



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

CAMPUS TUXTEPEC

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICAS

“CARACTERIZACIÓN DE BIOPELÍCULAS ELABORADAS A PARTIR DE ALMIDÓN DE PLÁTANO (*Musa paradisiaca* L), REFORZADAS CON NANOPARTÍCULAS DE CELULOSA OBTENIDAS POR MOLIENDA MECÁNICA Y ULTRASONIDO.”

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICAS

PRESENTADA POR:

L. C. Q. JAIR ALEXSANDER GARCÍA RAMÓN

DIRECTOR:

**Dr. ERICK ADRIÁN JUÁREZ
ARELLANO**

CO-DIRECTOR:

Dr. ANDRÉS AGUIRRE CRUZ

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO	DEP/2017/109
ASUNTO	Jurado asignado para examen de grado MCQ

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca, México a 27 de Febrero de 2017

C. JAIR ALEXSANDER GARCÍA RAMÓN
ESTUDIANTE DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICAS
UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

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

Dr. Mario Valera Zaragoza	UNPA	Presidente
Dr. Alejandro Aparicio Saguilán	UNPA	Vocal
Dra. Rubi Guadalupe Utrilla Coello	UNPA	Secretario
Dr. María de Jesús Santa Gutiérrez	UNPA	1er Suplente
Dr. Aurelio Ramírez Hernández	UNPA	2º Suplente

Sin más por el momento, le envío saludos cordiales.

Atentamente

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



DR. MARIO VALERA ZARAGOZA
Jefe de la División de Estudios
de Posgrado

M. EN C. HÉCTOR LÓPEZ ARJONA
Vice-rector Académico
Vo. Bo. VICE-RECTORIA
ACADEMICA

C.c.p. Dr. Erick Adrian Juarez Arellano – 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



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICAS

OFICIO	DEP/2017/MCQ/015
ASUNTO	Autorización para impresión de tesis

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca, México a 26 de Abril de 2017

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 Maestro en Ciencias Químicas del **C. Jair Alexander García Ramón**, matrícula 14130006, ha autorizado la impresión del manuscrito que lleva por título "**Caracterización de biopelículas elaboradas a partir de almidón de plátano (*Musa paradisiaca L*), reforzadas con celulosa obtenida por molienda mecánica y ultrasonido**" 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



Dr. MARIO VALERA ZARAGOZA
Jefe de la División de Estudios de Posgrado

C.c.p. Jair Alexander García Ramón
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

Agradecimientos

En primer lugar quiero agradecer a la Universidad del Papaloapan, campus Tuxtepec, por permitirme continuar superándome profesionalmente cursando mis estudios de Maestría en Ciencias Químicas y de la misma forma al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**) por la beca otorgada (No. de becario: **577747**).

Agradezco al **Dr. Erick Adrián Juárez Arellano** y al **Dr. Andrés Aguirre Cruz** por permitirme realizar este proyecto de investigación bajo su dirección, gracias por su paciencia y todos los conocimientos que me brindaron. De este mismo modo quiero agradecer al Laboratorio Nacional de Investigaciones en Nanociencias y Nanotecnología de Tuxtepec (LINAN-Tuxtepec), por las facilidades brindadas para realizar la caracterización de las muestras.

Agradezco al Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (**IPICYT**) y directamente al Dr. Miguel Avalos Borja, por permitirme realizar mi estancia de investigación en sus instalaciones y facilitarme el uso de sus equipos, así como a los encargados M. C. Ana Iris Peña Maldonado, al Dr. Ignacio G. Becerril Juárez y la M. C. Beatriz A. Rivera Escoto quienes tan amablemente me apoyaron en la obtención de mis resultados.

Del mismo modo quiero agradecer a los profesores investigadores (*Dr. Mario Valera Zaragoza, Dr. Alejandro Aparicio Saguilán, Dra. Rubí Gabriela Utrilla Coello, Dra. María de Jesús Santa Gutiérrez Ponce y al Dr. Aurelio Ramírez Hernández*) que participaron como sinodales y así lograr un buen trabajo mediante sus observaciones y comentarios constructivos en la revisión del escrito. Agradezco a todos y cada uno de los profesores que me impartieron las materias cursadas a lo largo de toda la maestría y por brindarme parte de todo su conocimiento.

A mis compañeros de clases: Bety, Perla, Lety y Daniel, así como a los compañeros de Biotecnología. A mis amigos: Conchita, Jade, Heidy, Frank, Luz Q. Z., Fernando, Sheila, Irving, Berenice, Lizzette, Yoel, Arelys, Lupita, Margarita, Mich y a los que aún falta por conocer.

De manera muy especial a mi familia, quienes siempre me han apoyado y a Dios por permitirme alcanzar mis metas. De corazón, gracias.

