



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN
CAMPUS TUXTEPEC

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**Efecto del Dióxido de Titanio Sobre las Propiedades
Antimicrobianas de Películas Elaboradas a Partir de Almidón de
Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)**

T E S I S

**Para obtener el grado de
Maestra en biotecnología**

**Presenta:
Esbeydi Huerta Andrade**

**Director de Tesis
Dr. Alejandro Aparicio Saguilán**

**Co-director de Tesis
Dr. Mario Valera Zaragoza**

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca. México, 2018.



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO	DEP/2018/026
ASUNTO	Autorización de impresión de tesis

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca, México a 28 de mayo de 2018

L. P. YESENIA BARRIENTOS ARENAL
JEFA DE SERVICIOS ESCOLARES
UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

Sirva la presente para informarle que el jurado del examen para obtener el grado de Maestra en Biotecnología de la **C. Esbeydi Huerta Andrade**, matrícula **14140010**, ha autorizado la impresión del manuscrito que lleva por título "**Efecto del Dióxido de Titanio sobre las Propiedades Antimicrobianas de Películas Elaboradas a Partir de Almidón de Frijol (*Phaseolus Vulgaris L*)**" para su posterior presentación y defensa por parte del sustentante.

Sin otro asunto en particular, me despido quedando atento ante cualquier duda y deseándole suerte en todas sus actividades.

Atentamente

terra uberrima, mens aperta
Bou Lo-tama, chi ji ju

Dra. Sandra T. del Moral Ventura
Jefe de la División de Estudios de Posgrado



C.c.p. C. Esbeydi Huerta Andrade
C.c.p. Archivo



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA

OFICIO	DEP/2018/MB/061
ASUNTO	Revisión de tesis

San Juan Bautista Tuxtepec, Oax., a 16 de marzo de 2018

C. ESBEYDI HUERTA ANDRADE
ESTUDIANTE DE LA MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA
UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

Por este medio le informo que el jurado de su examen para obtener el grado de Maestría en Biotecnología estará integrado por los siguientes investigadores.

Dr. Alejandro Aparicio Saguilán	UNPA	Presidente
Dr. Andrés Aguirre Cruz	UNPA	Vocal
Dra. Rubí G. Utrilla Coello	UNPA	Secretario
Dra. Delia Esther Páramo Calderón	UNPA	1er Suplente
Dr. Erick Adrian Juárez Arellano	UNPA	2º Suplente


Sin más por el momento, le envío saludos cordiales.



Dra. Sandra T. del Moral Ventura
Jefe de la División de Estudios
DIVISIÓN DE
ESTUDIOS DE
POSGRADO

Atentamente

terra uberrima, mens aperta
Bou Lo-tama, chí jí jú



M. en C. Héctor López Arjona
Vice-rector Académico
Vo. Bo.



**VICE-RECTORIA
ACADEMICA**

C.c.p. Dr. Alejandro Aparicio Saguilán – Director de tesis.
C.c.p. L. P. Yesenia Barrientos Arenal – Jefa de Servicios Escolares.
C.c.p. Archivo

CAMPUS TUXTEPEC
C. Circuito central No. 200, Col. Parque Industrial.
C.P. 38301, Tuxtepec, Oax.
Tel. 01(287)8759240

www.unpa.edu.mx

CAMPUS LOMA BONITA
Av. Ferrocarril S/N, Ciudad universitaria.
C.P. 68400, Loma Bonita, Oax.
Tel. 01(281)8729230

Este trabajo se realizó en las instalaciones de la universidad del Papaloapan campus Tuxtepec, Oaxaca bajo la dirección del Dr. Alejandro Aparicio Saguilán y el Dr. Mario Valera Zaragoza.

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), al Programa Complementario de Mujeres Indígenas y Estancias de Movilidad Nacional por el apoyo financiero.

DEDICATORIA

A **Dios** por darme la vida y permitirme cumplir una meta más.

A mi padre **Gerónimo Huerta Molina** por su apoyo incondicional, por creer en mí y por su confianza, gracias a ti alcanzo una nueva meta Te quiero.

A mi madre **Diega Andrade Donate** por creer en mí por su apoyo, por alentarme a estudiar y hacerme creer que puedo lograr lo que me proponga.

A mi esposo **Juan Alberto Francisco Rodríguez** por su apoyo incondicional y su colaboración en este trabajo durante la espera de nuestro bebe.

A mi bebe **Axel Gabriel Francisco Huerta** por llegar a mi vida y por ser mi pequeño motorcito que me impulsa a seguir a delante Te amo hijo.

A mis hermanos **Luz Aracely, Daniel y Ángel Leonel** por su confianza y apoyo brindado.

A mi abuelita **Elena Donate Jiménez** por su apoyo brindado, por sus cuidados y su aceptación de 4 personas más en su vida como pagarte todo gracias.

AGRADECIMIENTOS

Al **Dr. Alejandro Aparicio Saguilán** por asesorarme en el transcurso de la realización de este trabajo, por su tiempo, dedicación y paciencia, por sus comentarios y observaciones que llevaron a la mejora y terminación de este trabajo.

Al **Dr. Mario Valera Zaragoza** por asesorarme en todo momento, por su tiempo y paciencia, por sus comentarios y observaciones, y su dedicación que hicieron posible la terminación de esta tesis.

A mi comité revisor por sus observaciones para la mejora de este trabajo: **Dr. Andrés Aguirre Cruz, Dr. Erick Adrián Juárez Arellano, Dr. Aurelio Ramírez Hernández, Dra. Delia Esther Páramo Calderón** y la **Dra. Rubí Guadalupe Utrilla Coello**.

A la **Dra. Leticia Guadalupe Navarro Moreno** por la asesoría en la parte de microbiología de este trabajo.

Al **Dr. Enrique Villalobos Amador** y a la **Dra. Ariana Arlene Huerta Heredia** por su apoyo brindado.

RESUMEN

Últimamente, se ha estado estudiando el comportamiento de almidón para la elaboración de materiales para empaques de alimentos, con la idea de que estos puedan remplazar a los plásticos derivados del petróleo, ya que el almidón tiene la característica de ser biodegradable. Sin embargo, los materiales de solo almidón tienen propiedades mecánicas débiles y son altamente higroscópicos. Para mejorar las propiedades mecánicas y/o funcionales ha sido necesario agregar reforzantes al almidón. Por lo tanto, el objetivo en este trabajo de investigación fue elaborar películas a partir de una mezcla de almidón de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) con dióxido de titanio (TiO_2). El TiO_2 generara propiedades antimicrobianas a los materiales de almidón. La elaboración de estas películas se llevó a cabo por el método de vaciado en placa o también nombrado método de casting usando glicerol al 50 % p/p como plastificante y dióxido de titanio (TiO_2) a diferentes concentraciones (1, 3, 5 y 7 % p/p).

A las películas elaboradas se les realizo la caracterización microestructural y morfológica a través de difracción de rayos X, espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) y microscopia electrónica de barrido (MEB). Análisis termogravimétrico (TGA), las propiedades mecánicas de tensión a la fractura (TF), módulo de elasticidad (ME), el % de elongación (% E), determinación de humedad y solubilidad, permeabilidad al vapor de agua (PVA) y el comportamiento antimicrobiano.

En los resultados de difracción de rayos X se observó un patrón tipo C, con aumentos en la cristalinidad de la película en función del contenido de TiO_2 , así mismo se observó un cambio de patrón de C a A en la película con 3 % de TiO_2 . Las propiedades mecánicas se vieron mejoradas al agregar el dióxido de titanio aumentando la tensión a la fractura (TF) y módulo de elasticidad (ME), obteniéndose una disminución en % de elongación (% E). En los resultados de humedad, solubilidad y permeabilidad al vapor de agua se obtuvieron diferentes comportamientos en cada uno de los diferentes sistemas. Las películas mostraron mejor actividad antimicrobiana a mayores concentraciones de dióxido de titanio.

CONTENIDO

RESUMEN	5
CONTENIDO	7
ÍNDICE DE FIGURAS	10
ÍNDICE DE TABLAS Y ECUACIONES	11
i. INTRODUCCIÓN	12
ii. ANTECEDENTES	14
2.1. Almidón.....	14
2.1.1. Propiedades estructurales del almidón.....	15
2.1.1.1. Amilosa.....	15
2.1.1.2. Amilopectina	16
2.1.2. Cristalinidad del almidón	17
2.1.3. Propiedades del almidón	19
2.1.3.1. Gelatinización del almidón.....	19
2.1.3.2. Retrogradación del almidón.....	20
2.1.3.3. Propiedades de barrera del almidón.....	21
2.2. Película de almidón	21
2.2.1. Método de elaboración	23
2.2.1.1. Vaciado en placa (casting)	23
2.2.1.2. Extrusión.....	24
2.2.2. Aplicaciones del almidón	25
2.2.3. Importancia de las películas	26
2.3. Frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	26
2.3.1. Almidón de Frijol.....	27

Maestría en Biotecnología	Contenido
2.3.1.1. Películas de almidón de frijol	29
2.4. Dióxido de titanio (TiO ₂).....	30
2.4.1. Aplicaciones del TiO ₂	32
2.4.2. Dióxido de titanio como relleno en películas de almidón	34
2.4.3. El dióxido de titanio como agente antimicrobiano.....	35
iii. JUSTIFICACIÓN	37
iv. OBJETIVOS	38
4.1. Objetivo General	38
4.2. Objetivos Específicos	38
v. HIPÓTESIS	39
vi. MATERIALES Y MÉTODOS	40
6.1. Materiales	40
6.2. Métodos.....	40
6.2.1. Obtención de almidón de frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	41
6.2.2. Análisis químico proximal del almidón.....	42
6.2.3. Elaboración de las películas Almidón/TiO ₂	43
6.2.4. Determinación de humedad de las películas.....	44
6.2.6. Difracción de rayos X (DRX)	45
6.2.7. Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier	46
6.2.8. Analisis termogravimetrico (TGA).....	46
6.2.9. Determinación de las propiedades mecánicas	46
6.2.10. Permeabilidad al vapor de agua (PVA)	47
6.2.11. Determinación del comportamiento antimicrobiano de las películas	48
vii. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51

7.1. Composición químico proximal del almidón de frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	51
7.2. Contenido de humedad y solubilidad en las películas	52
7.3. Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier	55
7.4. Difracción de rayos X (DRX).....	56
7.5. Microscopia electrónica de barrido (MEB)	58
7.6. Análisis termogravimétrico (TGA).....	62
7.8. Permeabilidad al vapor de agua (PVA).....	68
7.9. Determinación del comportamiento antimicrobiano de las películas	70
viii. CONCLUSIONES	73
ix. RECOMENDACIONES	75
x. REFERENCIAS	76

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Segmento de una molécula de amilosa	16
Figura 2. Segmento de la molécula de amilopectina	17
Figura 3. Patrones de difracción para las diferentes fuentes de almidones. (A) cereales, (B) tubérculos, (C) una mezcla intermedia del patrón tipo A y B, (V) característico cuando se forma un complejo de inclusión o clatrato en el interior de la hélice de la amilosa.....	19
Figura 4. Composición interna de la semilla	27
Figura 5. Micrografía del gránulo de almidón de frijol	28
Figura 6. Estructuras cristalinas del TiO ₂ : (a) rutilo y (b) anatasa	31
Figura 7. Diagrama de flujo del proceso experimental	40
Figura 8. Diagrama de flujo del proceso de extracción de almidón de frijol.....	41
Figura 9. Contenido de humedad y solubilidad en las películas de almidón/TiO ₂	53
Figura 10. IR de las películas de frijol adicionadas con TiO ₂ a concentraciones del 1 %(rojo), 3 %(verde), 5 %(azul) y 7 %(rosa)	56
Figura 11. Difracción de rayos X de las películas a diferentes concentraciones de TiO ₂	57
Figura 12. MEB de las películas de almidón/TiO ₂ : a) PAFTiO ₂ 1 % b) PAFTiO ₂ 3 % c) PAFTiO ₂ 5 % d) PAFTiO ₂ 7 %.....	60
Figura 13. MEB PAFTiO ₂ 5 % (a, b), PAFTiO ₂ 7 % (c).....	61
Figura 14. Termograma de las películas con diferente concentración de TiO ₂	65
Figura 15. DTG de las películas con diferentes porcentajes de TiO ₂	65
Figura 16. Resultados de pruebas mecánicas de las películas de almidón/TiO ₂ .	66
Figura 17. PVA de las películas de Almidón/TiO ₂ a diferentes concentraciones de TiO ₂	69
Figura 18. Curva de crecimiento bacteriano de <i>Staphylococcus aureus</i>	70

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Simbología utilizada para la diferenciación de las películas	44
Tabla 2. Composición química proximal del almidón de frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	51
Tabla 3. Resultados de las películas expuestas a luz UV durante 60 min	71

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1	44
Ecuación 2	45
Ecuación 3	48
Ecuación 4	48
Ecuación 5	49
Ecuación 6	50
Ecuación 7	50

i. INTRODUCCIÓN

En nuestros días, los polímeros sintéticos derivados del petróleo son altamente utilizados por la industria del empaque, por lo que ha causado una preocupación, ya que el tiempo de uso de los empaques es corto y los productos una vez desechados generan una gran cantidad de basura acumulada. Estos materiales son estables en la naturaleza por periodos largos y difícilmente se degradan, generando así grandes cantidades de plástico que provocan problemas de contaminación en el medio ambiente. Una alternativa a esta problemática, es utilizar productos biodegradables que provengan de fuentes renovables. El almidón es una opción para la elaboración de películas biodegradables, por lo que sería una alternativa de uso en empaques. Sin embargo, las películas a base de almidón presentan desventajas tales como; un alto carácter hidrófilo que eleva la permeabilidad al vapor de agua y propiedades mecánicas pobres en comparación con los plásticos comunes. Por lo tanto, se han realizado estudios para mejorar estas desventajas. Entre ellos, la modificación química del almidón para hacerlo más resistente y el reforzamiento de almidón con componentes más resistentes como arcilla y dióxido de titanio. La combinación de almidón con dióxido de titanio (TiO_2) podría dar buenos resultados, ya se ha reportado que el TiO_2 tiene alta resistencia mecánica y además por sus características fotocatalíticas puede aprovecharse como barrera de empaques de almidón al ataque microbiano.

En trabajos previos, dentro de la Universidad del Papaloapan, se ha estudiado la formación de películas de almidón con TiO_2 , obtenido del plátano macho en estado

inmaduro. Los resultados han mostrado la formación de películas con buenas propiedades mecánicas. Alternativamente, también se ha probado con almidón de frijol. Los primeros experimentos mostraron resultados interesantes en términos de propiedades físicas y de compatibilidad.

Con el fin de profundizar en el comportamiento de películas de almidón de frijol/TiO₂ y con la intención de conocer sus capacidades antimicrobianas, en el presente trabajo de investigación se estudiará el efecto del TiO₂ en la elaboración de películas de almidón de frijol y su comportamiento antimicrobiano.

ii. ANTECEDENTES

2.1. Almidón

El almidón constituye la principal fuente de reserva de carbohidratos en los vegetales. Este polisacárido se encuentra en diversas partes de las plantas y puede ser aislado de semillas, frutas, hojas, tubérculos y raíces [1]. La ubicación principal de la síntesis y almacenamiento de almidón de los cereales es el endospermo. Las principales fuentes de almidón son los cereales (40 a 90 %), raíces (de 30 a 70 %), tubérculos (65 a 85 %), las legumbres (25 a 50 %) y algunas frutas inmaduras como plátanos o mangos, que contienen aproximadamente 70 % de almidón en peso seco [2].

Químicamente el almidón está constituido por unidades de glucosa. Esta organizado en partículas discretas conocidas como gránulos, los gránulos tienen diferente tamaño y morfología varían dependiendo la fuente vegetal. Las formas de los gránulos pueden ser redondas, elípticas, ovales, lenticulares, poliédricas o poligonales e incluso de forma irregular [3-4]. Los gránulos de almidón presentan una composición química con proteínas (0.045 a 0.06 %), lípidos (0.05 a 0.8 %) y cenizas (0.07 a 1.4 %) [5].

2.1.1. Propiedades estructurales del almidón

El almidón es un hidrato de carbono polimérico compuesto por unidades de anhidroglucosa, que se deposita en los tejidos vegetales como gránulos insolubles semicristalinos que varían de forma, tamaño y estructura, dependiendo de su origen. Por lo general se compone principalmente por una mezcla de dos biopolímeros (glucanos): amilosa de cadena lineal y amilopectina de cadena ramificada. La estructura del almidón del gránulo depende de la forma en que la amilosa y la amilopectina se asocian y distribuido [6]. La relación entre amilosa amilopectina varía dependiendo de la fuente de almidón. La amilosa constituye aproximadamente el 15-30 % del almidón total [7].

2.1.1.1. Amilosa

Las moléculas de amilosa, situadas en las capas interiores, están compuestas de aproximadamente 200 a 20,000 moléculas de glucosa unidas por enlaces glucosídicos α -1,4 (Figura 1) en cadenas no ramificadas y enrolladas en forma de hélice. Algunas moléculas de amilosa tienen ramificaciones α -D-(1,6), aproximadamente entre 0.3 a 0.5 % del total de los enlaces. Éstas generalmente, no son ni muy largas ni muy cortas, y están separadas por grandes distancias permitiendo a las moléculas actuar, esencialmente como un polímero lineal, formando películas y fibras fuertes, y retrogradando fácilmente. Como consecuencia de la formación de cadenas en forma de hélice, las fibras y películas de amilosa son más elásticas que las de celulosa. La amilosa es soluble en agua caliente, lo cual se debe a la formación de una suspensión coloidal [8].

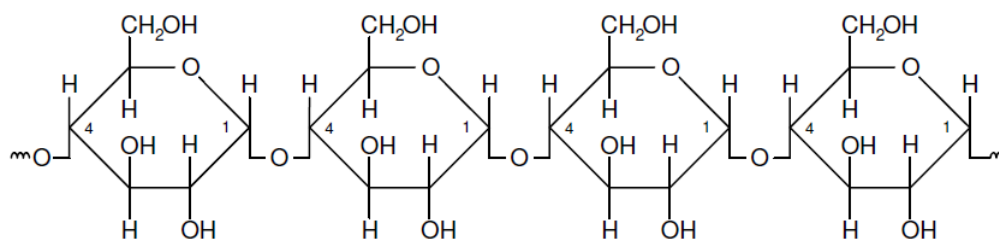


Figura 1. Segmento de una molécula de amilosa [8].

2.1.1.2. Amilopectina

La amilopectina es una estructura muy ramificada de cadenas cortas α -1,4 unidas a cadenas por enlaces α -1,6 (Figura 2) que contienen 10-60 unidades de glucosa y cadenas laterales de 15-45 unidades de glucosa con un promedio de 5 % de enlaces α -(1-6) en sus puntos de ramificación [9].

El peso molecular de la amilopectina es de aproximadamente 1000 veces el peso molecular de la amilosa y varía de 1×10^7 a 5×10^8 g/mol [10]. Las cadenas de amilopectina dispuestos radialmente dentro del gránulo. El gránulo está compuesto por zonas cristalinas (como una doble hélice) y las zonas amorfas con regiones de puntos de ramificación [6].

Una de las propiedades más importantes del almidón es su semicristalinidad, donde la amilopectina es el componente dominante para la cristalización en la mayoría de los almidones. La parte amorfa está formada por regiones ramificadas de amilopectina y amilosa. Las propiedades comercialmente significativas del almidón, tales como su resistencia mecánica y flexibilidad, dependen de la resistencia y carácter de la región cristalina, la cual depende de la relación de amilosa y amilopectina y por lo tanto del tipo de fuente, de la distribución del peso molecular,

del grado de ramificación y del proceso de conformación de cada componente en el polímero [8].

