapor Permeability Properties of Xylan–Alginate Films. *Polymers*, *12*(10), 2279. https://doi.org/10.3390/polym12102279

Naidu, D. S., & John, M. J. (2020b). Effect of Clay Nanofillers on the Mechanical and Water Vapor Permeability Properties of Xylan–Alginate Films. *Polymers*, *12*(10), 2279. https://doi.org/10.3390/polym12102279

Pacheco, M. T., Hernández-Hernández, O., Moreno, F. J., & Villamiel, M. (2020). Andean tubers grown in Ecuador: New sources of functional ingredients. *Food Bioscience*, *35*. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100601

Phani, A., Jung, H. S., & Kim, S. (2021). Deconvolution of dissipative pathways for the interpretation of tapping-mode atomic force microscopy from phase-contrast. *Communications Physics*, *4*(1). https://doi.org/10.1038/s42005-021-00576-6

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), 4116. https://doi.org/10.3390/polym14194116

Pironti, C., Ricciardi, M., Motta, O., Miele, Y., Proto, A., & Montano, L. (2021). Microplastics in the environment: Intake through the food web, human exposure and toxicological effects. *Toxics*, *9*(9). https://doi.org/10.3390/toxics9090224

Punia Bangar, S., Ilyas, R. A., Chowdhury, A., Navaf, M., Sunooj, K. V., & Siroha, A. K. (2023). Bentonite clay as a nanofiller for food packaging applications. *Trends in Food Science & Technology*, *142*, 104242. https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2023.104242

Radoor, S., Karayil, J., Jayakumar, A., Parameswaranpillai, J., & Siengchin, S. (2024). Mechanical and morphological properties of nanocomposite films for food packaging applications. *Biocomposites for Industrial Applications: Construction, Biomedical, Transportation and Food Packaging*, 387–404. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91866-4.00012-3

Sánchez Riaño, A. M., Alegría Vivas, E. M., Bermeo Andrade, H. P., Bohórquez Pérez, Y., Villada Castillo, H. S., Daza, L. D., & Valenzuela Real, C. P. (2022). Physicochemical, structural, and thermal characterization of biodegradable film prepared using arracacha thermoplastic starch and polylactic acid. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *16*(5), 3597–3606. https://doi.org/10.1007/s11694-022-01491-2

Sanchez-Portillo, S., del Rosario Salazar-Sánchez, M., Solanilla-Duque, J. F., & Rodríguez-Herrera, R. (2023). Andean Tubers, Morphological Diversity, and Agronomic Management: A Review. *Plant Science Today*, *10*, 98–105. https://doi.org/10.14719/pst.2504

Slavutsky, A. M., Bertuzzi, M. A., & Armada, M. (2012). Water barrier properties of starch-clay nanocomposite films. *Brazilian Journal of Food Technology*, *15*(3), 208–218. https://doi.org/10.1590/s1981-67232012005000014

Suh, J. H., Ock, S. Y., Park, G. D., Lee, M. H., & Park, H. J. (2020). Effect of moisture content on the heat-sealing property of starch films from different botanical sources. *Polymer Testing*, *89*, 106612. https://doi.org/10.1016/J.POLYMERTESTING.2020.106612

Surendren, A., Mohanty, A. K., Liu, Q., & Misra, M. (2022). A review of biodegradable thermoplastic starches, their blends and composites: recent developments and opportunities for single-use plastic packaging alternatives. *Green Chemistry*, *24*(22), 8606–8636. https://doi.org/10.1039/D2GC02169B

Tabassum, N., Rafique, U., Qayyum, M., Mohammed, A. A. A., Asif, S., & Bokhari, A. (2024). Kaolin–Polyvinyl Alcohol–Potato Starch Composite Films for Environmentally Friendly Packaging: Optimization and Characterization. *Journal of Composites Science*, *8*(1). https://doi.org/10.3390/jcs8010029

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), 1–17. https://doi.org/10.1038/s41598-021-93094-y

Thakur, R., Pristijono, P., Scarlett, C. J., Bowyer, M., Singh, S. P., & Vuong, Q. V. (2019a). Starch-based films: Major factors affecting their properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, *132*, 1079–1089. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.190

Thakur, R., Pristijono, P., Scarlett, C. J., Bowyer, M., Singh, S. P., & Vuong, Q. V. (2019b). Starch-based films: Major factors affecting their properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, *132*, 1079–1089. https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2019.03.190

Thakur, R., Pristijono, P., Scarlett, C. J., Bowyer, M., Singh, S. P., & Vuong, Q. V. (2019c). Starch-based films: Major factors affecting their properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, *132*, 1079–1089. https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2019.03.190

Torres, F. G., Troncoso, O. P., Grande, C. G., & Díaz, D. A. (2011). Biocompatibilty of starch-based films from starch of Andean crops for biomedical applications. *Materials Science and Engineering: C*, *31*(8), 1737–1740. https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2011.08.004

Vasse, G. F., & Melgert, B. N. (2024). Microplastic and plastic pollution: impact on respiratory disease and health. *European Respiratory Review*, *33*(172). https://doi.org/10.1183/16000617.0226-2023

Villamil Carvajal, J. E., Garnica Montaña, J. P., Pinzón Sandoval, E. H., Almanza Merchán, P. J., & Atencio Solano, L. M. (2023). Macronutrient omission influences morphological parameters, growth, and yield in Arracacia xanthorrhiza Bancroft. *Heliyon*, *9*(2). https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13062