Dedicatoria

En memoria de Nany y Tío Cristo

Índice de Contenido

.....	ii
Agradecimientos	iv
Dedicatoria	v
Lista de tablas	x
Lista de Figuras	xi
1. Introducción	14
2. Fundamento	16
2.1. Almidón	16
2.2. Biopelículas	23
2.3. Celulosa	25
2.3.1. Ultrasonicación	30
2.3.2. Molienda mecánica	32
3. Antecedentes	38
4. Justificación	43
5. Hipótesis	44
6. Objetivos	45
6.1. Objetivo general	45
6.2. Objetivos específicos	45
7. Metodología	46
7.1. Obtención del almidón	46
7.1.1. Molienda mecánica del almidón	46
7.2. Obtención de nanopartículas de celulosa	47
7.2.1. Mediante el uso de ultrasonido	47

7.2.2. Mediante el uso de molienda mecánica.....	47
7.3. Elaboración de las películas	48
7.4. Técnicas de caracterización	50
7.4.1. Análisis químico proximal (AQP) del almidón nativo.	50
7.4.1.1. Humedad	50
7.4.1.2. Cenizas.....	50
7.4.1.3. Lípidos.....	50
7.4.2. Análisis térmico	50
7.4.2.1. Análisis Termogravimétrico (TGA)	50
7.4.3. Análisis morfológico.....	51
7.4.3.1. Distribución del tamaño de partícula en almidón.....	51
7.4.3.2. Microscopía electrónica de barrido (MEB).....	51
7.4.4. Análisis estructural.....	51
7.4.4.1. Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).51	
7.4.4.2. Difracción de rayos X (DRX).....	51
7.4.5. Pruebas mecánicas	52
7.4.6. Análisis de viscosidad aparente.....	52
7.4.7. Determinación de la Permeabilidad al Vapor de Agua (WVP).....	52
8. Resultados y Discusión	53
Primera etapa: almidón y celulosa	54
8.1. Almidón de plátano	54
8.1.1. Análisis químico proximal del almidón.....	54
8.1.2. Análisis estructural.....	55
8.1.2.1. Espectroscopia infrarroja	55
8.1.2.2. Difracción de rayos X	56

8.1.2.2.1. Difracción de rayos X del almidón sometido a molienda mecánica	58
8.1.2.3. Análisis reológico	60
8.1.3. Análisis morfológico	63
8.1.3.1. Determinación del tamaño de partícula (DTP).....	63
8.1.3.2. Microscopia electrónica de barrido (MEB)	65
8.1.4. Análisis térmico	67
8.1.4.1. Análisis Termogravimétrico (TGA).....	67
8.2. Raquis de plátano macho (<i>Musa paradisiaca L.</i>)	69
8.2.1. Análisis estructural.....	69
8.2.1.1. Espectroscopia infrarroja	69
8.2.1.2. Difracción de Rayos X	71
8.2.2. Análisis morfológico	74
8.2.2.1. Microscopía electrónica de barrido (MEB)	74
8.2.3. Caracterización térmica	77
8.2.3.1. Análisis termogravimétrico (TGA).....	77
Segunda etapa: Películas	81
8.3. Películas de almidón-celulosa	81
8.3.1. Análisis Estructural	82
8.3.1.1. Espectroscopia infrarroja	82
8.3.1.2. Difracción de Rayos X	84
8.3.2. Análisis térmico	86
8.3.2.1. Análisis termogravimétrico (TGA).....	86
8.3.3. Permeabilidad al vapor de agua	90
8.3.4. Propiedades mecánicas	92

9. Conclusiones	95
10. Perspectivas del trabajo	98
11. Bibliografía.....	99
Participaciones en congresos, Estancias y Cursos.....	112

Lista de tablas

Tabla 1. Combinaciones de almidón y celulosa para la elaboración de películas.	49
Tabla 2. Concentraciones de almidón y celulosa para la elaboración de películas.	49
Tabla 3. Composición químico proximal del almidón nativo de plátano macho (<i>Musa paradisiaca</i> L).....	54
Tabla 4. Formulación de las películas analizadas.....	81
Tabla 5. Grupos funcionales observados mediante FTIR presentes en la estructura de la glucosa.	83
Tabla 6. Datos de la curva de degradación de las películas elaboradas de almidón-celulosa a diferentes formulaciones y concentraciones.	89
Tabla 7. Propiedades mecánicas de las películas elaboradas a partir de almidón de plátano y nanopartículas de celulosa.	93

Lista de Figuras

Figura 1. Organización a múltiples escalas de los gránulos de almidón (adaptado de Le Corre, et al., 2014).	17
Figura 2. Diagrama esquemático de la amilosa en su unidad básica de α -D-glucopiranososa (adaptado de Pérez et al., 2009).....	18
Figura 3. Diagrama esquemático de la amilopectina con un punto de ramificación en la posición O6 (adaptado de Pérez et al, 2009).	19
Figura 4. Patrones de difracción de rayos X característicos de los tres tipos de polimorfos del almidón, el tipo “A” característico de cereales, tipo “B” característico de los tubérculos y tipo “C” característico de las leguminosas (adaptado de Bogracheva et al., 1999).	21
Figura 5. Estructura molecular de la celulosa (adaptada de Van de Vyver et al., 2011).....	26
Figura 6. Fenómeno de cavitación debido al ultrasonido (adaptado de Vollmer et al., 1998; Tiwari y Mason, 2012).	31
Figura 7. Diagrama de las etapas en que se dividen los resultados y discusión. .	53
Figura 8. Espectro de FTIR para el almidón nativo (AN) de plátano macho (<i>Musa paradisiaca</i> L).....	56
Figura 9. Patrón de DRX para el almidón nativo (AN) de plátano macho (<i>Musa paradisiaca</i> L).....	57
Figura 10. Patrones de difracción de rayos X para almidón nativo de plátano macho (<i>Musa paradisiaca</i> L.) sometido a diferentes tiempos (2, 4, 8, 15, 30 y 60 min) de molienda mecánica con material de molienda Fe.	59