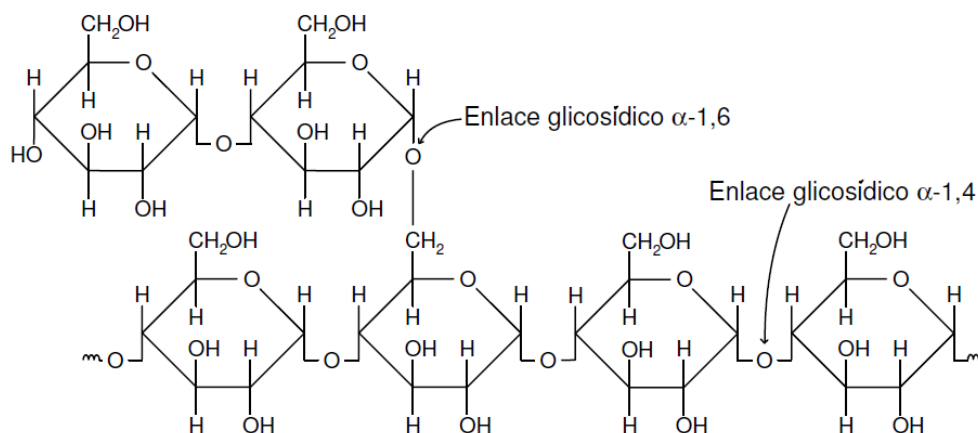


Figura 2. Segmento de la molécula de amilopectina [8].

2.1.2. Cristalinidad del almidón

Una técnica utilizada para determinar el grado de cristalinidad de los almidones es a través de la difracción de rayos X [11], se han realizado numerosos estudios para analizar la estructura cristalina del granulo de los diferentes tipos de almidón, Katz y colaboradores fueron los primeros en realizar estudios de difracción por rayos X para distinguir los dos principales patrones [12].

Las dobles hélices conformadas por la amilopectina se pueden ordenar en tres arreglos: patrón de difracción tipo A, B y C [13], estas dobles hélices son estabilizadas por puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals [14]. Los cereales muestran un patrón tipo A las dobles hélices de la amilopectina están

empaquetadas en forma monoclinica y contiene de 4 a 8 moléculas de agua, los tubérculos un patrón tipo B presentando dobles hélices de amilopectina

empaquetadas en forma hexagonal y con 36 moléculas de agua [15], los almidones de algunas raíces y semillas dan un patrón tipo C que es una mezcla intermedia del patrón tipo A y B. Otro tipo de patrón es el V, y que es característico cuando se forma un complejo de inclusión o clatrato en el interior de la hélice de la amilosa (Figura 3) [13]. La estructura cristalina del gránulo de almidón ha sido atribuida directamente a la amilopectina [16].

El patrón tipo A tiene picos de mayor intensidad de difracción para los ángulos $2\theta = 15$ y 23 . El tipo B tiene picos de mayor intensidad para los ángulos $2\theta = 5.6$, 15 y 24 . El tipo C su mayor intensidad se muestran en los ángulos $2\theta = 5.6$ (del tipo B) y $2\theta = 23$ (característico del tipo A) [17].

El análisis de rayos X a bajo ángulo muestra que el gránulo del almidón está formado de regiones amorfas y regiones cristalinas [18]. La región con mayor proporción de amilosa se manifiesta de una forma amorfa y la región con mayor proporción de amilopectina adopta una forma cristalina [19]. Esta última región cristalina está formada por cúmulos paralelos de cadenas cortas (50-60 Å) en la amilopectina, la cual así mismo, presenta regiones amorfas y regiones altamente cristalinas. Las regiones amorfas están asociadas a los puntos ramales de la amilopectina mientras que la región cristalina se debe a los planos formados por los cúmulos y las cadenas lineales de la amilosa en la molécula de la amilopectina [20].

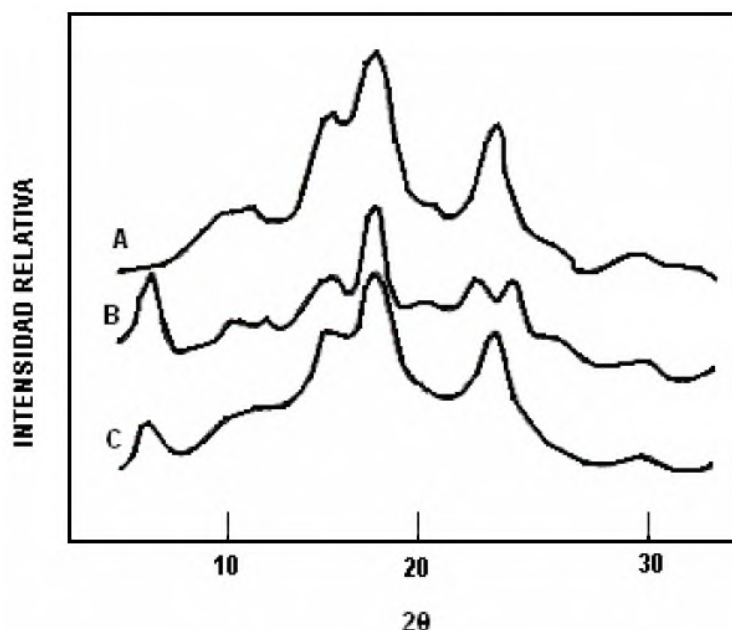


Figura 3. Patrones de difracción para las diferentes fuentes de almidones. (A) cereales, (B) tubérculos, (C) una mezcla intermedia del patrón tipo A y B, (V) característico cuando se forma un complejo de inclusión o clatrato en el interior de la hélice de la amilosa.

2.1.3. Propiedades del almidón

2.1.3.1. Gelatinización del almidón

Los gránulos de almidón no son solubles en agua fría. Sin embargo, cuando el almidón se calienta en agua, la estructura cristalina se altera y las moléculas de agua interaccionan con los grupos hidroxilo de la amilosa y la amilopectina, obteniendo solubilización parcial del almidón [21]. El almidón al estar en calentamiento en un exceso de agua es capaz de formar enlaces de hidrógeno y a altas temperaturas entre 65-100 °C provoca un efecto irreversible de gelatinización [22]. Este proceso ocasiona cambios irreversibles en los gránulos de almidón, tales como la pérdida de cristalinidad, absorción de agua y el hinchamiento de los gránulos [23-24].

La gelatinización del almidón es un proceso en el que los gránulos se hinchan, dependiendo de la disponibilidad de agua, provocando la rotura de la matriz de amilopectina y la liberación de la amilosa. Se puede considerar como un primer paso, en que el disolvente se difunde a través de los gránulos de almidón y una segunda, en la que la fusión de los cristalitas de almidón se lleva a cabo [24].

La gelatinización es un proceso de tres etapas en el que diferentes eventos estructurales tienen lugar [25]:

- I. La absorción de agua por los gránulos de almidón promueve un aumento en la movilidad de las regiones amorfas del polímero.
- II. En las regiones amorfas del polímero se reorganiza formando nuevas interacciones intermoleculares.
- III. El aumento hidrotérmico afecta, los polímeros se vuelven más móviles y pierden sus interacciones intermoleculares y estructura granular general.

2.1.3.2. Retrogradación del almidón

Posterior a la gelatinización, en el momento en que deja de introducirse calor y comienza la etapa de enfriamiento, la viscosidad aumenta de nuevo y se presenta el fenómeno denominado retrogradación.

La retrogradación se define como un incremento espontáneo del estado del orden, es decir, una reorganización de los puentes de hidrógeno y reorientación de las cadenas moleculares. Paralelamente, se genera una disminución de la solubilidad en agua fría y un incremento de la turbidez [26].

2.1.3.3. Propiedades de barrera del almidón

La permeabilidad a los gases de almidón ha sido estudiada por varios años, con el fin de que productos de almidón sean capaces de sustituir a los polímeros sintéticos en aplicaciones de empaques y envases. La permeabilidad a los gases de almidón, almidón modificado y membranas o películas de almidón plastificado ha sido estudiada como una función de la hidratación de agua. En general, las películas de almidón presentan buenas propiedades de barrera a un nivel bajo de hidratación, a comparación de los plastificantes convencionales. En el caso de las membranas o películas a base de almidón se debe encontrar el equilibrio adecuado entre las propiedades de barrera y las propiedades mecánicas. En general, con alto contenido de plastificante se obtendrá un material mayormente blando y las propiedades de barrera serán evidentemente inferiores. Paralelamente, las propiedades mecánicas y de barrera a gases son altamente dependientes de la actividad del agua [27].

El carácter hidrófilo es la principal limitación para el desarrollo del envasado basado en almidón. Las películas de almidón tienen buena resistencia mecánica; Sin embargo, presentan una alta permeabilidad al vapor de agua [28].

2.2. Película de almidón

El almidón es uno de los polisacáridos usados para obtener películas biodegradables debido a su capacidad para formar una matriz continua [27-29]. Una película puede estar hecha de cualquier tipo de almidón que contenga amilosa ya

que la amilosa es la más estrechamente asociada con la capacidad para formar películas debido a su naturaleza predominante [30]. Las películas de almidón presentan varios inconvenientes, tales como su carácter hidrófilo y pobres propiedades mecánicas [22]. Los plastificantes se añaden a los polímeros para mejorar la flexibilidad y extensibilidad de la película, en la mayoría de los estudios de películas a base de almidón se plastifican más eficazmente con el uso de glicerina ya que tiene ciertas ventajas ser de bajo costo, y se ha concedido el término GRAS (generalmente reconocido como seguro para la salud) por la FDA (administración de alimentos y medicamentos) [30].

Las películas fundidas a partir de almidones de cereales y raíces han sido ampliamente desarrolladas y estudiadas por sus propiedades. No obstante, los estudios sobre películas producidas a partir de almidones de leguminosas son poco frecuentes [31].

Los requisitos que deben tener las películas son: permitir una respiración lenta pero controlada, formar una atmosfera modificada con respecto a la composición del gas interno, regulando así, el proceso de maduración y extendiendo la vida útil del producto, disminuir la migración y uso de lípidos sobre todo en productos de la industria de confitería, mantener la integridad estructural (retrasar la pérdida de clorofila) y mejorar la manipulación mecánica. También puede servir para incorporar aditivos alimenticios (sabor, color, antioxidantes) y agente antimicrobiano, evitar el deterioro microbiano [32].

Coa et al. [33] elaboraron películas usando almidón de guisante de campo, glicerol, suspensión de nanocristales de celulosa y agua destilada; obtenidas mediante el método de casting. En otros reportes utilizan almidón de maíz con alto contenido de amilosa para elaborar películas por el método de vaciado en placa “casting”, examinan los efectos del tiempo y temperatura durante la fabricación [34]. Zamudio-Flores et al. [35] obtienen películas de almidón de plátano oxidado y glicerol usando gelatinización térmica y vaciado en placa. También se ha utilizado el almidón de avena oxidado con quitosano en la obtención de películas [36]. También se han reportado películas de almidón de yuca enriquecidas con ajo en polvo [37].

2.2.1. Método de elaboración

Las películas se pueden obtener a partir de dos principales procesos: una es la vía húmeda donde los polímeros se dispersan o solubilizan en una solución formadora de película (solución casting), seguido por evaporación del solvente; y extrusión [38].

2.2.1.1. Vaciado en placa (casting)

Este método consiste en verter en placas o moldes, una suspensión acuosa de almidón gelatinizado (la gelatinización de los gránulos de almidón se consigue calentando la suspensión antes de verterla), plastificante y otros aditivos, posteriormente siguiendo un proceso de secado donde se evapora el agua. Esta técnica es adecuada para elaborar películas a nivel laboratorio y determinar las pruebas de barrera, mecánicas entre otras. El espesor de las películas es controlado

por la cantidad de masa en la suspensión vertida sobre la placa, en cuanto al tamaño de las películas varía dependiendo el molde [39].

López y García [40]. En un Trabajo con ahipa, yuca y almidones de maíz en la elaboración de biocompuestos por el método de casting gelatinizando a 90 °C durante 20 min. Valencia et al. [41] prepararon por casting mezclas de alcohol polivinílico-almidón de yuca-sorbitol. Obtuvieron películas a base de almidón de plátano guayabo (*Musa paradisiaca* L.) por el método de casting [42] por mencionar algunas investigaciones.

2.2.1.2. Extrusión

Esta operación fue desarrollada por la industria de plástico durante los años 30 [43], la cual consiste en exponer un material sólido a un campo constante o creciente de esfuerzos cortantes o de cizallamiento dentro de un barril, a medida que es transportado por un tornillo sin fin. Como resultado de la fricción o disipación viscosa, puede autogenerarse gran cantidad de calor que junto con el calor que pueda ser aplicado desde el exterior del barril, constituye a la fusión el sólido, convirtiéndolo en una masa viscosa que prosigue su desplazamiento hacia una boquilla o dado de diámetro apreciablemente reducido. Por este orificio sale o se extruda el material al exterior [44].

Algunos reportes de elaboración de películas por extrusión son. Gonzáles-Soto et al. [45] elaboran películas de almidón de papa obtenidas por casting y extrusión reforzadas con montmorillonita de sodio modificada para mejorar las propiedades

de los materiales. En otros estudios se elaboraron películas de almidón modificado de tres variedades de yuca obtenidas por extrusión donde se les evaluó la morfología superficial [46]. También se elaboraron películas de almidón de maíz por el método de extrusión [47] para el estudio de la biodegradación aerobia.

2.2.2. Aplicaciones del almidón

Los almidones nativos se usan como materia prima para diferentes productos y se usan en la industria alimentaria debido a sus propiedades de espesamiento, gelificación y estabilizador de la textura [48]. También son usados para la preservación de caramelos, pasas y nueces para evitar rancidez oxidativa [32].

Una de las aplicaciones actuales de los almidones es como empaques biodegradables, ya que es un recurso renovable ampliamente disponible que puede obtenerse de diferentes fuentes como cereales (maíz, trigo y arroz), semillas, legumbres (lentejas, garbanzo y frijol) y tubérculos (patata, yuca y malanga), además a diferencia de otros polímeros biodegradables su costo es relativamente bajo [39].

Algunas aplicaciones en el mercado, el almidón ha tenido que ser mezclado con plásticos sintéticos, como PE (polietileno), PP (polipropileno), PS (poliestireno) y poliésteres biodegradables (PEsB). Para mejorar la permeabilidad y las propiedades mecánicas, algunos productores de materiales derivados del almidón: Biopar, Bioplast, Cereplast [49] y Mater-Bi [50].

2.2.3. Importancia de las películas

Recientemente ha crecido la importancia en las películas de almidón ya que estas podrían remplazar a los plásticos provenientes del petróleo, principalmente la causa por la que se requiere reemplazarlos es por la acumulación de plásticos y como consecuente daños al ambiente.

Los plásticos elaborados a partir de almidón podrían utilizarse en diferentes áreas: agricultura (en el uso de acolchados), en la industria farmacéutica (contenedor de medicamentos), envases rígidos (termoformados), recubrimientos en alimentos (uso de gomas para alargar la vida útil de anaquel) y envases activos, en la industria de los alimentos, etc. [51].

2.3. Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)

El frijol común *Phaseolus vulgaris* L. es una especie de origen americano. México, Guatemala y Perú son los más posibles centros de origen. Desde el punto de vista taxonómico el frijol es el prototipo del género *Phaseolus*. Su nombre científico completo fue designado por Lineo en 1753 como *Phaseolus vulgaris* L. el género *Phaseolus* incluye aproximadamente 35 especies [52].

El frijol es un fruto que se da en una vaina las cuales se abren longitudinalmente en dos valvas, las cuales provienen del ovario comprimido. Las reservas nutritivas se concentran en los cotiledones, y se les agrupa como miembros de la familia leguminosa [53].

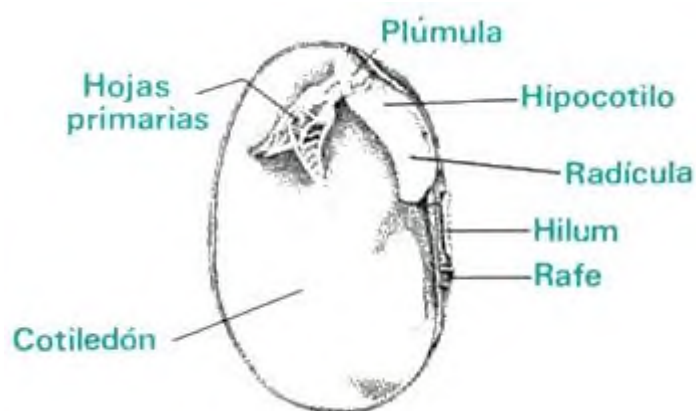


Figura 4. Composición interna de la semilla.

Las legumbres son semillas dicotiledóneas de plantas que pertenecen a la familia leguminosas (16000-19000 especies en 750 géneros) [54].

2.3.1. Almidón de Frijol

Los polisacáridos más importantes de las leguminosas son el almidón, los polisacáridos de la pared celular (fibra dietética) y los oligosacáridos, que se encuentran en cantidades pequeñas, aunque significativas [55]. El almidón es uno de los componentes principales de la dieta humana [56]. Las leguminosas contienen alrededor de 60-65 % de carbohidratos. Los carbohidratos de las leguminosas están constituidos principalmente por monosacáridos (ribosa, galactosa y fructosa), disacáridos (sacarosa y maltosa), oligosacáridos (rafinosa, estaquinoso y verbascosa) y polisacáridos (almidón, componentes de la fibra dietética). El almidón es el principal carbohidrato de almacenamiento, debido a que constituye la fracción mayoritaria del total de carbohidratos de las leguminosas [57- 58].

Hoover y Ratnayake [59] reportaron que el almidón de frijol negro presenta tamaños de gránulo de 12-28 μm de largo y 7-30 μm de ancho, mientras que para el almidón de frijol pinto el tamaño fue de 14-42 μm de largo y 6-32 μm de ancho, mencionan que éste depende de la variedad, encontrando una mayor variación en la distribución del tamaño en el almidón de frijol pinto. Chung et al. [60] y Singh et al. [61] reportan que el granulo de almidón de frijol presenta una forma redonda o elíptica, cuya superficie es lisa y sin fisuras.



Figura 5. Micrografía del gránulo de almidón de frijol [60].

Se ha reportado que la extracción de almidón de frijol es difícil debido a la presencia de proteína insoluble y fibra muy fina que disminuye la sedimentación [7]. Para la extracción de almidón se han utilizado dos métodos de aislamiento que son la molienda en seco que es utilizada a nivel industrial y molienda húmeda que utilizada nivel laboratorio. Sin embargo, la molienda húmeda da como resultado un mayor grado de pureza ya que se ha demostrado que se obtiene un contenido de proteínas de 0.25 % en el almidón lavado.

2.3.1.1. Películas de almidón de frijol

Algunos estudios publicados de películas de almidón. Rompothi et al. [31] desarrollan películas comestibles a partir de almidón de frijol mungo las películas obtenidas tenían buena resistencia a la tracción (misma que el polietileno de baja y alta densidad, polipropileno y poliestireno) y un buen porcentaje de elongación (misma que el polipropileno y cloruro de polivinilideno) esto conlleva que las películas de almidón de frijol mungo pueden mantener la integridad del envasado de alimentos durante el almacenamiento, sin embargo las películas de frijol tienen inconvenientes son pobres al vapor de agua. Por lo tanto, dichas películas deben protegerse de la humedad, por ejemplo, se podría usar un embalaje secundario, para mantener sus propiedades deseables. Caamal-Herrera et al. [62] estudiaron la caracterización óptica y mecánica de películas comestibles a base de mezclas binarias de almidones *Phaseolus lunatus* L, yuca y maíz presentando adecuadas propiedades mecánicas factibles para usarse como recubrimientos de alimentos. Prachayawarakorn et al. [63] realizaron películas de almidón de frijol mungo con fibra de algodón y polietileno de baja densidad obteniendo aumentos en el estrés a la carga máxima, módulo de Young y disminuciones en la absorción de agua. Entre otros [64-65].

Las películas de almidones de raíces y cereales han sido ampliamente estudiadas sin embargo son escasos los estudios en las películas elaboradas a partir de almidón de legumbres [31]. Por lo tanto, los almidones de leguminosas deben estudiarse para el desarrollo de nuevas aplicaciones en productos alimenticios y no alimenticios [7-66].