Walker, T. R. (2021). (Micro)plastics and the UN Sustainable Development Goals. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, *30*. https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2021.100497

Walker, T. R., & Fequet, L. (2023). Current trends of unsustainable plastic production and micro(nano)plastic pollution. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *160*, 116984. https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2023.116984

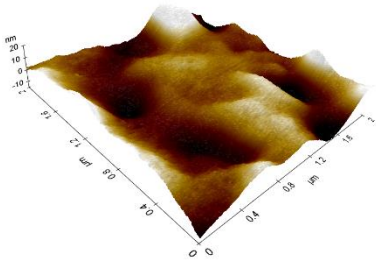
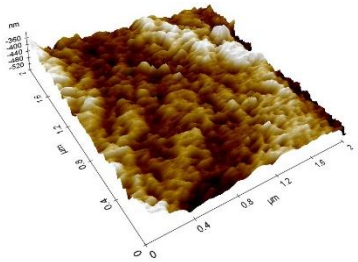
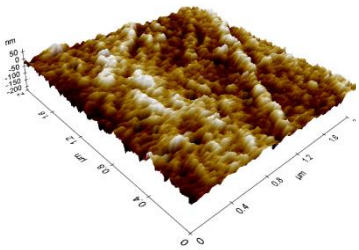
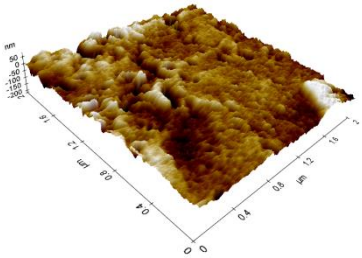
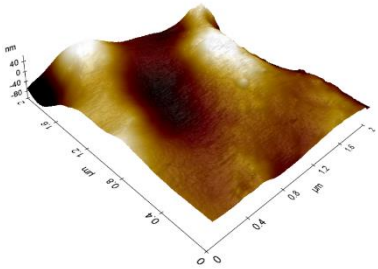
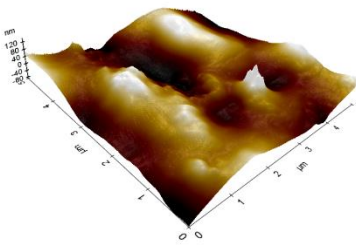
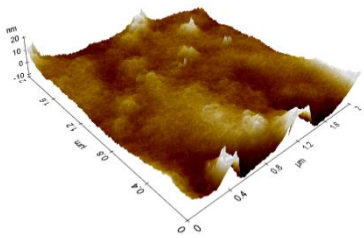
Wilhelm, H. M., Sierakowski, M. R., Souza, G. P., & Wypych, F. (2003). Starch films reinforced with mineral clay. *Carbohydrate Polymers*, *52*(2), 101–110. https://doi.org/10.1016/S0144-8617(02)00239-4

Yose, P., Thondhlana, G., & Fraser, G. (2023). Conceptualizing the socio-cultural impacts of marine plastic pollution on human well-being – A perspective. *Marine Pollution Bulletin*, *194*, 115285. https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2023.115285

ANEXOS

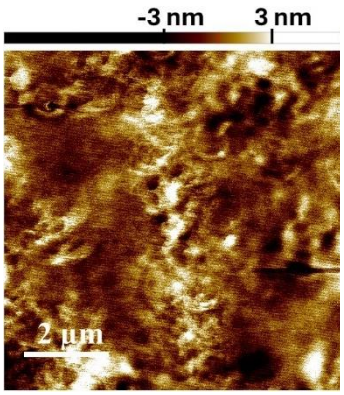
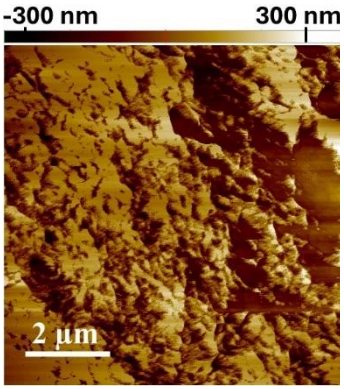
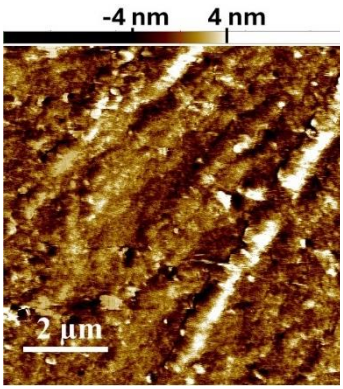
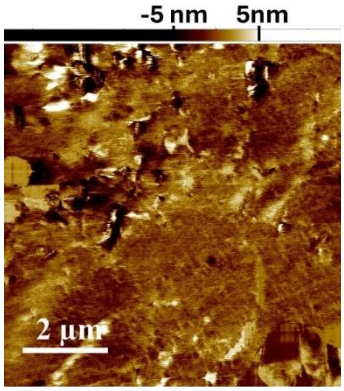
Anexo 1.

Topografía de la superficie de películas de almidón con aditivos de bentonita y caolín.

	0% m/v		
Sin arcilla			
	0,05% m/v	**0,5% m/v**	**1% m/v**
Bentonita			
Caolín			

Anexo 2

Imágenes de fase de películas de almidón y aditivos de bentonita y caolín.

	0% m/v		
Sin arcilla			
	0,05% m/v	**0,5% m/v**	**1% m/v**
Bentonita			
	0,05% m/v	**0,5% m/v**	**1% m/v**
Caolín	