Figura 11. Patrones de difracción de rayos X para almidón de plátano macho (<i>Musa paradisiaca</i> L) sometido a diferentes tiempos (2, 4, 8, 15, 30 y 60 min) de molienda mecánica con material de molienda WC.	60
Figura 12. Resultados del análisis reológico para el almidón de plátano macho (<i>Musa paradisiaca</i> L) tratado con molienda mecánica a diferentes tiempos (2, 4, 8, 15, 30 y 60 min), utilizando acero templado (Fe) como material de molienda.	62
Figura 13. Resultados del análisis reológico para el almidón tratado con molienda mecánica a diferentes tiempos (2, 4, 8, 15, 30 y 60 min), utilizando carburo de tungsteno (WC) como material de molienda.	62
Figura 14. Determinación y distribución del tamaño de partícula (DTP) para el almidón nativo de plátano macho (<i>Musa paradisiaca</i> L) con acero templado (Fe).	64
Figura 15. Almidones nativos de plátano macho (<i>Musa paradisiaca</i> L: a, b, c), con 2 min (d, e, f) y 8 min (g, h, i) de molienda mecánica, con aumentos de 1000X, 2500X y 5000X respectivamente.	66
Figura 16. Termogravimetría de las muestras de almidón nativo (AN), almidón con molienda mecánica (AN2Fe y AN8Fe) y glucosa.	67
Figura 17. Primera derivada de los termogramas (DTG) de las muestras de almidón nativo (AN), almidón con molienda mecánica (AN2Fe y ANFe) y Glucosa.	68
Figura 18. Espectros de FTIR del raquis de plátano con y sin molienda mecánica.	70
Figura 19. Patrones de difracción de raquis de plátano nativo y a diferentes tiempos de molienda (2, 4, 8, 15, 30 y 60 min) con tazón y bolas de Fe, usando Celulosa (CS) de Sigma-Aldrich como referencia.	72
Figura 20. Patrones de difracción de raquis de plátano nativo y a diferentes tiempos de molienda (2, 4, 8, 15, 30 y 60 min) con tazón y bolas de WC, utilizando Celulosa (CS) de Sigma-Aldrich como referencia.	72

Figura 21. Micrografías de MEB para las fibras del raquis (a, b, c) y raquis con 8 min (d, e, f) y 15 min (g, h, i) de molienda con WC a diferentes magnificaciones 100X, 500X y 1000X.	75
Figura 22. Micrografías de MEB para fibras de raquis hidrolizadas (CH a, b, c) con 8 (CH8 d, e, f) y 15 (CH15 g, h, i) minutos de molienda.	76
Figura 23. Termograma de las muestras raquis (a), raquis con molienda mecánica de 8 (b) y 15 (c) minutos de molienda, antes y después de cada proceso químico, comparados con el estándar comercial de celulosa sigma (CS).	79
Figura 24. Espectros de IR de las películas elaboradas a base de almidón con incorporación de celulosa a diferentes concentraciones.	83
Figura 25. Representación esquemática de los enlaces por puente de hidrógeno promovidos por la interacción entre la celulosa, almidón y glicerol (adaptada de Frone et al., 2015).	84
Figura 26. Patrones de difracción de rayos X de las películas elaboradas a partir de almidón-celulosa a diferentes concentraciones (1, 3 y 5%) y celulosa con 8 min de molienda mecánica (NPC8).	85
Figura 27. Termograma de la pérdida en peso de las películas elaboradas a base de almidón con a) celulosa obtenida mediante ultrasonido y b) celulosa obtenida mediante molienda mecánica.	88
Figura 28. Primera derivada de los termogramas de la pérdida en peso (DTG) de las películas elaboradas a base de almidón-celulosa.	89
Figura 29. Permeabilidad al vapor de agua de las películas elaboradas a partir de almidón y diferentes concentraciones de nanopartículas de celulosa.	90

1. Introducción

El uso descontrolado de polímeros derivados del petróleo es actualmente un tema muy polémico, ya que la mala disposición final de estos materiales plásticos está incrementando la contaminación del medio ambiente. Según los datos del INEGI, en el 2012, a nivel nacional, se desecharon alrededor de 4585 toneladas de materiales plásticos generados por las ciudades, esto incluye los generados en casa habitación, comercios, instituciones, lugares de recreación, entre otros; sin incluir a los que clandestinamente son arrojados al medio ambiente. Por lo cual, el uso de productos renovables o de base agrícola para la producción de envases de alimentos y sustituir los plásticos derivados del petróleo no degradables comunes se convierte en un tema de gran interés. Una alternativa prometedora para desarrollar nuevos materiales amigables con el medio ambiente, especialmente para aplicaciones de envasados y desechables, es el almidón, el cual es un material inherentemente biodegradable y renovable.