2.4. Dióxido de titanio (TiO₂)

El dióxido de titanio (TiO₂) es un pigmento blanco excelente que es ampliamente utilizado en pinturas, plásticos, papel, caucho y tinta entre otras [67]. El TiO₂ es el material fotocatalítico más común y puede existir en tres formas diferentes: anatasa, rutilo y brookita. La forma anatasa es particularmente eficaz como fotocatalizador, con una separación de banda de 3.2 eV. [68].

El TiO₂ tiene una fuerte actividad fotocatalítica: produce electrones y agujeros bajo irradiación de luz UV, que reaccionan con el agua y el oxígeno para generar radicales que catalizan y degradan la materia orgánica alrededor de las partículas de dióxido de titanio [69].

Las estructuras cristalinas del TiO₂ muestran las siguientes características: anatasa (tetragonal, $a = b = 3.78 \text{ \AA}$; $c = 9.50 \text{ \AA}$), rutilo, (tetragonal, $a = b = 4.58 \text{ \AA}$; $c = 2.95 \text{ \AA}$), y brookita, (romboédrico, $a = 5.43 \text{ \AA}$; $b = 9.16 \text{ \AA}$; $c = 5.13 \text{ \AA}$) [70]. En la Figura 6 se muestran las estructuras de la celda unitaria del cristal de la anatasa y del rutilo. Ambas estructuras se pueden describir en términos de los octaedros del TiO₂. Cada ión Ti⁺⁴ está rodeado por un octaedro de seis iones de O⁻². El octaedro en el rutilo no es regular, muestra una ligera distorsión ortorrómbica. El octaedro en la anatasa está distorsionado significativamente, así que su simetría es más baja que la ortorrómbica. La distancia Ti -Ti es más grande en la anatasa mientras que las distancias de Ti-O son más cortas en el rutilo. En las estructuras del rutilo cada octaedro está en contacto con 10 octaedros vecinos (dos pares de oxígeno unidos

al borde y ocho átomos de oxígeno unidos en la esquina) mientras que en la estructura de la anatasa cada octaedro está en contacto con ocho vecinos (cuatro unidos en el borde y cuatro unidos en la esquina). Esta diferencia en las estructuras causa diferencia en las densidades de masa y bandas electrónicas entre las dos formas del TiO_2 .

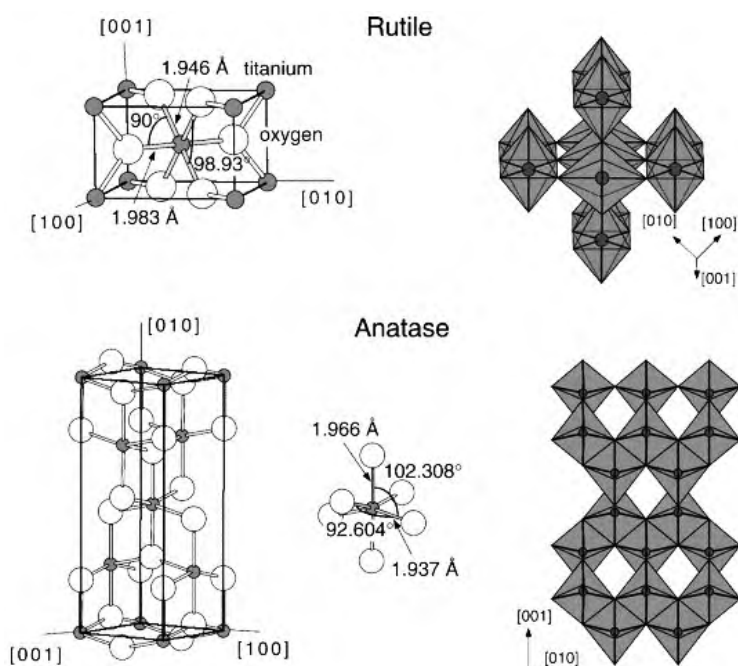


Figura 6. Estructuras cristalinas del TiO_2 : (a) rutilo y (b) anatasa [71].

El TiO_2 es estable en medio acuoso y es tolerante a soluciones ácidas y alcalinas. Económico, es reciclable, reusable y relativamente fácil de producir. También puede ser sintetizado a escala nanométrica más fácilmente que otros catalizadores. Su banda prohibida es apropiada para iniciar una variedad de reacciones orgánicas [72].

La fase rutilo es la única fase estable, mientras que las fases anatasa y brookita son metaestables y transforman a rutilo irreversiblemente por calentamiento [73]. Se ha reportado que de 500 a 1000 °C ocurre la transición anatasa a rutilo. Agrawal et al. [74] comprobaron el resultado por medio de difracción de rayos X. El TiO₂ es una de las sustancias con un índice de refracción muy alto (2.4, similar al diamante), incluso pulverizado o mezclado, y por esta misma razón es muy opaco. Refleja prácticamente toda la luz, incluso ultravioleta. Es un fotocatalizador muy eficaz para acelerar las reacciones químicas provocadas por la radiación UV [75].

2.4.1. Aplicaciones del TiO₂

El TiO₂ es un material de amplias aplicaciones, extendiéndose desde una sustancia como pigmento blanco hasta fotocátalisis y para dispositivos electrónicos a nanoescala [76].

El TiO₂ es un compuesto inorgánico de altas cualidades como pigmento blanco, entre las que se destacan el alto índice de refracción, alto brillo, alto índice de blancura, insolubilidad en soluciones alcalinas y ácidas, y su baja toxicidad. Las partículas sub-micrométricas de TiO₂ en dispersión le proporcionan al material un color blanco mate, que hacen que sea utilizado como pigmento en prácticamente todo tipo de pintura [89]. Se ha determinado que el TiO₂ más eficiente es aquel cuyo diámetro es un poco menor que la mitad de la longitud de onda de luz dispersada. Este tamaño oscila entre los 0.20 y 0.30 μm.

Una de las más importantes aplicaciones del TiO_2 es la foto-desintoxicación de agua y aire contaminados, debido a su alta eficiencia fotocatalítica, estabilidad química, no tóxico y bajo costo de fabricación. Esta área de investigación ha sido de rápido crecimiento durante las últimas décadas [77]. La fotocatalisis de TiO_2 se ha estudiado desde hace algunas décadas por su papel en la degradación de las sustancias orgánicas en el agua. Sin embargo, sólo recientemente se ha explorado esta tecnología para la desinfección del agua. Se ha informado de la inactivación de microorganismos en agua destilada utilizando la fotocatalisis bajo diferentes condiciones experimentales. Sin embargo, sólo unos pocos estudios han sido publicados utilizando aguas residuales [78].

El dióxido de titanio se ha incorporado en materiales termoplásticos a base de polisacáridos [79,80,81,82,83], el dióxido de titanio tiene potenciales aplicaciones como relleno para materiales, debido a sus propiedades únicas, tales como mayor estabilidad, duradero y seguro [84-85].

Debido a que el dióxido de titanio tiene actividad fotocatalítica también se puede utilizar para hacer películas a base de biopolímeros para proporcionar protección frente a microorganismos transmitidos por los alimentos y alérgenos en presencia de radiación ultravioleta. Las partículas de TiO_2 son fáciles de agregar y por lo tanto influyen en las propiedades de la película [86].

Los fotocatalizadores de TiO_2 inactivan o destruyen un amplio espectro de microorganismos incluyendo bacterias, hongos, algas y virus [87-88].

El TiO_2 además, ha sido usado como relleno en matrices poliméricas tales como el hule [89], polipropileno [90], polietileno [70], mediante diferentes procesos de mezclado. En los cuales, se han reportado buenas dispersiones, que dan como consecuencia materiales con buenas propiedades mecánicas, reológicas y hasta antimicrobianas y con ello gran potencial de aplicación industrial.

En particular, está aumentando las aplicaciones de nanopartículas de TiO_2 en las industrias agrícola y alimentaria. Se han utilizado como fotocatalizador en películas de envasado de alimentos para conservar frutas y verduras; al igual como refuerzo de polímeros biodegradables [86,91,92,93,94].

2.4.2. Dióxido de titanio como relleno en películas de almidón

Las películas de almidón tienen ciertas limitaciones son pobres en sus propiedades mecánicas y tienen alta permeabilidad. Debido a esto se estudia la incorporación de diferentes rellenos como fibras, copos y partículas en matrices de almidón [95,96,97,98,99,100], o la mezcla de almidón con otros polímeros [39].

El TiO_2 se utiliza como relleno en materiales, debido a sus propiedades únicas tales como mayor estabilidad [84] y a su actividad fotocatalítica [101-102]. Los métodos más utilizados para agregarlo en polímeros son agregarlo directamente a la solución de la matriz de almidón [103] o directamente en una dispersión de almidón, que actúa no solo como estabilizante sino también como matriz [104].

Algunos trabajos donde se ha incorporado el TiO_2 son los siguientes. Wang et al. [105] utilizaron el dióxido de titanio como relleno en almidón de maíz con glicerol encontrando una mejora en las propiedades mecánicas que se le atribuye a la interacción entre el relleno TiO_2 y la matriz del almidón-glicerol. Hejri et al. [80] desarrollan una película compuesta de almidón/Poly (alcohol vinílico)/ TiO_2 , obtienen una mejora en la estabilidad térmica y la atribuyen a la mejora en la adhesión interfacial y la compatibilidad entre el TiO_2 y el almidón. Sreekumar et al. [82] en la elaboración de películas de almidón/polyvinyl alcohol/ TiO_2 obtienen como resultados que al agregar el TiO_2 aumenta la heterogeneidad de la mezcla y una caída en la ductilidad de los materiales compuestos. Yun et al. [103] prepararon películas de almidón de maíz/poli (alcohol vinílico) (PVA)/PMMA-co-AM obteniendo en los resultados ligeros aumentos de TS y S, y disminución en el % E.

2.4.3. El dióxido de titanio como agente antimicrobiano

Cuando el TiO_2 se irradia con luz UV, este semiconductor exhibe una fuerte actividad bactericida. La formulación P25 de TiO_2 de Degussa Chemical Company (Teterboro, NJ) es el fotocatalizador más ampliamente utilizado. El TiO_2 en la forma cristalina anatasa es un semiconductor con una banda prohibida de 3.2 eV o más. Tras la excitación por la luz cuya longitud de onda es menor que 385 nm, la energía del fotón genera un par de orificios de electrones en la superficie de TiO_2 . El agujero en la banda de valencia puede reaccionar con H_2O o iones hidróxido adsorbidos en la superficie para producir radicales hidroxilo ($\text{OH}\cdot$), y el electrón en la banda de conducción puede reducir O_2 para producir iones superóxido (O_2^-). Los dos agujeros

y OH son extremadamente reactivos al ponerse en contacto con compuestos orgánicos. La detección de otras especies reactivas de oxígeno (ROS), tales como peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y oxígeno también ha sido reportado [106]. La oxidación completa de compuestos orgánicos y células de *Escherichia coli* a dióxido de carbono se puede lograr [107-108]. Las células microbianas en el agua pueden ser eliminadas por el contacto del catalizador Pt-TiO₂ con luz UV cercano de 60 a 120 minutos [109].

Sunada et al. [110] estudiaron el comportamiento de *E. coli* con TiO₂ y encontró que la endotoxina, un componente integral de la membrana externa, fue destruido bajo condiciones fotocatalíticas cuando utilizó TiO₂.

En estudios sobre bacterias Gram-positivas resultaron ser más resistentes a la desinfección fotocatalítica que las bacterias Gram-negativas [92]. Esto se atribuye a la diferencia en la estructura de la pared celular entre las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Las bacterias Gram-negativas tienen una pared celular de triple capa con una membrana interna, una capa delgada de peptidoglucano y una membrana externa, mientras que las bacterias Gram-positivas tienen una capa de peptidoglucano más gruesa y sin membrana externa. Sin embargo, algunos estudios muestran que las bacterias Gram-positivas son más sensibles al TiO₂. *Lactobacillus* fue más sensible que *E. coli* usando un catalizador de Pt-TiO₂ dopado [109]. *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) y *E. coli* fueron más resistentes que *Micrococcus luteus* [111].

iii. JUSTIFICACIÓN

Debido a la problemática que ha surgido en los últimos años por la acumulación irracional de plásticos, se han buscado alternativas de nuevos materiales que sustituyan a los plásticos sintéticos comunes, cuyo tiempo de uso es menor a un año. Una alternativa es utilizar almidón para obtener materiales biodegradables. El almidón es un biopolímero, de gran interés en las investigaciones científicas en los últimos años, especialmente para la elaboración de empaques biodegradables. Sin embargo, las películas elaboradas a base de almidón presentan propiedades mecánicas limitadas, como consecuencia suelen ser quebradizas. Además, debido a su alta hidrofiliidad absorben una gran cantidad de agua.

En el presente trabajo se pretende que al incorporarle TiO_2 a almidón de frijol, las películas producidas presenten una mejora en sus propiedades mecánicas, ya que el TiO_2 por si solo presenta alta resistencia mecánica debido a su estructura bien definida y ordenada. Además, dado que es un fotocatalizador muy eficaz para acelerar las reacciones químicas a partir de la radiación UV, es capaz de descomponer compuestos orgánicos volátiles contaminantes y la destrucción de bacterias. Por lo tanto, ayudaría a la conservación de alimentos al ser utilizado junto con el almidón como material de empaque.

iv. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

Elaborar películas con propiedades antimicrobianas a partir de una mezcla de almidón de frijol con dióxido de titanio (TiO₂).

4.2. Objetivos Específicos

- a. Aislar el almidón de frijol.
- b. Elaborar películas por el método de casting a partir de almidón de frijol adicionado con dióxido de titanio (TiO₂).
- c. Determinar el contenido de humedad y solubilidad de las películas.
- d. Realizar la caracterización microestructural y morfológica de las películas a través de difracción de rayos X, FTIR, microscopía electrónica de barrido y análisis térmico.
- e. Evaluar las propiedades mecánicas de las películas.
- f. Evaluar las propiedades de barrera de las películas a través de permeabilidad a vapor de agua.
- g. Evaluar las propiedades antimicrobianas de las películas elaboradas a partir de almidón de frijol con dióxido de titanio (TiO₂).

v. HIPÓTESIS

El almidón puede favorecer atracciones con las partículas de TiO_2 y con ello, generar películas con mejores propiedades mecánicas. La capacidad fotocatalítica de las partículas de TiO_2 dispersadas en el almidón generará un efecto antimicrobiano en las películas, favoreciendo su uso como empaques de alimento.

vi. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Materiales

Se utilizó almidón de frijol *P. vulgaris aislado*, glicerol adquirido de Sigma-Aldrich con punto de fusión de 175 °C y una densidad de 1.262 g/cm³ se utilizó como agente plastificante del almidón. El TiO₂ que se utilizó es P25 proporcionado por Degussa Inc., con una estructura preferentemente de anatasa, con temperatura de ebullición (T_b) de 2,500 - 3,000 °C y temperatura de fusión (T_m) de 1,830 - 1,850 °C.

6.2. Métodos

En la Figura 7, se muestra el proceso para la obtención de las películas biodegradables

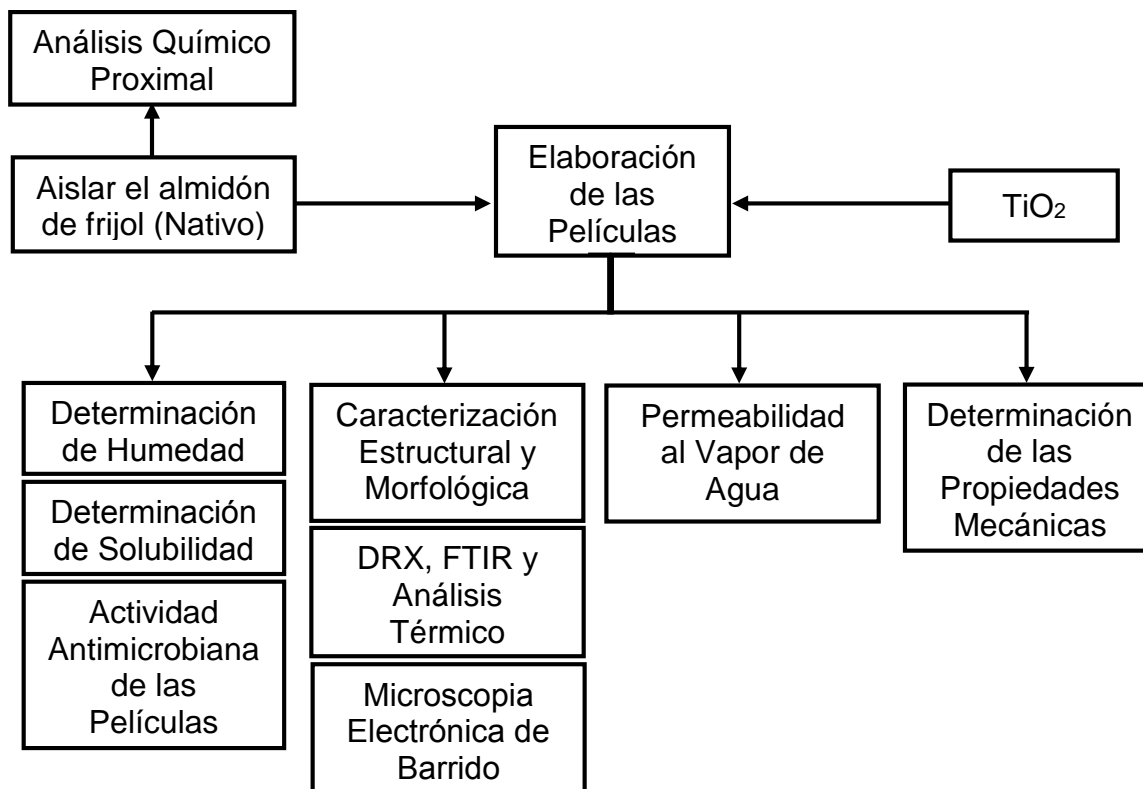


Figura 7. Diagrama de flujo del proceso experimental.

6.2.1. Obtención de almidón de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)

La Figura 8 muestra el proceso de obtención del almidón de frijol.

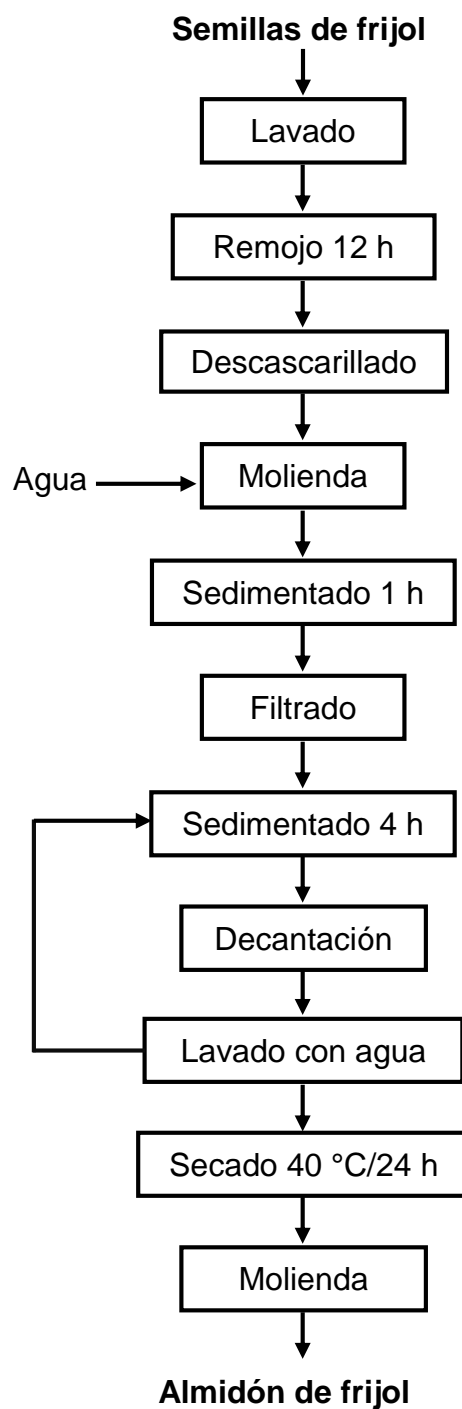


Figura 8. Diagrama de flujo del proceso de extracción de almidón de frijol.