Diversos autores han transformado el almidón nativo en un material termoplástico, para la elaboración de productos parecidos a los plásticos convencionales. En los últimos años, las características de los materiales desarrollados a base de almidón, tales como la alta permeabilidad de oxígeno, la sensibilidad al agua, la resistencia a la fricción y la fragilidad, han mejorado lo que ha permitido proponer su uso como material en la elaboración de empaques o películas para recubrimiento de alimentos. Con la finalidad de mejorar el almidón termoplástico se han propuesto alternativas para incrementar sus propiedades, una de estas propuestas es la de incorporar nanopartículas de origen orgánico o inorgánico como reforzantes dentro de la matriz polimérica.

Las nanopartículas, se definen como aquellas partículas con un diámetro menor a los 100 nm, las cuales pueden ser de origen inorgánico (como el óxido de silicio,

plata, etc.) o de origen orgánico (como la celulosa, que al igual que el almidón, son biopolímeros muy abundantes ya que se encuentran formando parte de la pared celular de todas las plantas). Debido a su carácter semicristalino, la celulosa representa una fuente importante para la obtención de nanopartículas. Los procesos más usados para aislar nanopartículas de celulosa son llevados a cabo en medio acuoso como la hidrólisis química o la enzimática. Estos procesos pueden a su vez ser asistidos por algún tipo de tratamiento físico, entre los cuales se encuentran la molienda mecánica y la ultrasonificación. Dependiendo del método de extracción utilizado, las nanopartículas tendrán diferentes características químicas, estructurales y morfológicas, lo cual le va a conferir distintas propiedades térmicas y mecánicas al almidón en la elaboración de películas de embalaje, lo que permitirá eventualmente obtener adecuados plásticos “verdes” (Chivrac, *et al.*, 2008; Hansen y Plackett., 2008).

2. Fundamento

2.1. Almidón

El almidón es un polímero biocompatible, biodegradable y no tóxico. El almidón es producido por las plantas superiores y es el más grande almacén de energía. Este biopolímero se almacena en tallos, como en la palmera o en tubérculos, como las papas, la malanga y la yuca o mandioca. El almidón es un componente importante de un gran número de productos agrícolas como los cereales (maíz, trigo, arroz, cebada) en los cuales el contenido de almidón es del 30-80%, leguminosas (frijoles, chicharos, habas) con 25–50%, tubérculos (papa, yuca) con 60–90%, y algunos frutos en estado fisiológico inmaduro (mango, plátano) que pueden contener hasta un 70% en base seca de este carbohidrato (Bello-Pérez *et al.*, 1999; Thomas y Atwell, 1999).

2.1.1. Gránulos de almidón y sus componentes

Al formarse en la planta las moléculas de almidón, estas se depositan en los amiloplastos de la célula vegetal, estos eventualmente forman el grano o gránulo de almidón, el cual independientemente de la fuente, posee un modelo de organización predominante para su estructura que se representa a múltiples escalas. Dicha estructura, consiste en: (a) los gránulos (con un tamaño que puede variar entre 2-150 μm , dependiendo de su fuente de extracción). Dentro de los gránulos se encuentran (b) los anillos de crecimiento (capas concéntricas rígidas con un diámetro que oscila entre 120-500 nm). Dichos anillos de pueden describir como (c) lamelas amorfas y lamelas cristalinas (que poseen un grosor de 9 nm). Las lamelas están integradas por (d) “*bloklets*” (20-50 nm) (Gallant, *et al.*, 1997), que contienen (f) nanocristales y estos a su vez cadenas de (g) amilopectina y (h) de amilosa (Le Corre, *et al.*, 2014), tal como se muestra en la **Figura 1**.

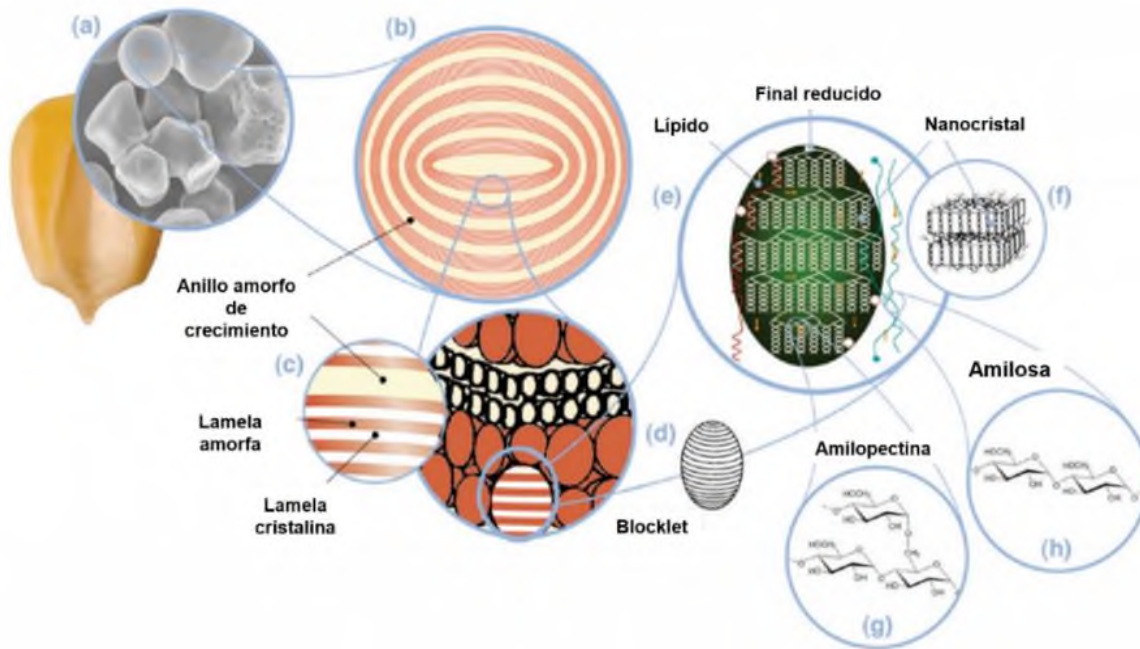


Figura 1. Organización a múltiples escalas de los gránulos de almidón (adaptado de Le Corre, *et al.*, 2014).

La estructura rígida de los gránulos del almidón son una mezcla de dos poliglucanos distribuidos radialmente, la amilosa y la amilopectina, las cuales permanecen inalterables después del proceso de extracción y procesamiento. Estos gránulos ejercen una baja presión osmótica dentro del tejido vegetal por lo cual la planta puede almacenar grandes cantidades de glucosa de una manera muy accesible sin romper el balance de agua interior. La amilosa es la fracción lineal consistente de α -D-glucosa enlazadas a través de enlaces α (1-4), tienen un peso molecular de 10^5 - 10^6 g/mol, un grado de polimerización (GP) aproximado de 324-4920 con alrededor de 9 a 20 puntos de ramificaciones, equivalentes de 3 a 11 cadenas por molécula. La amilopectina, presenta una estructura ramificada unidas por enlaces α (1-6), con un peso molecular entre 10^6 y 10^7 g/mol, son ramificaciones que contiene fracciones cortas de cadenas entrelazadas con cadenas lineales mediante enlaces α (1-6), presenta un GP de 9600-15900 (Dufresne y Cavaille, 1998; Wesslén y Wesslén, 2002; Bayazeed, Elzairy, y Hebeish, 1989; Chakraborty, *et al.*, 2005; MacAllister, 1979; Gallant y Bouchet, 1986; Tester, *et al.*, 2004).

Los gránulos de almidón son insolubles en agua fría, debido a que su estructura altamente organizada presenta una gran estabilidad, como resultado de las múltiples interacciones que existen entre sus dos polisacáridos constituyentes. Sin embargo, al aumentar la temperatura, se inicia un lento proceso de absorción de agua en las zonas intermicelares amorfas, que son las menos organizadas y las más accesibles, debido a la menor cantidad de puentes de hidrógeno en comparación con los de las áreas cristalinas. A medida que incrementa la temperatura, se retiene una mayor cantidad de agua, por lo cual el gránulo empieza a hincharse y aumentar de volumen, sin presentarse un aumento importante en la viscosidad; cuando se ha hidratado por completo la región amorfa, se inicia un proceso semejante en la región cristalina, pero para esto se requiere más energía.

2.1.1.1. Amilosa

La amilosa es un biopolímero esencialmente lineal (**Figura 2**), su estructura está formada por unidades de glucosa unidas por enlaces α (1-4); también se ha reportado la presencia de cierta cantidad de ramificaciones, donde las cadenas están formadas por unidades glucosídicas unidas mediante enlaces α (1-6). Sin embargo, estas ramificaciones se encuentran distribuidas de manera escasa, espaciada e irregularmente, permitiendo que la amilosa exhiba un comportamiento lineal (BeMiller y Whistler, 2009).

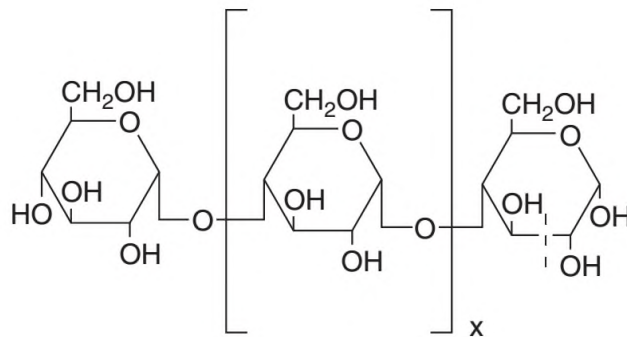


Figura 2. Diagrama esquemático de la amilosa en su unidad básica de α -D-glucopiranososa (adaptado de Pérez *et al.*, 2009).