La realización de la obtención de almidón de frijol se llevó a cabo utilizando un lote de 400 g en peso seco, con un rendimiento de 50.94 % en base seca. El procedimiento a seguir para la obtención de almidón fue usando el método propuesto por Betancourt et al. [112]. Las semillas de frijol se lavaron a chorro de agua dejándose en remojo durante 12 h transcurrido este tiempo se realizó el descascarillado manual para después moler en una licuadora semi-industrial modelo: CB15, marca: WARING. La masa obtenida se dejó sedimentar por 1 h posteriormente la mezcla se filtró en mallas de No. 40 (0.425 mm) y No. 100 (0.15 mm). La mezcla filtrada se dejó sedimentar durante 4 h para después decantar el sobrenadante, el precipitado se lavó con agua hasta que el sobrenadante de salida fue transparente este procedimiento se repitió 4 veces. Se procedió a secar los sólidos recuperados (almidón) en charolas de aluminio con recubrimiento de teflón en un secador a una temperatura de 40 °C durante 24 h. El almidón obtenido se pulverizó en un mortero y se tamizó nuevamente por la malla No. 100. Por último, el almidón se almacenó en un recipiente cerrado.

6.2.2. Análisis químico proximal del almidón

La caracterización química proximal del almidón consistió en la determinación del contenido de humedad, cenizas, lípidos y el contenido de proteínas en la muestra de almidón de frijol. Se realizó empleando las metodologías propuestas por la AOAC y la AACC [113-114].

Humedad. Se utilizaron 0.5 g de muestra a una temperatura de 110 ± 3 °C por 5 h en una estufa. Método 14.004 de la AOAC, 1980.

Cenizas. Se determinó utilizando la pérdida en peso de 5 g de muestra después de incineración a 600 °C durante 5 h en una mufla. Método 32.10 de la AACC, 2000.

Lípidos. Se determinó utilizando un sistema de extracción soxhlet. Se pesaron 3 g de muestra empleando éter de petróleo como disolvente. Método 7.056 de la AOAC, 1980.

Proteínas. Utilizando el mirokjeldahl. Se pesaron 0.04 - 0.05 g de muestra utilizando el factor para vegetales 5.7. Método 14.026 de la AOAC, 1980.

6.2.3. Elaboración de las películas Almidón/TiO₂

La elaboración de las películas se realizó utilizando el método Agüero V. [115]. Se colocó en agitación el dióxido de titanio, agua y glicerol durante 3 h a una velocidad de 1000 rpm, a temperatura ambiente (para una mayor dispersión del dióxido de titanio en las películas) utilizando una mezcladora mecánica IKA RW20 Digital, modelo RW 20 D S1 con una propela de altos esfuerzos cortantes (geometría de 9 dientes hacia arriba y 9 hacia abajo). Pasado el tiempo, se agregó el almidón de frijol a la mezcla manteniéndolo con una agitación de 650 rpm durante 30 min, la suspensión obtenida se llevó a la gelatinización a una temperatura de 80–85 °C, una vez obtenida esta temperatura se mantuvo durante 30 min, transcurrido los 30 min de gelatinización se vertió esta suspensión en recipientes de aluminio con recubrimiento de teflón. Se secaron en un horno con una temperatura de 50 °C durante 16 h. Por último, las películas se desprendieron del recipiente y se colocaron

en un desecador que contenía una solución de NaBr con una humedad relativa de 57 % y una temperatura de 25 ± 2 °C. Las concentraciones de dióxido de titanio que se manejaron fueron de 1 %, 3 %, 5 % y 7 %. Todas las películas a diferentes concentraciones se elaboraron por triplicado.

Tabla 1. Simbología utilizada para la diferenciación de las películas.

Mezcla	Simbología	Descripción de las películas
Almidón + agua + glicerol	PAF	Película de almidón de frijol
Almidón + agua + glicerol + TiO ₂	PAFTiO ₂ 1 %	Película de almidón de frijol con 1 % de dióxido de titanio
Almidón + agua + glicerol + TiO ₂	PAFTiO ₂ 3 %	Película de almidón de frijol con 3 % de dióxido de titanio
Almidón + agua + glicerol + TiO ₂	PAFTiO ₂ 5 %	Película de almidón de frijol con 5 % de dióxido de titanio
Almidón + agua + glicerol + TiO ₂	PAFTiO ₂ 7 %	Película de almidón de frijol con 7 % de dióxido de titanio

6.2.4. Determinación de humedad de las películas

La determinación del porcentaje de humedad se realizó midiendo la pérdida en peso de las películas, se pesaron 0.5 g de película y se mantuvieron en un horno de convección marca BINDER a una temperatura de 110 °C durante 2 h. Las muestras fueron analizadas por triplicado. El contenido de humedad (%) se determinó con la siguiente fórmula.

$$\% \text{ Humedad} = \left[\left(\frac{\text{Peso inicial de la muestra}}{\text{Peso seco de la muestra}} \right) - 1 \right] \times 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

6.2.5. Determinación del porcentaje de solubilidad

El porcentaje de solubilidad de las películas se evaluó de acuerdo al método propuesto por García et al. [116]. Consiste en cortar las películas en forma rectangular con dimensiones de 2 cm x 3 cm. Las muestras se almacenaron en un desecador que contiene sílica gel para con una humedad relativa cercana al 0 % durante un tiempo de 7 días. Pasado este tiempo, las muestras se pesaron y cada una se situó en un vaso de precipitado de 100 mL que contenía 80 mL de agua desionizada. Las muestras se mantuvieron en agitación constante durante 1 hora a temperatura ambiente (25 °C). Después del tiempo de agitación transcurrido, las piezas de películas se secaron en una estufa a 60 °C por 2 horas. El porcentaje de materia soluble (% solubilidad) fue calculado de la siguiente manera.

$$\% \text{ solubilidad} = \frac{(\text{Peso inicial seco} - \text{peso final seco})}{\text{Peso inicial seco}} \times 100 \quad \text{Ecuación 2}$$

6.2.6. Difracción de rayos X (DRX)

La técnica de difracción de rayos-X se utilizó para determinar el grado cristalino de las películas, así como también el efecto del TiO₂ sobre el comportamiento cristalino en las películas. Los patrones de difracción se obtuvieron con un difractómetro de rayos-X marca Bruker Axs, modelo D8 Advance, con un generador de radiación de Cu-K α con filtro de Ni y rejillas de 1 mm. Los análisis se llevaron a cabo de 1 a 50 en 2 θ , utilizando una intensidad de 30 mA y un voltaje de 40 kV. Las películas fueron cortadas en círculos de 5 cm de diámetro para su utilización en el equipo.

6.2.7. Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier

Esta técnica se llevó a cabo para identificar los grupos funcionales del almidón-TiO₂ y posibles cambios en ellos utilizando un espectrómetro Dynascan modelo Spectrum 100, Perkin Elmer, con un interferómetro de reflectancia total atenuada (ATR por sus siglas en ingles). Los espectros FTIR se realizaron a una resolución de 4 cm⁻¹ y en un rango de 4000-500 cm⁻¹.

6.2.8. Análisis termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico de las películas se llevó a cabo utilizando 10 mg ± 0.5 de muestra usando un equipo de Análisis Térmico Simultaneo (STA) modelo STA 6000, marca Perkin Elmer, bajo una atmosfera inerte de nitrógeno gaseoso con una velocidad de 20°/min, en un rango de temperatura de 30-700 °C.

6.2.9. Determinación de las propiedades mecánicas

Las pruebas mecánicas consistieron en ensayos de tensión-elongación para la determinación de la tensión a la fractura (TF), el porcentaje de elongación (% E) y el módulo de elasticidad (ME). Las pruebas mecánicas se realizaron de acuerdo a la norma estándar ASTM-882-95a [117]. Para ello, se utilizó un equipo de textura TAXT2i (Stable Micro Systems, Surrey, UK), utilizando una celda de carga de 25 Kg. Primeramente, las muestras de las películas se cortaron en rectángulos con las medidas de 6 cm de largo por 1 cm de ancho. Previamente las muestras se mantuvieron por lo menos dos días en desecadores, los cuales contenían una solución salina saturada de NaBr (57 % HR). El espesor de cada rectángulo se

determinó usando un micrómetro manual eléctrico (Fowler, Massachussets, USA) en 10 posiciones aleatorias a lo largo del rectángulo. El promedio de estas determinaciones se utilizó para calcular el área de sección transversal sobre la cual se ejerció la fuerza de tensión. Se usó una velocidad de deformación de 24 mm/min. El esfuerzo de tensión se calculó por la división de la fuerza máxima sobre la película durante la fractura entre el área de sección transversal (espesor por el ancho). El porcentaje de elongación a la fractura se determinó por la medición de la extensión máxima de la película entre la separación final e inicial de las pinzas y el módulo de elasticidad es el valor que resulto de la pendiente durante el comportamiento lineal de la curva de esfuerzo-deformación.

6.2.10. Permeabilidad al vapor de agua (PVA)

La permeabilidad al vapor de agua (PVA) de las películas, se determinó empleando el método gravimétrico estándar de la ASTM método E96 [118] conocido como el “método de copa” o “celda de prueba”. Las películas se cortaron en forma circular con un diámetro de 7.5 cm, equilibradas anteriormente en un desecador que contiene una solución de NaBr con una humedad relativa de 57 % y una temperatura de 25 °C. Posteriormente, las películas se pusieron sobre la parte superior de la celda a prueba que contiene la sílica gel en su interior para que se obtenga una humedad relativa de 0 %. La celda se coloca en un desecador que contiene una solución de NaCl para generar una humedad relativa del 75 % con una humedad de 25 °C. Se toma el peso de la celda cada hora durante 8 horas. La prueba se realizó por triplicado.

Se realizará un análisis de regresión lineal de los datos registrados de la ganancia de peso en función del tiempo para calcular la velocidad de transmisión de vapor de agua (VTVA).

$$TVA = \frac{\Delta G}{\Delta t \times A} \quad \text{Ecuación 3}$$

$$PVA = \frac{TVA(L)}{\Delta P} \quad \text{Ecuación 4}$$

TVA es la transmisión de vapor de agua, $\Delta G/\Delta t$ es la pendiente de la línea recta (g/s), A es el área de la película expuesta (m^2), L es el espesor de la película (m), ΔP (Pa).

6.2.11. Determinación del comportamiento antimicrobiano de las películas

6.2.11.1. Curva de crecimiento de la bacteria (*Staphylococcus aureus*)

Se utilizó el método de Lowry [119] para la determinación de proteínas. La absorbancia se midió a 750 nm, usando un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 25 UV/VIS, la muestra se analizó por triplicado.

6.2.11.2. Conteo de microorganismos

El conteo de microorganismos viables en placa se determinó mediante la disolución 1 mL de muestra en 9 mL de medio líquido, las diluciones se realizaron seriadas hasta 10^{-6} que posteriormente se transfirió 0.1 mL a las cajas Petri que contenían un medio sólido de agar de soja tripticasa, las cajas fueron incubadas durante 24 horas a 37 °C. Las diluciones se realizaron con la finalidad de obtener el número de bacterias iniciales.

El recuento de unidades formadoras de colonias en placa (UFC), es el método más utilizado a nivel laboratorio de microbiología, el conteo de colonias se realizó usando un contador de colonias contando únicamente las cajas Petri con conteos entre 30 y 300 colonias. Para la cuantificación de UFC se realizó mediante la siguiente ecuación:

$$UFC/mL = (N^{\circ} \text{ de colonias contabilizadas})(\text{Factor de dilución}) \quad \text{Ecuación 5}$$

6.2.11.3. Radiación de las películas

Para la evaluación de la actividad antimicrobiana se evaluó el porcentaje de reducción de la bacteria gram-positiva (*Staphylococcus aureus*), utilizando el método el reportado por [92].

Las películas se cortaron de 3 cm² colocándola en una caja petri estéril, agregándole 1 mL del inóculo que contenía 10^6 /mL, la caja con la película inoculada se cubre con

un acetato esto para disminuir la intensidad de la luz UV. Las cajas petri inoculada se colocó bajo radiación (UV) con longitud de onda de 385 nm. Las muestras se tomaron por duplicado con un tiempo de radiación de 60 min. Posteriormente se retiró de la luz UV, e inmediatamente se lavó colocando la película en un tubo con 9 mL de medio estéril manteniéndolo en agitación durante 10 min posteriormente se tomó 0.1 mL del tubo para la siembra en un medio solido de agar de soja tripticasa, las placas se incubaron a 37 °C por 24 horas, después se contaron las unidades formadoras de colonias (UFC). El porcentaje de reducción se calculó usando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Reducción} = \frac{B - A}{B} \times 100 \quad \text{Ecuación 6}$$

$$\% \text{ Supervivencia} = \frac{A}{B} \times 100 \quad \text{Ecuación 7}$$

Donde A es el número de células sobrevivientes (UFC) después de la radiación, B el número de células sobrevivientes desde el control.

vii. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Composición químico proximal del almidón de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)

Los resultados obtenidos de la composición química del almidón de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) se muestran en la Tabla 2. Se obtuvo un rendimiento de almidón en frijol de 50.94 % en base seca.

Tabla 2. Composición química proximal del almidón de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.).

Porcentajes (%)	
Humedad	8.509 ± 0.524
Cenizas	0.059 ± 0.010
Lípidos	0.419 ± 0.043
Proteína	0.969 ± 0.015

Media aritmética de tres repeticiones ± error estándar.

Para la determinación de la pureza del almidón se consideró el contenido de cenizas, lípidos, proteínas y % de humedad. Las leguminosas contienen entre 30 a 50 % de su peso seco de almidón y los porcentajes varían entre las distintas especies [120], Tovar et al. [121] reportaron el rendimiento de almidón de frijol común de 38 %, Vargas et al. [122] reportan rendimientos de cuatro variedades de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.): flor de mayo 34.70, Mayocoba 40.24, frijol negro 36.3 y peruano 42.81 %. Miranda-Villa et al. [120] reportan un rendimiento de 15 % en frijol zaragoza (*Phaseolus lunatus* L.) variedad roja. Las diferencias encontradas en las diferentes variedades en el rendimiento de almidón se puede deber al método

de extracción y al equipo utilizado durante la molienda [120]. En otros reportes se informó que el rendimiento del almidón puede estar en función de la composición genética de la fuente, del medio de siembra y del método de extracción [123].

Sun-Jin et al. [124] reportaron contenidos de humedad entre 8.16 a 8.51 % en almidón de frijol mungo. Se ha reportado que el contenido de humedad de un almidón depende del procedimiento de extracción y secado [125]. En el presente trabajo, el frijol fue extraído por el método de molienda húmeda y secado a una temperatura de 40 °C durante un tiempo de 24 h. Maaran et al. [126] reportaron contenidos de ceniza entre 0.06 y 0.58 %, lípidos de 0.03 a 0.12 % y un rendimiento de 24.3 a 29.9 % en almidones de diferentes especies de semillas de frijol. Wenhao et al. [127] reportaron contenidos de proteínas de 0.39 a 0.52 %, lípidos de 0.05 a 0.07 % y cenizas entre 0.02 a 0.12 % en almidones de semillas de diferentes especies de frijol cultivadas en china, obteniendo rendimientos de almidón de 93.28 a 96.32 %. La composición química de los almidones podría estar influida por las condiciones climáticas y de crecimiento [125]. De acuerdo a lo reportado, los resultados de análisis proximal y rendimiento de almidón dependen de la parte de la planta que se considere; semilla o producto.

7.2. Contenido de humedad y solubilidad en las películas

La solubilidad es una propiedad esencial en la selección adecuada de empaques de los alimentos y está relacionada con la hidrofiliidad de los materiales [128]. En la industria alimentaria, se requieren empaques con buena insolubilidad al agua

para prolongar la vida de anaquel de los productos alimenticios [129,130,131]. El contenido de humedad en un empaque tipo película, es un parámetro relacionado con el volumen vacío total ocupado por moléculas de agua en la microestructura de la red de la película [128-132].

Los resultados de humedad y solubilidad de los productos obtenidos en el presente trabajo se muestran en la Figura 9.

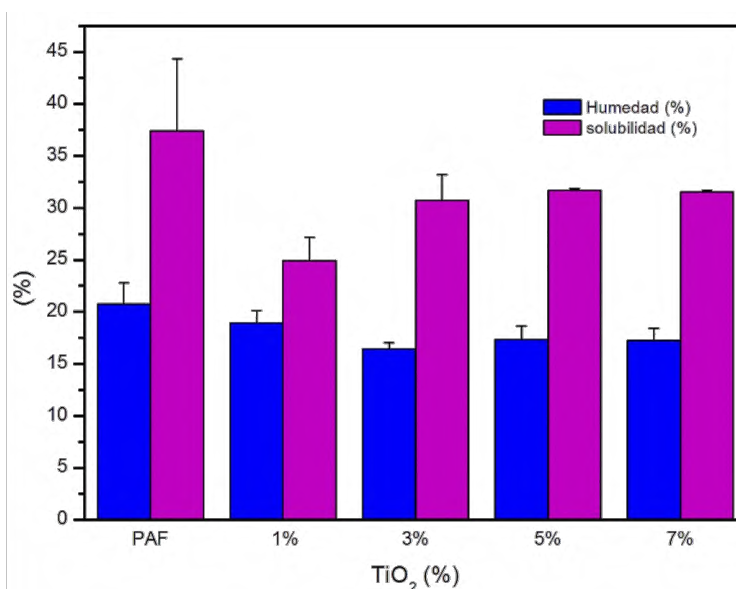


Figura 9. Contenido de humedad y solubilidad en las películas de almidón/TiO₂.

Los datos obtenidos por el método estadístico ANOVA muestran que no se encontró diferencia estadística a un nivel de significancia de $\alpha=0.05$. Se muestran cambios en contenido de humedad y % de solubilidad en las películas con TiO₂ con respecto a la película de almidón de frijol (PAF). En ambos casos, los valores de humedad y solubilidad de las películas con TiO₂ son menores que el valor de la PAF. En las

películas de almidón de frijol compuestas Almidón/TiO₂ se disminuye la humedad de 20.78 % a 16.44 % con el 3 % de TiO₂. La solubilidad disminuye de 37.43 % a 24.94 % con 1 % de TiO₂. A pesar de que en todas las películas de almidón/TiO₂ disminuyen, los parámetros de humedad y solubilidad lo hacen favorablemente a menores concentraciones de TiO₂ (1 y 3 % en peso). Este comportamiento está relacionado con la dispersión de las partículas de TiO₂ sobre la matriz polimérica de almidón, tal como se observa y discute en el análisis de morfología por MEB. Las partículas de TiO₂ a grandes concentraciones provocan cambios en la estructura cristalina de las películas dando como resultado aumentos en la solubilidad [133]. Se le puede atribuir a esto los aumentos de solubilidad al aumentar las concentraciones de TiO₂ pero aún siguen siendo más bajos que la película de solo almidón. Generalmente, la absorción de humedad en películas de almidón se atribuye a la fuerte afinidad de los hidroxilos del glicerol con las moléculas de agua, permitiendo la retención fácilmente del agua dentro de la matriz polimérica formando enlaces de hidrógeno (O-H) [134-135]. El glicerol actúa como un agente retenedor de agua [131]. García et al. [42] reportaron que debido a su carácter hidrofílico el glicerol incrementa la humedad y solubilidad de películas de almidón. Al mismo tiempo, las películas de polisacáridos por si solas tienen la característica de ser hidrofílicas y por lo tanto presentar propiedades de barrera a la humedad muy bajas [136-86].

Los resultados de disminución de contenido de humedad en los productos Almidón/TiO₂ mostrados en la Figura 9 se deben a la baja hidrofiliidad de las

partículas de TiO_2 que están incorporadas en el almidón. Resultados similares fueron obtenidos por Zolfi et al. [132] en películas de Kefiran-proteína de suero de leche con partículas de TiO_2 . La disminución de la solubilidad en las películas se le puede atribuir a la propiedad del TiO_2 (baja solubilidad). Resultados similares se obtuvieron al agregar nanopartículas de TiO_2 en películas de almidón de papa [137], adición de nanopartículas de TiO_2 a almidón-polycaprolactone [138], kefiran-proteína de suero de leche (WPI) [132], películas de PVA-xilano con TiO_2 [139].