Debido al acoplamiento axial-ecuatorial de las unidades *D*-glucosa, la molécula de la amilosa presenta una estructura helicoidal (con 6 moléculas de glucosa por giro), otorgándole un interior hidrofóbico/lipofílico que contiene solamente átomos de hidrógeno, colocándose en el exterior del espiral los grupos hidroxilos (BeMiller y Whistler, 1996).

2.1.1.2. Amilopectina

La amilopectina es un polímero altamente ramificado y compacto, esta compuesto por la unión de unidades de α -*D*-glucosa mediante enlaces α (1-4), y puntos de ramificación con uniones α (1-6) cada 15 a 25 unidades de glucosa (**Figura 3**), por este motivo, forma dobles hélices ordenadas de forma paralela.

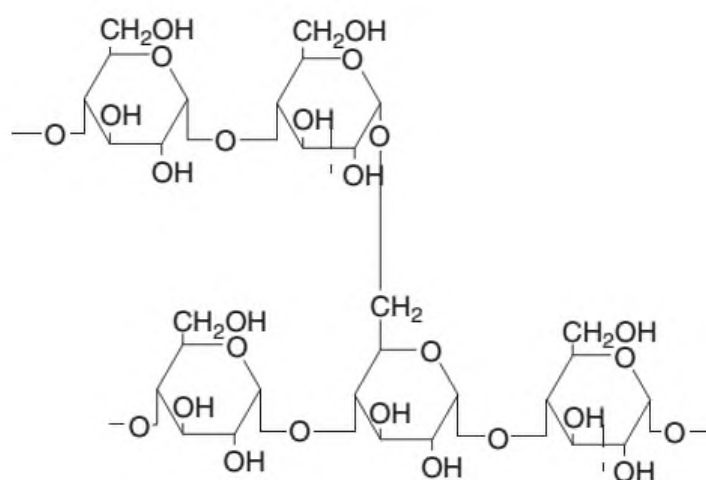


Figura 3. Diagrama esquemático de la amilopectina con un punto de ramificación en la posición O6 (adaptado de Pérez *et al*, 2009).

Debido a las ramificaciones dentro de la estructura de la amilopectina, se presentan tres tipos de cadenas que pueden ser distinguidas en la molécula de amilopectina: cadenas cortas (denominadas A) con un GP de 14-18 de residuos de glucosa, ordenadas en forma de clúster; cadenas largas (denominadas B) con un GP de 45-

55, y cadenas denominadas C, con un GP mayor a 60, la cual posee el extremo reductor (Manners, 1989).

2.1.2. Cristalinidad del almidón

Los gránulos de almidón están formados por regiones cristalinas y amorfas, las cuales al ser observadas bajo la luz polarizada muestran una “Cruz de Malta” (Katz, 1993), lo cual indica que existe un alto grado de orientación molecular dentro del gránulo. La región cristalina está formada por cadenas de racimos de la amilopectina, mientras que la región amorfa está formada por los puntos ramificados de la amilopectina y por la amilosa (Zobel, 1988). La región cristalina ha sido la más estudiada y es consecuentemente la más entendida. La estructura del gránulo del almidón y el arreglo de sus componentes en diferentes niveles de organización, permite explicar las propiedades fisicoquímicas y funcionales de los diferentes almidones.

La investigación de la estructura del almidón se ha realizado mediante difracción de rayos X. Con base a estos estudios se conoce que el almidón posee un carácter semicristalino, aproximadamente el 70% del gránulo de almidón se considera amorfo y aproximadamente el 30% restante cristalino (Whistler y BeMiller, 1997). El almidón presenta tres tipos de patrones de difracción de rayos X: el tipo “A”, tiene picos de mayor intensidad de difracción para los ángulos $2\theta = 15$ y 23 , este patrón es típico de los almidones de cereales (arroz, trigo y maíz). El tipo “B”, tiene picos de mayor intensidad de difracción para los ángulos $2\theta = 5.6$, 15 y 24 , y se ha encontrado en almidones de tubérculos y almidones de maíz altos en amilosa. El tipo “C”, que es una mezcla de los tipos A y B, pero con más inclinación a la del tipo A, observado en los almidones de semillas de legumbres como chícharo y frijol (**Figura 4**). Por lo que se dice que la cristalinidad del almidón se debe al empaquetamiento cristalino de hélices dobles que forman las cadenas externas de la amilopectina (Parker y Ring, 2001).