7.3. Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier

La Figura 10 muestra los espectros de las películas donde se observa el estiramiento de banda a 3279 debido a las vibraciones de los grupos OH del almidón y glicerol, la banda de 2925 cm^{-1} es atribuible al estiramiento, flexión y vibraciones de C-H y C-C-H asociados con el anillo de glucopiranososa. Se puede observar la presencia de agua enlazada principalmente con el carbonilo del almidón ya que se observa una banda en 1647 cm^{-1} , se observa una banda correspondiente a los grupos carboxilos a 1338 cm^{-1} , también se observa una banda intensa 1000 cm^{-1} debido al estiramiento de enlace C-O, la espectroscopia de infrarrojo se realizó con la finalidad de observar algún enlace del almidón con el dióxido de titanio (TiO_2) como se observa en la Figura 10 no se aprecia cambio alguno en las bandas debido a que el almidón y el TiO_2 no hacen ningún tipo de enlace. El TiO_2 tiene atracciones polares e interacciones por efecto electrostático. Pueden tener una interacción entre la matriz polimérica del almidón/glicerol/ TiO_2 de Van der Waals débiles o enlaces de hidrógeno entre las especies hidroxilos del glicerol y átomos de oxígeno de TiO_2

[140-141]. Una posibilidad más podría ser la adsorción química entre el hidroxilo del glicerol y la superficie de TiO_2 [142].

Cabrera et al. [143] durante un estudio de películas de alcohol polivinílico con TiO_2 reportan no haber encontrado interacciones químicas entre el TiO_2 y el polialcohol vinílico por IR. Los mismos resultados obtienen en películas de butiral de polivinilo con TiO_2 [144].

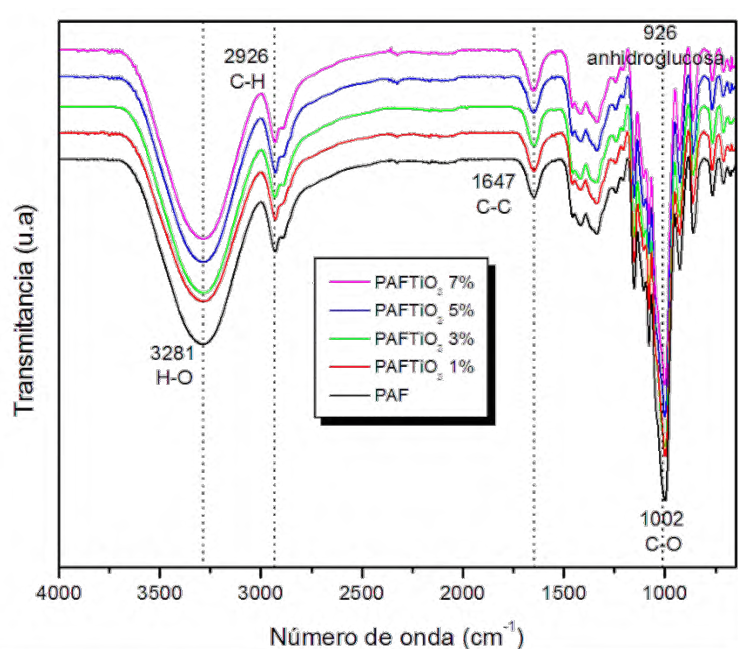


Figura 10. IR de las películas de frijol adicionadas con TiO_2 a concentraciones del 1 % (rojo), 3 % (verde), 5 % (azul) y 7 % (rosa).

7.4. Difracción de rayos X (DRX)

El difractograma obtenido de las películas se muestra en la Figura 11 con diferentes contenidos de TiO_2 .

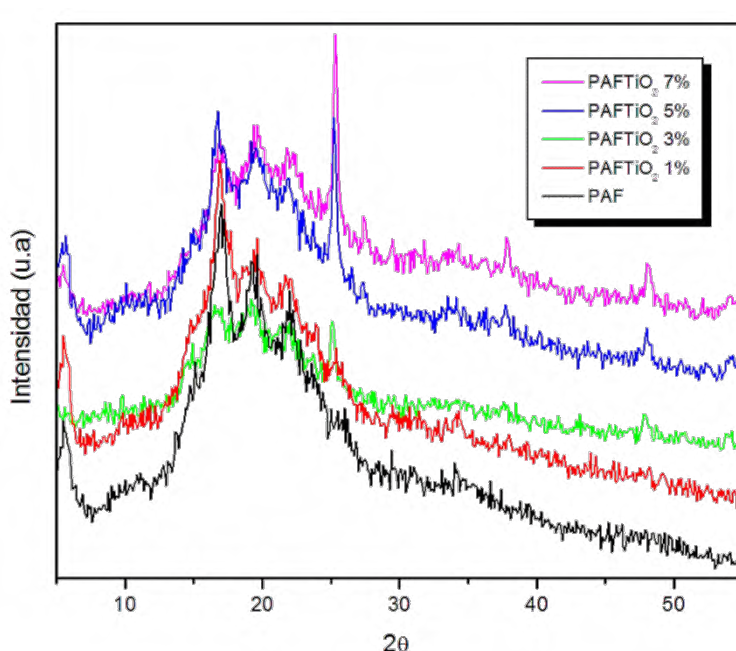


Figura 11. Difracción de rayos X de las películas a diferentes concentraciones de TiO_2 .

La película nativa (PAF) y las películas con TiO_2 muestran picos a un ángulo $2\theta = 5.6, 17, 19$ y 23° los cuales corresponden a un patrón tipo C que es una mezcla de espectros tipo A y B y es característico del almidón de las leguminosas (ver Figura 3). Los picos correspondientes al TiO_2 se observaron a $2\theta = 25.2^\circ, 37.9^\circ$ y 48° , los cuales corresponden a la fase anatasa, siendo más intenso el $2\theta = 25.2^\circ$. La fase rutilo se logra observar a $2\theta = 27.5^\circ$.

El TiO_2 provoca cambios en las películas: puede apreciarse que el pico $2\theta = 5.6^\circ$ desaparece con el 3 % provocando un cambio de patrón de C a A correspondiente a los cereales, en el pico $2\theta = 17^\circ$ (los picos 19 y 23° también son más anchos y menos intensos en comparación a los picos de la película sin TiO_2) muestra cambios

en anchura e intensidad observándose más notable con 3 % de TiO₂ este cambio se cree que puede deberse a la interacción entre los grupos OH del polímero y las partículas de TiO₂ como se ha mencionado en otros estudios [82], al mismo tiempo el pico $2\theta = 25.2^\circ$ (los picos 37.9 y 48° también incrementan en la concentraciones del 5 y 7 % de TiO₂) incrementa su intensidad al aumentar las concentraciones de TiO₂ [145-146].

Hejri et al. [147] En un estudio de películas biodegradables de almidón/ poli (alcohol vinílico) reforzadas con TiO₂, en los resultados de DRX observan que desaparece la cristalinidad del tipo A del almidón de maíz y aparece la cristalinidad tipo V. La adición de nanopartículas en almidón puede cambiar la morfología cristalina, forma del cristal y tamaño del cristal. Estas diferencias en la morfología del cristal pueden afectar las propiedades mecánicas y físicas del almidón [106,148,149].

7.5. Microscopia electrónica de barrido (MEB)

La microscopia electrónica de barrido se empleó para observar la superficie de las películas, así como la homogeneidad de las partículas de TiO₂. En la Figura 12 se muestra la morfología obtenida por MEB a diferentes contenidos de TiO₂. Se puede observar aglomerados de las nanopartículas de TiO₂, los cuales aumentan al incrementar la concentración de TiO₂. En la Figura 12a con TiO₂ al 1 % los aglomerados son ligeros comparados con la Figura 12d que contiene 7 % de TiO₂, donde se observan aglomerados en forma de racimos. En la Figura 12a, los aglomerados son pequeños alrededor de 500 nm y las partículas miden alrededor

de 35 a 40 nm, estos valores son similares a los reportados anteriormente para TiO_2 dispersado en hule natural [141]. En la Figura 12b, donde la película contiene 3 % de TiO_2 hay una buena distribución de aglomerados, pero una mala dispersión de nanopartículas de TiO_2 . En la Figura 12c con un contenido de 5 % de TiO_2 se observa buena distribución y una mala dispersión de aglomerados. Los tamaños de los aglomerados son diversos, alrededor de 500 nm y otros de 100 nm aproximadamente. En la Figura 12d, la cual contiene 7 % de TiO_2 se puede apreciar que a mayores cantidades de TiO_2 se forman aglomerados (tipo racimos) más grandes. Por lo tanto, no es conveniente agregar TiO_2 a concentraciones mayores a 5 %. Seentrakoon et al. [150] reportaron que a concentraciones bajas de TiO_2 se puede obtener una mejor dispersión. Las partículas de TiO_2 puede reforzar el polímero si se dispersa adecuadamente [147].

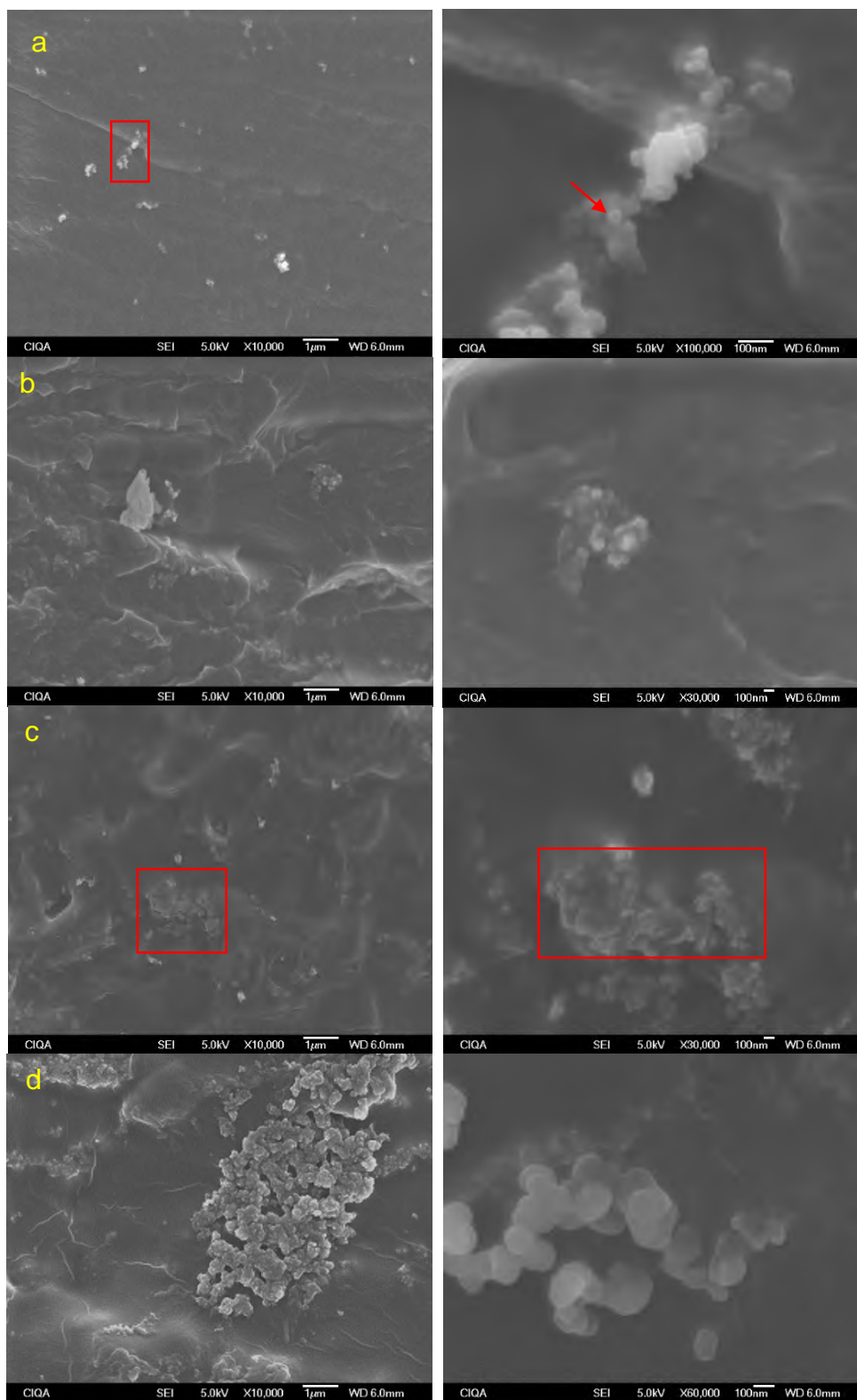


Figura 12. MEB de las películas de almidón/TiO₂: a) PAFTiO₂ 1 % b) PAFTiO₂ 3 % c) PAFTiO₂ 5 % d) PAFTiO₂ 7 %.

En la Figura 13a se observa que a una magnificación de 1000x no se muestran los aglomerados de TiO_2 . Sin embargo, a mayor magnificación (Figura 13b) es posible ver pequeños aglomerados de las partículas. Al aumentar la concentración a 7 % si son observables los aglomerados de TiO_2 a bajas magnificaciones, tal como se muestra en la Figura 13c. En la Figura 13b también se pueden observar fracturas del almidón. Sin embargo, es notorio que los aglomerados de TiO_2 se anclan al almidón a pesar de las fracturas. Esto puede estar ocurriendo durante el proceso de gelatinización.

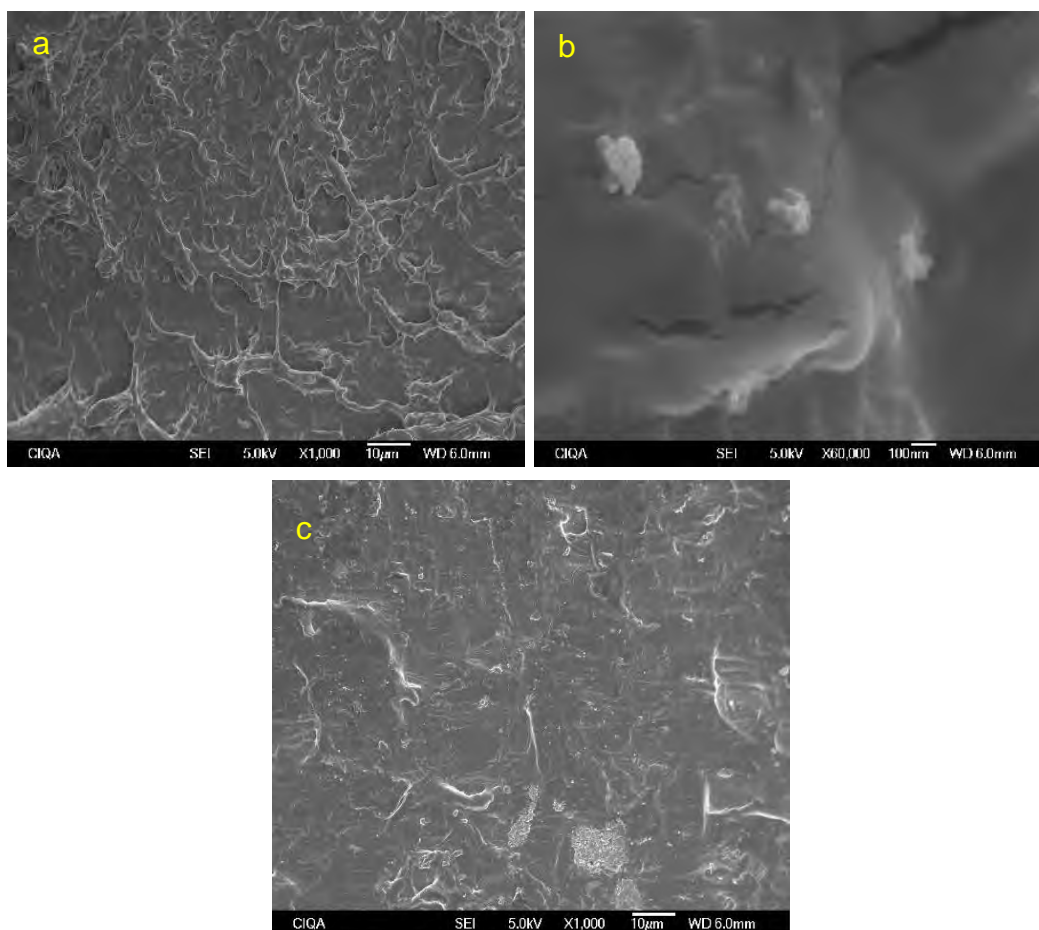


Figura 13. MEB PAFTiO₂ 5 % (a, b), PAFTiO₂ 7 % (c).

El dióxido de titanio tiende aglomerarse debido a las fuerzas de atracción de Van der Waals atrayéndose entre sí las partículas de TiO_2 consecuentemente aglomerándose observándose este fenómeno en las micrografías de las películas (Figura 12-13), por otro lado, una buena dispersión de partículas manométricas en la matriz polimérica conlleva a obtener un mejoramiento en el módulo de Young (módulo de elasticidad), mayor estabilidad térmica y mejores propiedades de barrera en comparación con los biopolímeros puros [151].

7.6. Análisis termogravimétrico (TGA)

Los resultados obtenidos del análisis termogravimétrico de las películas de almidón de frijol con dióxido de titanio se muestran en la Figura 14. Los termogramas muestran la pérdida de peso en función de la temperatura de degradación del biopolímero elaborado. La primer pérdida de peso es alrededor del 10 % respecto al contenido de humedad inicial en las muestras [152], ocurre entre 30 y 150 °C lo cual se debe a la eliminación del agua en el sistema [153], esto indica que el agua que estaba absorbida en la película fue puesta en libertad o agua cristalina dado que las películas eran hidrofílicas [133], la segunda se presenta entre un rango de 150 y 250 °C correspondiente al glicerol y a algunas moléculas de agua [154], con un porcentaje de pérdida del 16 %, la tercer pedida de peso es alrededor de 250 y 400 °C con una pérdida del 87 % de peso, por último se obtiene el residuo carbonoso a una temperatura de 690 °C (para PAF: 5.5, 1 %: 8.1, 3 %: 9.0, 5 %: 8.5, 7 %: 10) este se le atribuye a la degradación total. En el estudio de la derivada del análisis termogravimétrico del material se encontró que la temperatura a la que presentó la

mayor rapidez de pérdida de peso fue de 330 °C como se muestra en la Figura 15 se encuentran los picos de pérdida de peso: el primer pico máximo se observa a los 100 °C, el segundo es notorio para las películas que contienen TiO₂ (1,3, y 5 %) a los 200 °C, el tercer pico es a los 300 °C para las películas con 3, 5 y 7 %, a los 330 °C el pico donde ocurre la mayor temperatura de degradación.

En las gráficas se observa que primeramente en las muestras ocurre una deshidratación por evaporación al alcanzar la temperatura alrededor de los 100 °C el porcentaje de pérdida de peso depende del contenido de humedad de la muestra [155-156], posteriormente alcanzan la temperatura de descomposición a la temperatura de 300 °C. La deshidratación y la descomposición en general han sido consideradas como dos procesos separados asociados con los mecanismos de degradación del almidón [55].

Morsyleide et al. [157] reportaron la temperatura de degradación máxima del almidón a 301 °C. Guinesi et al. [158] estudiaron el comportamiento térmico de diferentes almidones: maíz, arroz, papa y yuca obteniendo la temperatura de degradación entre 274 y 374 °C. Puede estar relacionado con la degradación y despolimerización de los almidones [159]. En otros estudios reportan la temperatura de descomposición térmica de 320 °C en almidón de maíz, describen que cuando mayor sea el contenido de amilopectina, mayor será la temperatura de descomposición [152]. La amilopectina está presente en el almidón en mayor porcentaje lo que induce una degradación térmica fácil debido a los enlaces débiles

de la cadena ramificada [160]. La descomposición del almidón ocurre después de los 300 °C provocando primeramente un cambio estructural en el polímero generando pirodextrinas como productos. A temperaturas más altas, sucede la descomposición de las macromoléculas obteniéndose la formación de levoglucosano, furfural finalmente se obtienen los productos carbonosos de menor peso molecular [159-161].

En las muestras analizadas se encontró que a mayor concentración de TiO₂ las películas adquieren mayor estabilidad térmica. El TiO₂ proporciona una mayor resistencia a la degradación térmica [145] otros investigadores también han observado aumento en la estabilidad térmica del polímero debido al efecto de TiO₂ [162]. Hassan et al. [163] informaron un aumento en la estabilidad térmica de PP/TiO₂ nanocompuesto con una temperatura 320.16 °C de descomposición térmica.

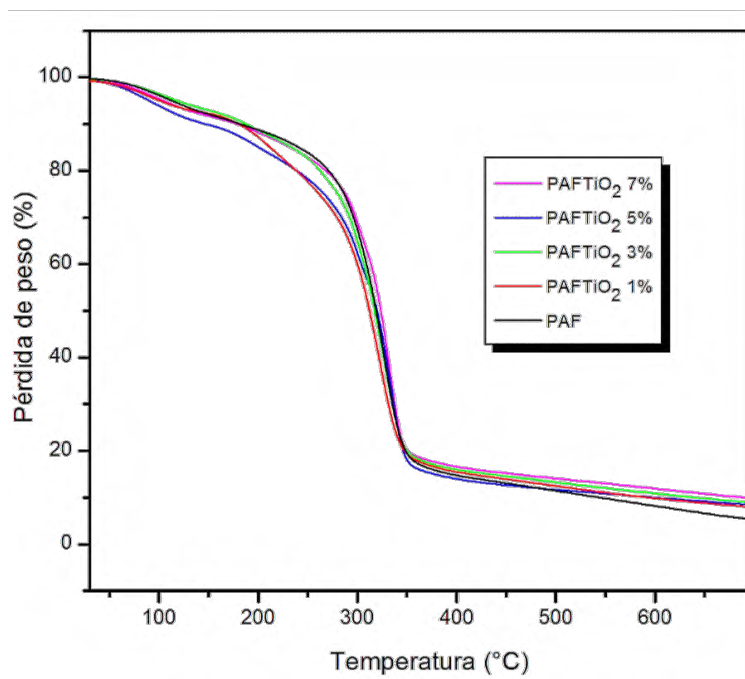


Figura 14. Termograma de las películas con diferente concentración de TiO₂.

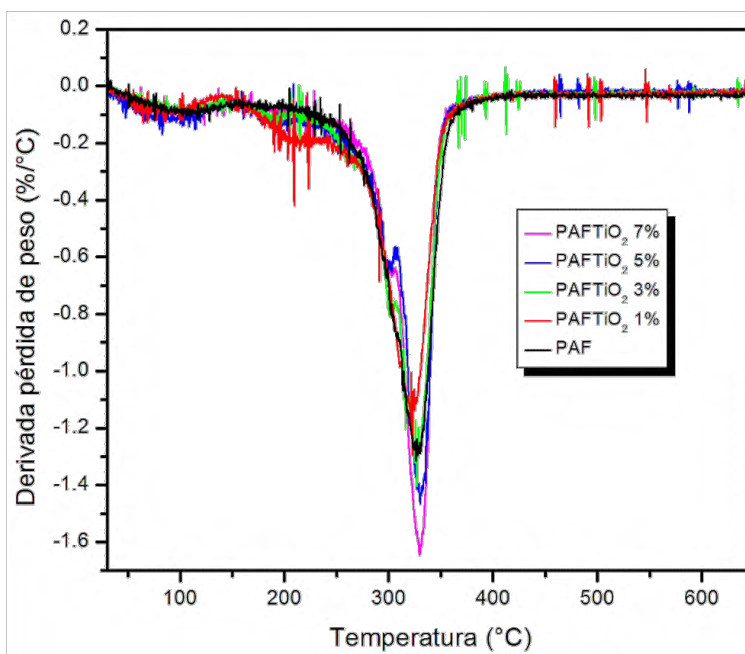


Figura 15. DTG de las películas con diferentes porcentajes de TiO₂.

7.7. Propiedades mecánicas de las películas

Los materiales deben de poseer propiedades mecánicas adecuadas para proteger al producto contra una variedad de tensiones hasta que el producto sea consumido [164]. En la Figura 16 se reportan los datos obtenidos de las pruebas mecánicas de las películas de almidón de frijol con los diferentes porcentajes de TiO_2 . La tensión a la fractura (TF) en la PAF fue 18.92 MPa, sin embargo, al agregar el TiO_2 en la película incrementa la TF en el intervalo de 21.54 a 29.36 MPa cuando la concentración de TiO_2 en la matriz va de 1 a 7 %, respectivamente. Estos resultados indican que se mejora la resistencia mecánica de las películas de almidón.

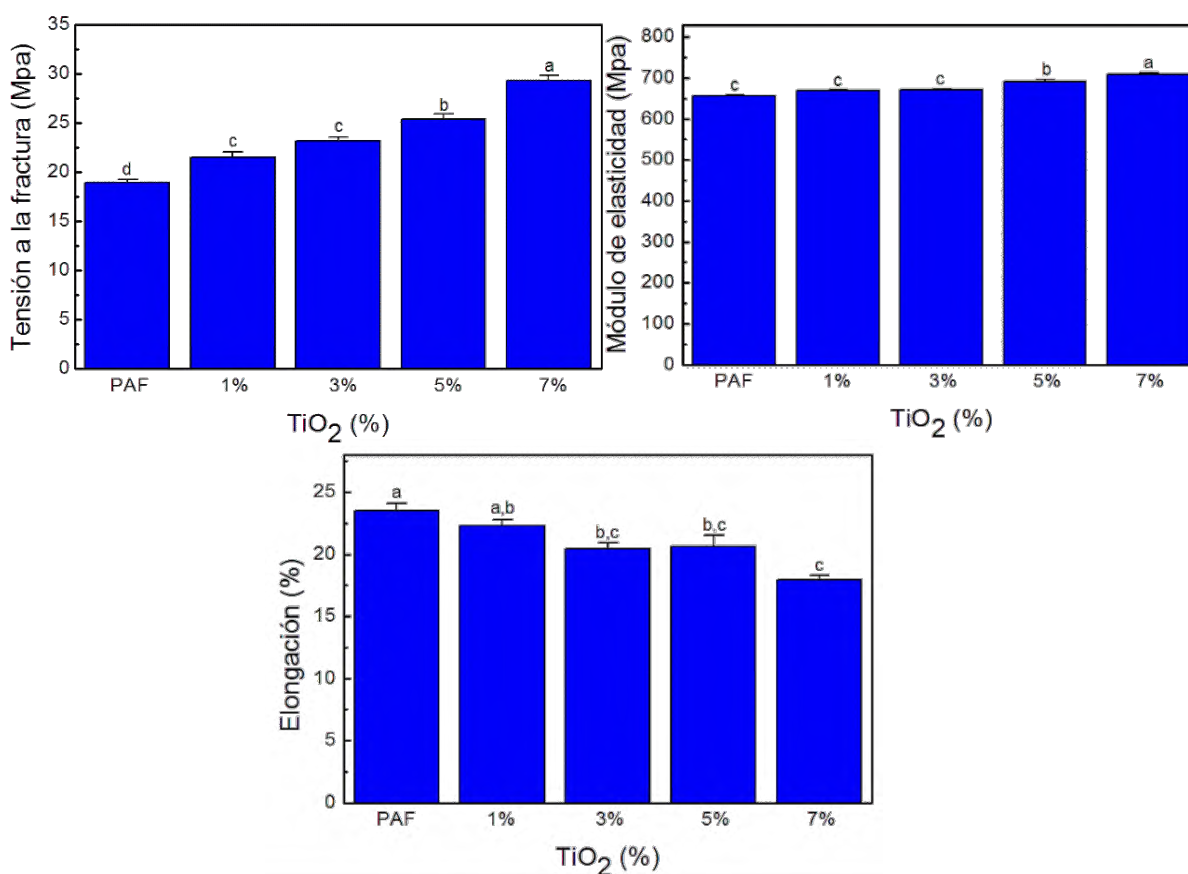


Figura 16. Resultados de pruebas mecánicas de las películas de almidón/ TiO_2 .

Todas las películas con dióxido de titanio mostraron mayor tensión a la fractura que las películas de solo almidón se le pueden atribuir a la interacción del TiO_2 con la matriz polimérica. El módulo de elasticidad es la relación del esfuerzo a la tensión en la región lineal de la tensión deformación [165]. El ME de la PAF es de 656.21 MPa, al agregar el dióxido de titanio e incrementara 7 % aumenta el ME a 708.62 MPa. Al aumentar las concentraciones de TiO_2 el ME aumenta, el módulo aumenta para un polímero cuando se le incorpora cualquier relleno [165]. Ocurre lo contrario en el porcentaje de elongación (% E) ya que hay una disminución 23.50 a 17.96 % cuando se aumenta la cantidad de TiO_2 , este comportamiento puede ser atribuido a la disminución de la plastificación por las nanopartículas. El TiO_2 puede actuar como un anti-plastificante mediante el aumento de las interacciones, reduciendo el volumen libre entre las cadenas del biopolímero, y la disminución de la flexibilidad de las películas [164]. El TiO_2 mejora la rigidez de la cadena molecular y reduce la elasticidad de la cadena, cuando la fuerza a la tracción es lo suficiente grande, no sufre demasiada deformación por lo tanto el TiO_2 disminuye el alargamiento a la rotura de las películas [166]. Hubo disminución en el % E y aumentos de ME y TF al agregarse el dióxido de titanio, mismos resultados obtuvieron Shaili et al. [167]. Este fenómeno también puede ser debido a dos razones, una de las razones se relaciona con el contenido de humedad de las películas, el agua puede realizar una función de plastificación en la matriz de la película, la disminución del contenido de

humedad disminuye la flexibilidad de las películas. Por lo tanto, disminuye de este modo el % E y aumenta el ME y TF [167- 168].

La segunda razón se relaciona con la interacción interfacial entre la matriz polimérica y los rellenos [168-169]. Shaili et al. [167] en el estudio del desarrollo de un biocompuesto de polisacárido de soja reforzado con TiO₂ observó un incremento en la TF y ME después de la adición de 5 % de TiO₂. Zhang et al. [170] Elaboraron una película de quitosano con laurato de sodio modificado con TiO₂ obteniendo como resultado un aumento de la TF de 14.32 a 18.04 MPa. La presencia de las partículas de TiO₂ ha demostrado la mejora de las propiedades mecánicas [171]. Müller et al. [169] hacen un estudio de la influencia que aporta la incorporación de arcilla en películas de almidón de yuca donde reportan que la incorporación de arcilla mejoró la resistencia a la tracción y la rigidez de la película.

7.8. Permeabilidad al vapor de agua (PVA)

Una de las funciones principales del envasado de alimentos es evitar o reducir la transferencia de humedad entre el alimento y la atmosfera circundante. Por lo tanto, la permeabilidad al vapor de agua (PVA) debe ser tan baja como sea posible, con el fin de mejorar el empaque y aumentar el tiempo de conservación del producto alimenticio [172]. La PVA se relaciona con los trayectos del vapor de agua en la microestructura de la red [128].

Los resultados de la PVA se muestran en la Figura 17.

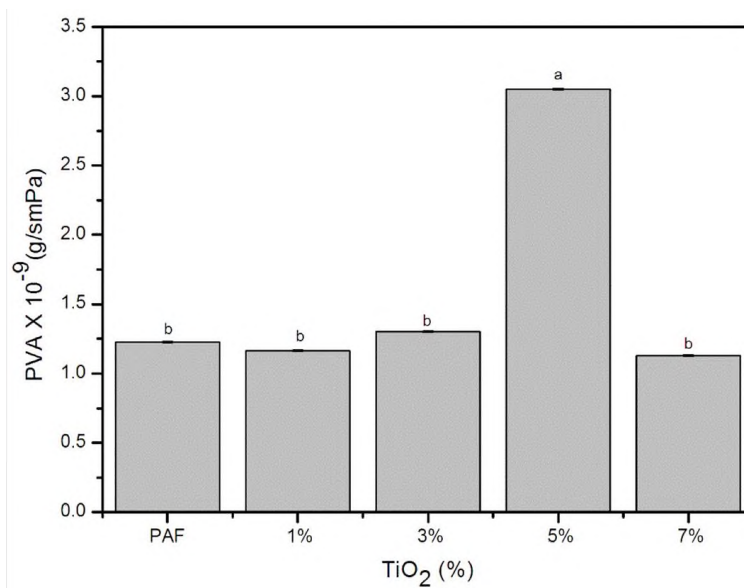


Figura 17. PVA de las películas de Almidón/TiO₂ a diferentes concentraciones de TiO₂.

Los resultados indicaron en la mayoría de los casos se observaron ligeras variaciones con la presencia de TiO₂. Contrariamente, con 5 % el cambio es muy evidente pasando de 1.228×10^{-9} g/s.m.Pa a 3.050×10^{-9} g/s.m.Pa. Esto se puede deber a cambios morfológicos en la muestra. Un gran tamaño de aglomerados de partículas de TiO₂ a mayores porcentajes (5 %) podrían permitir la transferencia o incorporación de moléculas de agua, como se confirma en los resultados de MEB.

Las propiedades de barrera al vapor de agua mejoran si la carga es menos permeable, menos hidrófila, presenta buena dispersión en la matriz y una alta relación de aspecto [171-173]. El-Wakil et al. [174] reportan una mejora en los resultados de PVA al 1 % de TiO₂, expresando que se puede deber a la combinación de nanopartículas de TiO₂ con WG/CNC (gluten de trigo-nanocristales de celulosa), lo cual evitó que las moléculas de agua se absorbieran. Junli et al. [139] obtienen

disminuciones en la PVA en películas de PVA/xylan con TiO_2 . Por otra parte, en un estudio de películas de gelatina bovina reforzadas con TiO_2 la PVA decrece al incorporar el TiO_2 [175]. En otros reportes al introducir el TiO_2 en proteína de suero [86] y en kefiran-proteína de suero [132], obtienen efectos positivos en la permeabilidad al vapor de agua.

7.9. Determinación del comportamiento antimicrobiano de las películas

7.9.1. Curva de crecimiento

En la Figura 18 se muestra la curva de crecimiento de la determinación de proteínas mediante el método de Lowry [119]. La proteína se relaciona al crecimiento, por lo que un incremento en la cantidad de proteína en el paquete celular indica que hay mayor concentración de células. La fase logarítmica o exponencial de la bacteria *Staphylococcus aureus* en la que las células se duplican al mismo ritmo fue encontrada en el tiempo de 2 horas 30 min.

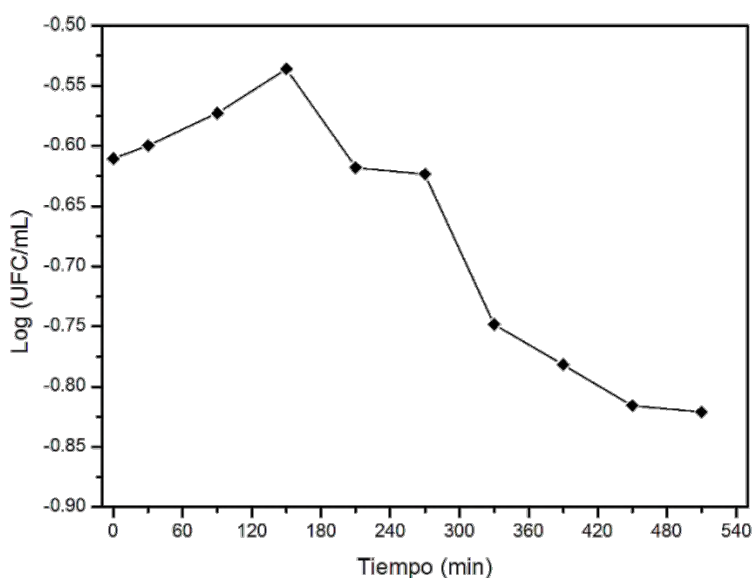


Figura 18. Curva de crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus*.

7.9.2. Radiación de las películas

Tabla 3. Resultados de las películas expuestas a luz UV durante 60 min.

Película	UFC/ML	Supervivencia (%)	Reducción (%)
PAF	2.53x10 ⁸	107.66 ± 1.280 ^a	-7.66 ± 1.276 ^b
PAFTiO ₂ 1%	2.20x10 ⁸	93.4 ± 1.061 ^b	6.596 ± 1.063 ^d
PAFTiO ₂ 3%	6.20x10 ⁷	26.38 ± 0.849 ^d	73.617 ± 0.851 ^a
PAFTiO ₂ 5%	1.13x10 ⁸	47.87 ± 0.212 ^c	52.128 ± 0.213 ^c
PAFTiO ₂ 7%	4.90x10 ⁷	20.85 ± 1.280 ^d	79.149 ± 1.276 ^a

Media aritmética de duplicaciones ± error estándar. Letras iguales en la misma columna indican que no hay diferencia estadística a un nivel de significancia de $\alpha=0.05$.

En la Tabla 3 se muestran los resultados de UFC/mL y el porcentaje de reducción de *Staphylococcus aureus* en las películas a una radiación de 385 nm con un tiempo de exposición de 60 min, se puede observar que los mejores tratamientos donde se obtuvo mayor porcentaje de reducción microbiana fue en las películas PAFTiO₂ 3 % (73.61) y PAFTiO₂ 7 % (79.15), mientras que la película PAFTiO₂ 1 % presentó menor % de reducción microbiana 6.59, esto se puede deber que las películas no presentan actividad antimicrobiana a bajas concentraciones de dióxido de titanio. En la PAF se observa que no presenta reducción debido a que la película no presentó actividad antimicrobiana mostrando un aumento en el porcentaje de sobrevivencia de 107.66. La actividad antimicrobiana depende de la distribución de las partículas del dióxido de titanio en la película, ya que si hay una buena distribución del TiO₂ en la matriz polimérica del almidón habría mayor disponibilidad de las partículas para la interacción con las bacterias. Estrada-Monje et al. [176] obtuvieron películas de polietileno de baja densidad adicionadas con TiO₂ por el

método de disolución asistida por ultrasónico concluyendo que mediante el ultrasonido se mejoran las propiedades antibacteriales del TiO_2 , ya que mediante este método obtuvieron un mejoramiento en la dispersión, por lo tanto, mayor disponibilidad de las nanopartículas en la matriz polimérica para interactuar con las bacterias. Xing et al. [177], Elaboraron películas de polietileno incorporadas con TiO_2 obteniendo alta inhibición de *S. aureus* (95.2 %) y *E. coli* (89.3 %), con un tiempo de exposición de la película de 60 min a la luz UV.

Algunos mecanismos que se han reportado hasta el momento para explicar la muerte de las bacterias por fotoactivación del dióxido de titanio es lo descrito por Rezaei-Zarchi et al. [178], quienes explican que uno de los mecanismos por el cual puede explicarse la actividad antimicrobiana es la interacción entre las partículas del TiO_2 y las macromoléculas de la bacteria como fosfolípidos, lipoproteínas y ácidos nucleicos. La interacción entre ambas provoca la permeabilidad de la membrana y la muerte celular. Este mecanismo indica que el microorganismo tiene carga negativa, mientras que el TiO_2 tiene una carga positiva, creando una atracción entre ellos, que estando en contacto, la bacteria es oxidada provocando su muerte. Las especies de oxígeno reactivo (ROS), como el peróxido de hidrógeno, el radical hidroxilo y los aniones superóxido, generados en la superficie de TiO_2 irradiada promueven inicialmente la peroxidación del componente de fosfolípidos poliinsaturados del lípido del microorganismo [106]. Kuhn et al. [179] describen que la destrucción microbiana se produce a través del daño directo a las paredes celulares causado por el radical hidroxilo (OH^\cdot).

viii. CONCLUSIONES

Se obtuvieron películas de almidón de frijol/TiO₂ a diferentes concentraciones de dióxido de titanio por el método de casting (vaciado en placa).

Se aisló el almidón de frijol obteniendo un rendimiento del 50.94 % en base seca.

Se determinó la humedad y la solubilidad de las películas, obteniendo una disminución al agregar el dióxido de titanio.