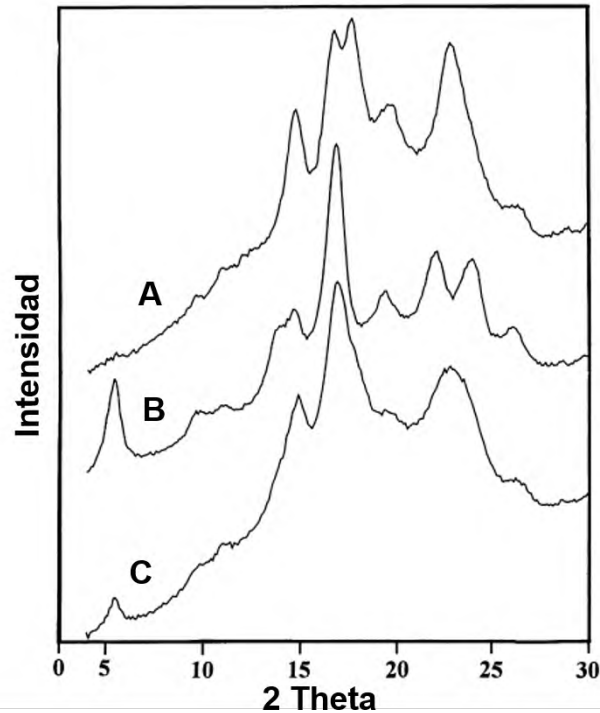


Figura 4. Patrones de difracción de rayos X característicos de los tres tipos de polimorfos del almidón, el tipo “A” característico de cereales, tipo “B” característico de los tubérculos y tipo “C” característico de las leguminosas (adaptado de Bogracheva *et al.*, 1999).

Los polimorfos A y B, difieren en el empaquetamiento de las dobles hélices y en el contenido de agua. El tipo A, es relativamente compacto y con un bajo contenido de agua (4 a 8 moléculas de agua por hélice, las cuales son imposibles de remover sin la completa destrucción de la estructura cristalina). Las cadenas cristalizan en una red monoclinica, con parámetros de red, $a = 21.24 \text{ \AA}$, $b = 11.72 \text{ \AA}$, $c = 10.69 \text{ \AA}$, y $\alpha = 90^\circ$, $\gamma = 123.5^\circ$. El tipo B tiene una estructura más abierta, por lo que hay un mayor contenido de agua (36 moléculas de agua por hélice), muestra una red hexagonal, con empaquetamiento más abierto de las dobles hélices y parámetros de red, $a = b = 18.5 \text{ \AA}$, $c = 10.4 \text{ \AA}$, y $\alpha = \beta = 90^\circ$, $\gamma = 120^\circ$ (Pérez e Imbert, 2000; Hoover, 1998).

2.1.3. Almidón de plátano

El almidón es usualmente aislado de diversas fuentes botánicas como cereales, leguminosas, tubérculos y frutas. En estas últimas, la concentración de almidón varía con el estado de madurez y constituyen una fuente alternativa para el aislamiento del almidón. Actualmente las industrias buscan nuevas fuentes alternas para el aislamiento del almidón, el uso de algunos frutos en estado verde o inmaduro ha despertado gran interés en este aspecto. El plátano macho (*Musa paradisiaca* L.) es un fruto que en estado inmaduro presenta una concentración del 70 al 80% de almidón (en base seca). Se dice que el almidón de plátano posee mayor estabilidad que otros almidones en estado nativo, además de presentar comparablemente una baja solubilidad y un bajo poder de hinchamiento, lo que refleja una estructura fuertemente organizada. Dichas características funcionales pueden ser aprovechadas para que sea utilizado comercialmente como ingrediente en alimentos procesados (Bello-Pérez y Paredes-López, 1999; Zhang, *et al.*, 2005; Guerra-Della Valle, *et al.*, 2008). De esta forma, el aislamiento de almidón a partir de plátano macho verde se convierte en una buena alternativa gracias a su rentabilidad. En la Cuenca del Papaloapan el cultivo de plátano macho es la segunda actividad agrícola más importante representando un 2.3 % de producción nacional (SAGARPA-Siacon, 2007). Sin embargo, una gran cantidad de fruto en estado inmaduro es desechado por los productores plataneros y muy pocas veces utilizado para alimentar a algunos animales de corral o como abono para del mismo sembradío.

2.1.3.1. Características estructurales del almidón

La funcionalidad de los almidones va a depender de la proporción de amilosa y amilopectina que contenga, el tamaño molecular, la estructura, las propiedades de los gránulos y su composición química (lípidos y proteínas). En general los gránulos de almidón de plátano macho (*Musa paradisiaca* L.) pueden presentar forma oval, elipsoidal o irregular alargada con un tamaño promedio de entre 20 a 50 μm . Debido a estas características, el almidón de plátano es una de las fuentes renovables más importantes, ya que cada gránulo de almidón contiene amilosa. La amilosa tiene la

capacidad de interaccionar con otros materiales o polímeros y de modificarse con cualquier agente entrecruzante. Esta interacción le brinda buenas propiedades mecánicas al almidón que le permite ser empleado en diversas aplicaciones como son la elaboración de biopelículas.

2.2. Biopelículas

El almidón de plátano ha sido utilizado para la elaboración de películas, ya sea en forma nativa (Romero-Bastida, *et al.*, 2005) o modificado químicamente (Zamudio-Flores, *et al.*, 2006, 2007). De los resultados obtenidos, destacan el uso del almidón de plátano macho (*Musa Paradisiaca L.*) para la elaboración de biopelículas ya que este tipo de almidón posee mayor contenido de amilosa (35%), lo cual se considera adecuado para la obtención de películas con buenas propiedades mecánicas, en comparación con las películas hechas a partir de otros almidones obtenidos de fuentes convencionales y no convencionales. Sin embargo, aun utilizando almidón modificado, las películas presentan una alta permeabilidad al vapor de agua y bajas propiedades mecánicas en comparación con las películas elaboradas a partir de polímeros sintéticos tal como el polietileno. Por esta razón se hace uso de la concentración adecuada de un plastificante o la adición de reforzantes que permitan que las películas de almidón sean menos frágiles, más flexibles y resistentes, debido a su habilidad de reducir los enlaces internos de hidrógeno entre las cadenas del polímero, e incrementar en consecuencia, el espacio entre las moléculas (Lieberman y Gilbert, 1973).