Se realizó la caracterización estructural mediante rayos X, en la cual las películas presentan un patrón de difracción tipo C. en los análisis de rayos X se obtuvieron cambios en la estructura cristalina de las películas de almidón al agregar el TiO₂ (mayor cristalinidad y cambio de patrón presentando un tipo A en la película PAFTiO₂ 3 %).

Se obtuvo una dispersión homogénea en las películas posiblemente por interacciones débiles generando compatibilidad en los componentes. FTIR evidenció que no hubo nuevos grupos funcionales formados por enlaces químicos entre el TiO₂ y almidón.

Las propiedades mecánicas de tensión a la fractura y módulo de Young aumentan al incrementar las concentraciones de dióxido de titanio, mientras que el % de elongación disminuye.

La adición de TiO_2 al 5% no favoreció la disminución de PVA debido a una aglomeración de las partículas como se mostró en los resultados de MEB.

Las imágenes de microscopia electrónica de barrido muestran que se obtuvo una buena distribución y mala dispersión lo cual nos dice que por más grande o pequeña que sea el contenido de TiO_2 habrá aglomerados.

Las películas de almidón/ TiO_2 demostraron una reducción en la bacteria *Staphylococcus aureus*.

ix. RECOMENDACIONES

Recomendaciones para investigaciones futuras:

Utilizar las partículas de TiO_2 en menor tamaño para obtener películas con una mejor distribución y dispersión.

Aplicar o probar otros métodos de dispersión del TiO_2 para la obtención de películas con mejor dispersión y distribución del TiO_2 como: sonicación.

Determinar la propiedad de barrera contra el oxígeno (ya que esta propiedad es de suma importancia para retardar los procesos oxidativos en los alimentos).

Realizar pruebas antimicrobianas *in vitro in vivo* utilizando diversos patógenos alimenticios.

x. REFERENCIAS

1. Rincón A.M., Rached L.B., Aragoza L.E., Padilla F. Efecto de la acetilación y oxidación sobre algunas propiedades del almidón de semillas de fruto de pan (*Artocarpus altilis*). Archivos latinoamericanos de nutrición 2007; 57:287-294
2. Santana A. L., Meireles M. A. A. New starches are the trend for industry applications. Food and Public Health 2014; 4:229-241
3. Jane J.L., Kasemsuwan T., Leas S., Zobel H., Robyt J.F. Anthology of starch granule morphology by scanning electron microscopy. Starch Stärke 1994; 46:121-129
4. Lineback D. R. The starch granule organization and properties. Bakers Digest 1984; 13:16-21
5. Guilbot A., Mercier C. Starch. In: The Polysaccharides. Aspinall (Ed.). Academic Press, New York, USA 1985; 209-282
6. Zavareze E., Guerra Días A. Impact of heat–moisture treatment and annealing in starches. Carbohydrate Polymers 2011; 83:317-328
7. Hoover R., Hughes T., Chung H.J., Liu Q. Composition, molecular structure, properties and modification of pulse starches. Food Research International 2010; 43:399-413
8. Ruiz A.G. Obtención y caracterización de un polímero biodegradable a partir del almidón de yuca. Ingeniería y Ciencia 2006; 4:5-28
9. Van der Maarel M.J., Van der Veen B., Uitdehaag J.C., Leemhuis H., Dijkhuizen L. Properties and applications of starch-converting enzymes of the alpha-amylase family. Journal of Biotechnology 2002; 94:137-155
10. You S., Stevenson S.G., Izydorczyk M.S., Preston K.R. Separation and characterization of barley starch polymers by a flow field-flow fractionation technique in combination with multiangle light scattering and differential refractive index detection. Cereal Chemistry Journal 2002; 79:624-630
11. Moorthy S.N. Physicochemical and functional properties of tropical tubers starch. Starch Staerke 2002; 54:559-592
12. Biliaderis C.G. La estructura e interacciones del almidón con los constituyentes de los alimentos. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology 1991; 69: 60-78

13. Zobel H.F. Molecules to granules: A comprehensive. *Starch Stärke* 1988; 40:1-7
14. Imberty A., Buleon A., Tran V., Pérez S. Recent advances in knowledge of starch structure. *Starch Stärke* 1991; 43:375-384
15. McPherson A.E., Jane J. Characteristics of selected tuber and root starches. *Cereal Foods World* 1997; 42:668
16. Cameron R.E., Donald A.M. study of the absorption of water into the starch granule. *Carbohydrate Research* 1993; 244,225-236
17. Tester R.F., Karkalas J. Starch-composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science* 2004; 39:151-165
18. Jenkins P.J., Cameron R.E., Donald A.M. *Starch Staerke* 1993; 45:417
19. Greenwood C.T. Starch: In advances in cereal science and technology. American association of cereal chemistry: 1976; 1:119-157
20. Rodríguez P., San Martín M.E., Gonzáles de la Cruz G. Calorimetría diferencial de barrido y rayos-X del almidón obtenido por nixtamalización fraccionada. *Sociedad Mexicana de Ciencia de Superficies y de Vacío* 2001; 13:61-65
21. Hoover, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. *Carbohydrate Polymers* 2001; 45:253-267
22. Jiménez A., Fabra M.J., Talens P., Chiralt A. Edible and biodegradable starch films: A Review. *Food Bioprocess Technology* 2012; 5:2058-2076
23. Zhong F., Li Y., Ibanz A. M., Oh M. H., Mckenzie K.S., Shoemaker C. The effect of rice variety and starch isolation method on the pasting and rheological properties of rice starch pastes. *Food Hydrocolloids* 2009; 23:406–414
24. Carvalho A. J. F. (2008). Starch: major sources, properties and applications as thermoplastic materials. In M. N. Belgacem & A. Gandini (Eds.), *Monomers, polymers and composites from renewable resources* (pp. 321–342). Amsterdam: Elsevier
25. Ratnayake, W. S., Jackson D. S. A new insight into the gelatinization process of native starches. *Carbohydrate Polymers* 2007; 67:511–529
26. Meneses J., Corrales C.M., Valencia M., Síntesis y caracterización de un polímero biodegradable a partir del almidón de yuca. *Revista de la Escuela de Ingeniería de Antioquia* 2007; 8:57-67

27. Dole P., Joly C., Espuche E., Alric I., Gontard N. Gas transport properties of starch based films. *Carbohydrate Polymers* 2004; 58:335-343
28. Colussi R., Pinto VZ., El Halal S.L.M., Biduski B., Prietto L., Castilhos D.D., Zavareze E.D.R., Dias A.R.G. Acetylated rice starches films with different levels of amylose: mechanical, water vapor barrier, thermal, and biodegradability properties. *Food Chemistry* 2016; 221:1614-1620
29. Liu Z. Edible films and coatings from starch. In J. H. Han (Ed.), *Innovations in food packaging*. London: Elsevier Academic Press 2005; 318-332
30. Milda E. Embuscado and Kerry C. Huber. *Edible films and coatings for food applications*. Springer Science + Business Media, LLC 2009
31. Rompothi O., Pradipasena P., Tananuwong K., Somwangthanaroj A., Janjarasskul T. Development of non-water soluble, ductile mung bean starch based edible film with oxygen barrier and sealability. *Carbohydrate Polymers*. 2017; 157:748-756
32. Tharanathan R.N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends in Food Science y Technology* 2003; 14:71-78
33. Cao X., Chen Y., Chang P.R., Muir A.D., Falk G. Starch-based nanocomposites reinforced with flax cellulose nanocrystals. *eXPRESS Polymer Letters* 2008; 2:502-510
34. Koch K., Gillgren T., Stading M., Andersson R. Propiedades mecánicas y estructurales de películas de almidón de maíz con alto contenido de amilosa moldeadas en solución. *Journal of Biological Macromolecules* 2010; 46:13-9
35. Zamudio-Flores P.B., Bello-Pérez L.A., Vargas-Torres A., Hernández-Uribe J.P., Romero-Bastida C.A. Caracterización parcial de películas preparadas con almidón oxidado de plátano. *Agrociencia* 2007; 8:837-844
36. Zamudio-Flores P.B., García-Amezquita L.E., Ramos-Martínez A., Tirado-Gallegos J.M., Bello-Pérez L.A., Salgado-Delgado R. Soluciones formadoras de película a base de almidón oxidado de avena mezcladas con quitosano. Caracterización reológica y propiedades mecánicas de sus películas. *Revista Iberoamericana de Polímeros* 2013; 6:239-304
37. Famá L.M., Gerschenson L.N., Goyanes S.N. Nanocompuestos biodegradables y comestibles: almidón-polvo de ajo. *Suplemento de la revista latinoamericana de metalurgia y materiales* 2009; 3:1235-1240

38. Pomment M., Redl A., Morel M.H., Domenek S., Guilbert S. Thermoplastic processing of protein-based bioplastics: chemical engineering aspects of mixing, extrusion and hot molding. *Macromolecular symposia* 2003; 197:207-217
39. García N.L., Famá L., D'Accorso N.B., Goyanes S. *Biodegradable starch nanocomposites*. Springer 2015
40. López O., García M.A. Starch films from a novel (*Pachyrhizus ahipa*) and conventional sources: development and characterization. *Materials Science and Engineering* 2012; 32:1931-1940
41. Valencia A., Rivera C., Murillo E.A. Estudio de las propiedades de mezclas de alcohol polivinílico-almidón de yuca-sorbitol obtenidas por casting. *Revista Colombiana de Materiales* 2013; 4:41-55
42. García A.O.R., Pinzón F.M.I, Lucas A.J.C. Propiedades físicas y ópticas de películas a base de almidón de plátano guayabo (*Musa paradisiaca* L.). *Revista de Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos* 2015; 36:127-132
43. Harper J. M. 1981. *Extrusion of foods*. Vol. I. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, U. S. A
44. Lucas R. Alvarez Martínez. *Tendencias en ingeniería de alimentos*. Vol. IV, N° 1, Octubre 1992
45. González-Soto R.A., Sotelo-Bautista M., Gutiérrez-Meráz F. Películas de almidón de papa obtenidas por casting y extrusión reforzadas con montmorillonita de sodio modificada. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos* 2016; 2:627-632
46. Velasco M.R., Enríquez C.M., Torres R.A., Palacios L., Ruales M.J. Caracterización morfológica de películas biodegradables a partir de almidón modificado de yuca, agente antimicrobiano y plastificante. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial* 2012; 2:152-159
47. Merchán P.J., Ballesteros D., Jiménez I., Medina J.A., Álvarez O. Estudio de la biodegradación aerobia de almidón termoplástico (TPS). *Suplemento de la Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales* 2009; 1:39-44
48. Thomas D. J., Atwell W. Starch modifications. In: *Starches*. Eagen Press Handbook. USA. 1999; 31-48
49. Rodríguez González F.J. (2013) Blogs. *Materiales sustentables a partir de almidón termoplástico México D.F.* <http://blogs.eluniversal.com.mx>

50. Hanna, J. Functional properties of extruded foam composites of starch acetate and corn cob fiber. *Industrial Crops and Products* 2004; 19:255-269.
51. Ramírez Ortiz Ma. E. Tendencias de innovación en la ingeniería de alimentos. *OmniaScience* 2015. Pag 288
52. Luis Fernando Aldana de León. Manual Producción Comercial y de Semilla de Frijol (*Phaseolus Vulgaris* L.). Instituto de Ciencias y Tecnología Agrícola. P.E. Febrero 2010
53. Fraile Ma. E., García-Suarez Ma.D., Martínez-Bernal A., Slomianski R. Depto. de Biología. División de CBS. UAM-I Bióloga por la UAM-I y divulgadora de la ciencia. Nutritivas y apetecibles: conozca de leguminosas comestibles. Parte I. Hojas, vainas y semillas. *ContactoS* 2007; 66:27–35
54. Allen O.N., Allen E.K. In the Leguminosae. A Source Book of Characteristics, Uses and Modulation. Univ. of Wisconsin Press. Macmillan, London; 1981 pp. 812
55. Bravo L., Siddhuraju P., Saura-Calixto F. Effect of various processing methods on the in vitro starch digestibility and resistant starch content of Indian pulses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1998; 46:4667-4674
56. Skrabanja V., Liljerberg H.G.M., Hedley C.L., Kreft I., Björck I.M.E. Influence of genotype and processing on the in vitro rate of starch hydrolysis and resistant starch formation in peas (*Pisum sativum* L.). *Journal of Agricultura and Food Chemistry* 1999; 47:2033-2039
57. Hernández-Salazar M., Osorio-Díaz P., Loarca-Piña G., Reynoso-Camacho R., Tovar J., Bello-Pérez L.A. In vitro fermentability and antioxidant capacity of the indigestible fraction of cooked black beans (*Phaseolus vulgaris* L.), lentils (*Lens culinaris* L.) and chickpeas (*Cicer arietinum* L.). *Journal of the Science of food and Agriculture* 2010; 90:1417-1422
58. Oomah B.D., Patras A., Rawson A., Singh N., Campos-Vega R. Chemistry of pulses. In: B.K. Tiwari, A. Gowen y B. McKenna (Eds.). *Pulse foods: processing, quality and nutraceutical applications*. Elsevier Inc. 2011:9-5
59. Hoover R., Ratnayake W.S. Starch characteristics of black bean, chick pea, lentil, navy bean and pinto bean cultivars grown in Canada. *Food Chemistry* 2002; 78:489-498
60. Chung H. J., Liu Q., Pauls K.P., Fan M.Z., Yada R. In vitro starch digestibility, expected glycemic index and some physicochemical properties of starch and flour from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in Canada. *Food Research International* 2008a; 41:869-875

61. Singh N., Kaur M., Singh S.K., Singh G.H. Physicochemical, thermal, morphological and pasting properties of starches from some Indian Black Gram (*Phaseolus mungo* L.) cultivars. *Starch Stärke* 2004; 56:535-544
62. Caamal-Herrera I.O., Pereira-Pacheco F.E., Madera-Santana T.J. Caracterización óptica y mecánica de películas comestibles a base de mezclas binarias de almidones de *Phaseolus lunatus* L, *Manihot esculenta* Crantz y *Zea mays* L. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 2011; 12:101-109
63. Prachayawarakorn J., Hommage L., Phoseed D., Chairapaksatien P. Property improvement of thermoplastic mung bean starch using cotton fiber and low-density polyethylene. *Starch Stärke* 2010; 62:435-443
64. Narpinder S., Peter S.B., Dominique M.R.G. The effects of iodine on kidney bean starch: films and pasting properties. *International Journal of Biological Macromolecules* 2009; 45:116-119
65. Lima K.O., Biduski B., da Silva W.M.F., Ferreira S.M., Pereira Montenegro L.M., Dias A.R.G., Bianchini D. Incorporation of tetraethylorthosilicate (TEOS) in biodegradable films based on bean starch (*Phaseolus vulgaris* L.). *European Polymer Journal* 2017
66. Demiate M.I., Figueroa A.M., Zortéa Guidolin M.E.B., Rodríguez dos Santos T.P., Yangcheng H., Chang F., Lin Jane J. Caracterización físicoquímica de almidones de frijoles secos cultivados en Brasil. *Food Hydrocolloids* 2016; 61: 812-820
67. Liang Y., Qiao B., Wang T.-J., Gao H., Yu K. Effects of porous films on the light reflectivity of pigmentary titanium dioxide particles. *Applied Surface Science* 2016; 387:581-587
68. N.M. Makwana, C.J. Tighe, R.I. Gruar, P.F. McMillan, J.A. Darr, Pilot plant scale continuous hydrothermal synthesis of nano-titania; effect of size on photocatalytic activity. *Materials Science in Semiconductor Processing* 2016; 42:131–137
69. J. Oguma, Y. Kakuma, M. Nishikawa, Y. Nosaka, Effects of silica-coating on the photoinduced hole formation and decomposition activity of titanium dioxide photocatalysts under UV irradiation. *Catalysis Letters* 2012; 142:1474–1481
70. Ramos de Valle L.F. Sánchez S. Vulcanización y Formulación de Hules. Valdez: Ciqq. Limusa. México 2009; pp.148
71. Diebold U. The surface science of titanium dioxide. *Surface Science Reports* 2003; 48:53-229

72. Ahmad A., Awan G.H., Aziz S. Synthesis and Applications of TiO₂ Nanoparticles. Pakistan Engineering Congress, 70th Annual Session Proceedings 2000; 403-412
73. Mendoza-Anaya D., Salas P., Ángeles-Chávez C., Pérez-Hernández R., Castaño V.M. Caracterización microestructural y morfología de TiO₂ para aplicaciones termoluminiscentes. Revista Mexicana de Física 2004:12-16
74. Agrawal A., Cizeron J., Colvin V.L. In Situ High-Temperature Transmission Electron Microscopy Observations of the Formation of Nanocrystalline TiC from Nanocrystalline Anatase (TiO₂). Microscopy and Microanalysis 1998; 4:269-277
75. López-Manchado M.A., Valentín J.L., Carretero J., Barroso F., Arroyo M. Rubber network in elastomer nanocomposites. Journal of European Polymer 2007; 43:4143-4150
76. Bae J.Y., Yun T.K., Han S.S., Min B.G., Bako I., Soong-Hyuck Suh. Revue Roumaine de Chimie 2009; 54:773-778
77. Yuanzhi L.I., Nam-Hee Lee., Jae Sung Song., Eun Gu Lee., Sun-Jae Kim. Synthesis and photocatalytic properties of nano bi-crystalline titania of anatase and brookite by hydrolyzing TiOCl₂ aqueous solution at low temperatures. Research On Chemical Intermediates 2005; 4-6:309-318
78. Rengifo-Herrera J.A., Pulgarin C., Machuca F., Sanabria J. TiO₂ Photocatalytic inactivation under simulated solar light of bacterial consortia in domestic wastewaters previously treated by UASB, duckweed and facultative ponds. Química Nova 2010; 8:1636-1639
79. Miao Z. Ding K., Wu T., Liu Z., Han B., An G., Miao S., Yang G. Fabrication of 3D-networks of native starch and their application to produce porous inorganic oxide networks through a supercritical route. Microporous and Mesoporous Materials 2008; 111:104-109
80. Hejri Z., Ahmadpour A., Seifkordi A.A., Zabarjad S.M. Role of nano-sized TiO₂ in mechanical and thermal behavior of starch/poly (vinyl alcohol) blend films. International Congress on Nanoscience and Nanotechnology (ICNN) 2012; 8:215-226
81. Nuryetti H.H., Nasikin M. Structure, energy band gap and electrical conductivity of Tapioca/metal oxide composite. Journal of Industrial and Engineering Chemistry 2012; 6:911-919

82. Sreekumar P.A., Al-Harhi M.A., De S.K., Reinforcement of starch/polyvinyl alcohol blend using nano-titanium dioxide. *Journal of Composite Materials* 2012; 46:3181
83. Yun Y.H., Youn Y.N., Yoon S.D., Lee J.U. Preparation and physical properties of starch-based nanocomposite films with the addition of titanium oxide nanoparticles. *Journal of Ceramic Processing Research* 2012; 13:59-64
84. Roessler S., Zimmermann R., Scharnweber D., Werner C, Worch H. Characterization of oxide layers on Ti6Al4V and titanium by streaming potential and streaming current measurements. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2002; 26:387-395
85. Cai K., Bossert J., Jandt K.D. Does the nanometre scale topography of titanium influence protein adsorption and cell proliferation? *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2006; 49:136-144
86. Zhou, J. J., Wang, S. Y., Gunasekaran, S. Preparation and characterization of whey protein film incorporated with TiO₂ nanoparticles. *Journal of Food Science* 2009; 74:50-56.
87. Chen C.Y., Wu L.C., Chen H.Y., Chung Y.C. Inactivation of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in water using photocatalysis with fixed TiO₂. *Water, Air, and Soil Pollution* 2010; 212:231–238
88. Yemmireddy, V. K., & Hung, Y. Selection of photocatalytic bactericidal titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles for food safety applications. *LWT - Food Science and Technology* 2015a; 61:1–6
89. Gui L., Ming T., Yong-Lai L., Xiu-Juan Z., Li-Qun Z. Morphology, antimicrobial and mechanical properties of nano-TiO₂/rubber composites prepared by direct blending. *Polymer Journal* 2006; 5:498-502
90. Acierno D., Filippone G., Romeo G., Russo P. Rheological Aspects of PP-TiO₂ Micro and Nanocomposites: A Preliminary Investigation *Macromolecular Symposia* 2007; 247:59-66
91. Maneerat C., Hayata Y. Antifungal activity of TiO₂ photocatalysis against *Penicillium expansum* in vitro and in fruit tests. *International Journal of Food Microbiology* 2006; 107:99
92. Chawengkijwanich C., Hayata Y. Development of TiO₂ powder-coated food packaging film and its ability to inactivate *Escherichia coli* in vitro and in actual tests. *International Journal of Food Microbiology* 2008; 123:288-292

93. Song X., Li R., Li H., Hu Z. Mustapha A., Lin M. Characterization and quantification of zinc oxide and titanium dioxide nanoparticles in foods. *Food Bioprocess Tech* 2014; 7:456
94. Lin B., Luo Y., Teng Z., Zhang B., Zhou B., Wang Q. Development of silver/titanium dioxide/ chitosan adipate nanocomposite as an antibacterial coating for fruit storage. *LWT - Food Sci. Technol* 2015; 63:1206
95. García N.L., Famá L., Dufresne A., Aranguren A., Goyanes S. A comparison between the physico-chemical properties of tuber and cereal starches. *Food Research International* 2009a; 42:976–982
96. García NL, Ribba L, Dufresne A, Aranguren M, Goyanes S. Effect of glycerol on the morphology of nanocomposites made from thermoplastic starch and starch nanocrystals. *Carbohydrate Polymers* 2011; 84:203–210
97. Siqueira G., Bras J., Dufresne A. Cellulosic bionanocomposites: a review of preparation and properties of nanocomposites. *Biomacromolecules* 2009; 10:425–432
98. Famá L., Bittante A.M.B.Q., Sobral P.J.A., Goyanes S., Gerschenson L.N. Garlic powder and wheat bran as fillers: their effect on the physicochemical properties of edible biocomposites. *Materials Science and Engineering C* 2010; 30:853–859
99. Famá L.M, Pettarin V., Goyanes S., Bernal C.R. Starch based nanocomposites with improved mechanical properties. *Carbohydrate Polymers* 2011; 83:1226–1231
100. Famá L.M., Gañan P., Bernal C.R., Goyanes S. Biodegradable starch nanocomposites with low water vapor permeability and high storage modulus. *Carbohydrate Polymers* 2012; 87:1989–1993
101. Kanehira K., Banzai T., Ogino C., Shimizu N., Kubota Y., Sonezaki S. Properties of TiO₂-polyacrylic acid dispersions with potential for molecular recognition. *Colloids and Surfaces B* 2008; 64:10–15
102. Wang H., Niu J., Long X., He Y. Sonophotocatalytic degradation of methyl orange by nanosized Ag/TiO₂ particles in aqueous solutions. *Ultrason Sonochem* 2008; 15:386–392
103. Yun Y.H., Hwang K.J., Wee Y.J., Yoon S.D. Synthesis, physical properties, and characterization of starch-based blend films by adding nano-sized TiO₂/poly(methyl metacrylate-co-acrylamide). *Journal of Applied Polymer Science* 2011; 120:1850–1858

104. Liao H.T., Wu C.S. New biodegradable blends prepared from polylactide, titanium tetraisopropylate, and starch. *Journal of Applied Polymer Science* 2008; 108:2280–2289
105. Wang C., Yan X., Yu L., Fang R. Preparation and properties of glycerol plasticized-corn starch/Titanium dioxide-starch bionanocomposites. *Advanced Materials Research* 2014; 997:480-483
106. Maness P.C., Smolinski S., Blake D.M., Huang Z., Wolfrum E.J., Jacoby W.A. Bactericidal activity of photocatalytic TiO₂ reaction: toward an understanding of its killing mechanism. *Applied and environmental microbiology* 1999; 65:4094-4098
107. Jacoby W.A., Maness P.C., Wolfrum E.J., Blake D.M., Hinojo J.A., La mineralización de la masa de células bacterianas en una superficie fotocatalítica en el aire. *Environmental Science and Technology* 1998; 32:2650-2653
108. Legrini O., Oliveros E., Braun A.M. Fotoquímico procedimientos para el tratamiento de aguas. *Chemical Reviews* 1993; 93:671-698
109. Matsunaga T., Tomada R., Nakajima T., Wake H. Photochemical sterilization of microbial cells by semiconductor powders. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters* 1985; 29:211–214
110. Sunada K., Kikuchi Y., Hashimoto K., Fujishima A. Bactericida y los efectos de desintoxicación de TiO₂ fotocatalizadores de película delgada. *Environmental Science and Technology* 1998; 32:726-728
111. Kangwansupamonkon W., Lauruengtana V., Surassmo S., Ruktanonchai U. Antibacterial effect of apatite-coated titanium dioxide for textiles applications. *Nanomedicine Nanotechnology Biology and Medicine* 2009; 5:240-249
112. Betancur A.D., López L.J., Chel G.L. Comparison of the chemical composition and functional properties of *Phaseolus lunatus* prime and tailing starches. *Food Chemistry* 2003; 82:217-225
113. AOAC, 1980. *Official Methods of Analysis*. 10 th. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC, USA
114. AACC. 2000. *Approved methods of the American Association of Cereal Chemists*. Tenth Edition. Vol. I y II
115. Aguero V.D. Efecto de la modificación de la arcilla montmorillonita sobre el comportamiento estructural y degradativo en películas de almidón/TiO₂/arcilla. Tesis de maestría. Universidad del Papaloapan 2015

116. García M. A., Pinotti A., Martino M. N., Zaritzky N. E. Characterization of composite hydrocolloid films. *Carbohydrate Polymers* 2004; 56:339-345
117. ASTM D-882-95a. 1995. Standard Test Methods for Tensile Properties of thin plastic sheeting
118. ASTM E-96-80.1980. Standard methods of test for water vapor transmission of materials in sheet form
119. Lowry, O.H., Rosebrough N.J., Farr, A.L., Randall R.J. (1951). Protein measurement with folin-phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* 1951; 193:265-275
120. Miranda-Villa P.P., Marrugo-Ligardo Y.A., Montero-Castillo P.M. Caracterización funcional del almidón de frijol zaragoza (*Phaseolus Lunatus* L.) y cuantificación de su almidón resistente. *Tecno Lógicas* 2013; 30:17-32
121. Tovar J., Fernández P. M., Blanco M. A. Digestibilidad in vitro en preparaciones cocidas y molidas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Interciencia* 2005; 30: 780-783
122. Vargas-Torres A., Osorio-Díaz P., Agama-Acevedo E., Morales-Franco L., Bello-Pérez L.A. Digestibilidad del almidón en diferentes variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Interciencia* 2006; 31:881-884
123. Lawal O.S., Lapasin R., Bellich B., Olayiwola T.O., Cesáro A., Yoshimura M., Nishinari K. Rheology and functional properties of starches isolated from five improved rice varieties from west africa. *Food Hydrocoll* 2011; 25:1785-1792
124. Sun-Jin Park., Eun-Ok Choe., Jung-In Kim, and Malshick Shin. Physicochemical properties of mung bean starches in different korean varieties and their gel textures. *Food Science and Biotechnology* 2012; 21:1359-1365
125. Chagam Koteswara Reddy., Sundaramoorthy Haripriya., Vidya P.V. Morphology, physico-chemical and functional characteristics of starches from different banana cultivars. *Journal of Food Science and Technology* 2015; 52:7289-7296
126. Maaran S., Hoover R., Donner E., Liu Q. Composition, structure, morphology and physicochemical properties of lablab bean, navy bean, rice bean, tepary bean and velvet bean starches. *Food Chemistry* 2014; 152:491-499
127. Wenhao Li., Xinlong Xiao., Shenwang Guo., Shaohui Ouyang., Qingui Luo., Jianmei Zheng., Guoquan Zhang. Proximate composition of triangular pea, White

- pea, spotted colored pea, and small white kidney bean and their starch properties. *Food and Bioprocess Technology* 2014; 7:1078-1087
128. Li Y., Jiang Y., Liu F., Ren F., Zhao G., Leng X. Fabrication and characterization of TiO₂/whey protein isolate nanocomposite film. *Food Hydrocolloids* 2011; 25:1098–1104
129. Perez - gago M.B., Krochta J.M. Denaturation time and temperatura effects on solubility, tensile properties, and oxygen permeability of whey protein edible films. *Journal of Food Science* 2001; 66:705–710
130. Yin S.W., Tang C.H., Wen Q.B., Yang X.Q. Properties of cast films from hemp (*Cannabis sativa* L.) and soy protein isolates. A comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2007; 55:7399–7404
131. Sanyang, M.L., Sapuan, S.M., Jawaid, M., Ishak, M.R., Sahari, J. 2015. Effect of glycerol and sorbitol plasticizers on physical and thermal properties of sugar palm starch based films. In Bulucea, A (Ed). *Proceedings of the 13th International Conference on Environment, Ecosystems and Development (EED '15)*, p. 157. Kuala Lumpur: WSEAS Press.
132. Zolfi M., Khodaiyan F., Mousavi M., Hashemi M. Development and characterization of the kefiran-whey protein isolate-TiO₂ nanocomposite films. *International Journal of Biological Macromolecules* 2014; 65:340-345
133. Feng X.X., Zhang L.L., Chen J.Y., Gou Y.H., Zhang H.P., Jia C.I. Preparation and characterization of novel nanocomposite films formed from silk fibroin and nano-TiO₂. *International Journal of Biological Macromolecules* 2007; 40:105-111
134. Ghasemlou M., Khodaiyan F., Oromiehie A. Physical, mechanical, barrier, and thermal properties of polyol-plasticized biodegradable edible film made from kefiran. *Carbohydrate Polymers* 2011; 84:477–483
135. Cerqueira M. A., Souza B. W. S., Teixeira J. A., Vicente A. A. "Effect of glicerol and corn oil on physicochemical properties of polysaccharide films-A comparative study," *Food Hydrocolloids* 2012; 27:175–184
136. Rhim J.W., Ng P.K. Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications. *Critical reviews in food science and nutrition* 2007; 47:411–433
137. Seyed A.O., Younes Z., Babak G., Ali A.M. Modification of Physicochemical and Thermal Properties of Starch Films by Incorporation of TiO₂ Nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules* 2016

138. P. Fei, Y. Shi, M. Zhou, J. Cai, S. Tang, H. Xiong, Effects of nano-TiO₂ on the properties and structures of starch/poly (ε-caprolactone) composites, *Journal of Applied Polymer Science* 2013; 130:4129-4136.
139. J. Ren, S. Wang, C. Gao, X. Chen, W. Li, F. Peng. TiO₂-containing PVA/xylan composite films with enhanced mechanical properties, high hydrophobicity and UV shielding performance, *Cellulose*. 2015; 22:593-602
140. Lin F. Preparation and characterization of polymer TiO₂ nanocomposites via in-situ polymerization. Master thesis, University of Waterloo, Canada 2006
141. Valera-Zaragoza M., Yescas-Yescas A., Juarez-Arellano E.A., Aguirre-Cruz A., Aparicio-Saguilán A., Ramírez-Vargas E., Sepúlveda-Guzmán S. y Sánchez-Valdes S. Immobilization of TiO₂ nanoparticles on montmorillonite clay and its effect on the morphology of natural rubber nanocomposites. *Polymer Bulletin* 2014; 71:1295-1313
142. Serpone N. Brief introductory remarks on heterogeneous photocatalysis. *Solar Energy Materials and Solar Cells* 1995; 38:369–379
143. Cabrera J., Paredes C., Urdy E., Santiago J. Preparación y Caracterización de películas de alcohol polivinílico conteniendo nanopartículas de TiO₂. *Iberoamericana de polimeros* 2007; 8:323-332
144. Nakane K., Kurita T., Ogihara T., Ogata N. Properties of poly(vinyl butyral)/TiO₂ nanocomposites formed by sol-gel process. *Composites Part B: engineering* 2004; 35:219-222
145. Jaleh B., Shahbazi N. Surface properties of UV irradiated PC-TiO₂ nanocomposite. *Applied Surface Science* 2014; 313:251-258
146. Tang Q., Lin J., Wu Z., Wu J., Huang M., Yang Y. Preparation and photocatalytic degradability of TiO₂/polyacrylamide composite. *European Polymer Journal* 2007; 43:2214-2220
147. Hejri Z., Seifkordi A.A., Ahmadpour A., Zebarjad S.M., Maskooki A. Biodegradable starch/poly (vinyl alcohol) film reinforced with titanium dioxide nanoparticles. *International journal of minerals, Metallurgy and Materials* 2013; 20:1001-1011
148. Okamoto M., Nam P.H., Maiti P., Kotaka T., Hasegawa N., Usuki A. A house of cards structure in polypropylene/clay nanocomposites under elongational flow. *Nano Letters* 2001; 1:295-298

149. Zhao R., Torkey P., Halley P.J. Emerging biodegradable materials: starch- and protein-based bio-nanocomposites. *Journal of Materials Science* 2008; 43:3058-3071
150. Seentrakoon B, Junhasavasdikul B, Chavasiri W. Enhanced UV-protection and antibacterial properties of natural rubber/rutile-TiO₂ nanocomposites. *Polymer Degradation and Stability* 2013; 98:566–578
151. Liu B.L., Ding Q.J., Zhang J.H., Hu B.X. Preparation and properties of new EPDM/Vermiculite Nanocomposites. *Polymer Composites* 2005; 26:706
152. Liu X., Yu L., Liu H., Chen L., Li L., Thermal decomposition of corn starch with different amylose/amylopectin ratios in open and sealed systems 2009; 86:383-385
153. Zhang H., Magoshi J., Becker M., Chen J.Y., Matsunaga R. Thermal properties of bombyx mori silk fibers. *Journal of Applied Polymer Science* 2002; 86:1817–1820
154. Sanyang, M. L., Sapuan, S. M., Jawaid, M., Ishak, M. R., Safari, J. Effect of plasticizer type and concentration on tensile, thermal and barrier properties of biodegradable films based on sugar palm (*Arenga pinnata*) starch. *Polymers* 2015; 7:1106–1124
155. Liu X., Yu L., Liu H., Chen L., Li L. In situ Thermal decomposition of starch with constant moisture in a sealed system. *Polymer Degradation and Stability* 2008; 93:260-262
156. Quintero-Castaño V.D., Lucas-Aguirre J.C., Alzate-Cavajal E.N. Determinación de las propiedades térmicas y composicionales de la harina y almidón de chachafruto. *Revista de la facultad de Ingeniería* 2013; 16-32
157. Morsyleide F. Rosa, Bor-sen Chiou. Eliton S. Medeiros, Delilah F. Wood. Luiz H.C. Mattoso, William J. Orts, Syed H. Imam. Biodegradable composites based on starch/EVOH/glycerol blends and coconut fibers. *Journal of Applied Polymer Science* 2009; 111:612-618
158. Guinesi L.S., Róz A.L., Corrandini E., Mattoso L.H.C., Teixeira E.M., Curvelo A.A. Kinetics of thermal degradation applied to starches from different botanical origins by non-isothermal procedures. *Thermochimica Acta* 2006; 447:190-196
159. Aggarwal P., Dollimore D. A thermal analysis investigation of partially hydrolyzed starch. *Thermochimica Acta* 1998; 319:17-25

160. Soares R.M.D., Lima A.M.F., Olivera R.V.B., Pires A.T.N., Soldi V. Thermal degradation of biodegradable edible films based on xanthan and starches from different sources. *Polymer Degradation and Stability* 2005; 90:449-454
161. Cordeiro EM.S., Nunes .L., Mattos A.L.A., Rosa M.F., Sousa Filho M.M., Ito E.N. Polymer biocomposites and nanobiocomposites obtained from mango sedes. *Macromolecular Symposia* 2014; 344:39-54
162. Laachachi A., Leroy E., Cochez M., Ferriol M., Lopez Cuesta J.M. Use of oxide nanoparticles and organoclays to improve thermal stability and fire retardancy of poly(methyl methacrylate), *Polymer Degradation and Stability* 2005; 89:344–352
163. Hassan M., El-Dessouky, Carl AL. Nanoparticles dispersion in processing functionalised PP/TiO₂ nanocomposites: distribution and properties. *Journal of Nanoparticle Research* 2011; 13:1115-1124.
164. Oleyaei S.A, Zahedi Y., Ghanbarzadeh B., Moayedi A.A. Modification of physicochemical and thermal properties of starch films by incorporation of TiO₂ nanoparticles. *International Journal of Biological Macromoleculares* 2016; 89:256-264
165. Selvin T.P., Kuruvilla J., Sabu T. Mechanical Properties of titanium dioxide-filled polystyrene microcomposites. *Materials Letters* 2004; 58:281-289
166. Liu Chao, Xiong Hangou, Chen Xing, Lin Shun, Tu Yanhua. Effects of nano-TiO₂ on the performance of high-amylose starch based antibacterial films. *Journal of Applied Polymer Science* 2015; 132:42339
167. Shaili T., Abdorreza M.N., Fariborz N. Functional, thermal, and antimicrobial properties of soluble soybean polysaccharide biocomposites reinforced by nano TiO₂. *Carbohydrate Polymers* 2015; 134:726-731
168. Nafchi A.M., Nassiri R., Sheibani S., Ariffin F., Karim A.A. Preparation and characterization of bionanocomposite films filled with nanorod-rich zinc oxide. *Carbohydrate Polymers* 2013; 96:233-239
169. Müller C.M.O., Laurindo J.B., Yamashita F. Effect of nanoclay incorporation method on mechanical and water vapor barrier properties of starch-based films. *Industrial Crops and Products* 2011; 33:605-610
170. Zhang W., Chen J., Chen Y., Xia W., Xiong Y.L., Wang H. Enhanced physicochemical properties of chitosan/whey protein isolate composite film by sodium laurate-modified TiO₂ nanoparticles. *Carbohydrate Polymers* 2016; 138:59-65

171. Kadam D.M., Thunga M., Wang S., Kessler M.R., Grewell D., Lamsal B., Yu C. Preparation and characterization of whey protein isolate films reinforced with porous silica coated titania nanoparticles. *Journal of Food Engineering* 2013; 117:133-140
172. Hosseini S. F., Rezaei M., Zandi M., Ghavi F.F. Preparation and functional properties of fish gelatin–chitosan blend edible films. *Food Chemistry* 2013; 136:1490-1495
173. Ghasemlou M., Aliheidari N., Fahmi R., Shojaee-Aliabadi S., Keshavarz B., Cran M.J., Khaksar R. Physical, mechanical and barrier properties of corn starch films incorporated with plant essential oils. *Carbohydrate Polymers* 2013; 98:1117-1126
174. El-Wakil N.A., Hassan E.A., Abou-Zeid R., Dufresne A. Development of wheat gluten/nanocellulose/titanium dioxide nanocomposites for active food packaging. *Carbohydrate Polymers* 2015; 124:337-346
175. R. Nassiri, A. Mohammadi-Nafchi. Antimicrobial and barrier properties of bovine gelatin films reinforced by nano TiO₂, *Journal of Chemical Health Risks* 2013; 3:21-28.
176. Estrada-Monje A., Andreu-Díaz J.M., Cruz-Salgado J. Películas de LDPE/nano-TiO₂ con propiedades antibacteriales inducidas por ultrasonido. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 2016; 15:953-960
177. Xing Yage, Li Xihong, Zhang Li, Xu Qinglian, Che Zhenming, Li Weili, Bai Yumin, Li Ke. Effect of TiO₂ nanoparticles on the antibacterial and physical properties of polyethylene-based film. *Progress in Organic Coatings* 2012; 73:219-224
178. Rezaei-Zarchi S., Javed A., Ghani M.J., Soufian S., Firouzabadi F.B., Moghaddam A.B., Mirjalili S.H. *Iran Journal of Pathology* 2010;5:83-89.
179. Kuhn K.P., Chaberny I.F., Masholder K., Stickler M., Benz V.W., Sonntag H.G., Erdinger L., *Chemosphere* 2003; 53:71–77