2.2.1. Plastificantes

Un plastificante se define como una molécula pequeña, poco volátil y con un punto de ebullición elevado, cuando se adiciona un plastificante en un material polimérico modifica la organización tridimensional de las moléculas, disminuyendo las fuerzas de atracción intermoleculares aumentando los espacios y la movilidad de las cadenas. Como resultado de estos cambios en la organización molecular, el plastificante modifica las propiedades funcionales del polímero. Cuando se

adicionan altas cantidades de plastificante en la formulación de las películas, ocurren cambios significativos en las propiedades de estas, como son incremento en la extensibilidad y flexibilidad, además, se facilita la difusión de moléculas permanentes y tiene efectos negativos en sus propiedades de barrera (McHugh y Krochta, 1994; Cuq *et al.*, 1997).

Con excepción del agua, que puede ser considerada como el plastificante en la mayoría de películas elaboradas a base de hidrocoloides, los plastificantes más usuales son los polioles y los mono-, di- y oligosacáridos (Cuq *et al.*, 1998). Entre los polioles más usados están el glicerol, propilenglicol, polietilenglicol 200, polietilenglicol 40 y el sorbitol. El glicerol es un polihidroxi alcohol ampliamente utilizado en la industria química, farmacéutica y cosmética, en virtud de sus propiedades humectantes, antisépticas, higroscópicas y espesantes. Se trata de un líquido incoloro, viscoso y casi inodoro, que posee una temperatura de ebullición de 290 °C y una temperatura de fusión de 17.9 °C. Su fuerza de tensión superficial es menor que la del agua, pero mayor que la de muchos disolventes tensorgánicos; resulta soluble en agua y alcoholes, es insoluble en éter y cloroformo. El glicerol es un disolvente de extraordinario valor, capaz de formar disoluciones concentradas y permanentes, imposibles de obtener con otros vehículos (Hernández *et al.*, 2000; Mali, *et al.*, 2004).

2.2.2. Reforzantes

Se han utilizado diversos tipos de nanopartículas o rellenos minerales (como talco, caolín o arcillas) para la elaboración de nanocompositos dispersados, con la finalidad de permitir que sus grupos polares se asocien fácilmente con el almidón termoplástico. Dependiendo de la dispersión del agente reforzante utilizado en la elaboración de las películas, este puede incrementar la biodegradabilidad, favorecer la resistencia térmica, resistencia al paso de oxígeno, minimizar la migración de agua a través de la biopelícula y mejorar sus propiedades mecánicas (Bhatnagar y

Sain, 2005; Azizi Samir *et al.*, 2005). El uso de reforzantes sintéticos (ejemplos: fibra de vidrio, nanoarcillas, carbón o aramidas) ya han sido utilizados para mejorar las propiedades de las biopelículas de almidón debido a su alto funcionamiento y versatilidad. Sin embargo, estos materiales no se desintegran al 100% en el medio ambiente, lo cual ha provocado la búsqueda para reemplazar este tipo de agentes, por reforzantes naturales (Bhatnagar y Sain, 2005).

En los últimos años, se ha trabajado mucho sobre la obtención de nanocristales obtenidos a partir de diferentes polisacáridos. Un ejemplo de estos son las denominadas partículas de celulosa como agentes reforzantes en matrices poliméricas (Chen *et al.* 2011; Siqueira *et al.* 2011). La ventaja de uso de celulosa es su baja densidad, carácter renovable y biodegradabilidad (Azizi Samir *et al.*, 2005).

2.3. Celulosa

La celulosa es considerada el biopolímero más abundante en la tierra. La celulosa es el principal componente de la pared celular de las plantas se puede obtener de la madera, algodón, cáñamo y otros materiales vegetales. Su producción anual se estima en más de 7.5×10^{10} toneladas (Habibi *et al.*, 2010), de esta cantidad, solo alrededor de 6×10^9 toneladas son procesadas por las industrias, tales como la papelera, textil, materiales y la industria química. La celulosa es sintetizada también en el reino animal, proveniente principalmente de animales marinos conocidos como tunicados (Henriksson y Berglund 2007; Iwamoto *et al.*, 2007). Independientemente de su origen, la celulosa nativa es un homopolisacarido lineal compuesto por la unión de moléculas β -glucopiranosas mediante enlaces β -1,4-O-glucosídico (**Figura 5**), donde la unidad de repetición es un dímero de glucosa, cuya fórmula es $(C_6H_{10}O_5)_n$, la cual es conocida como celobiosa.

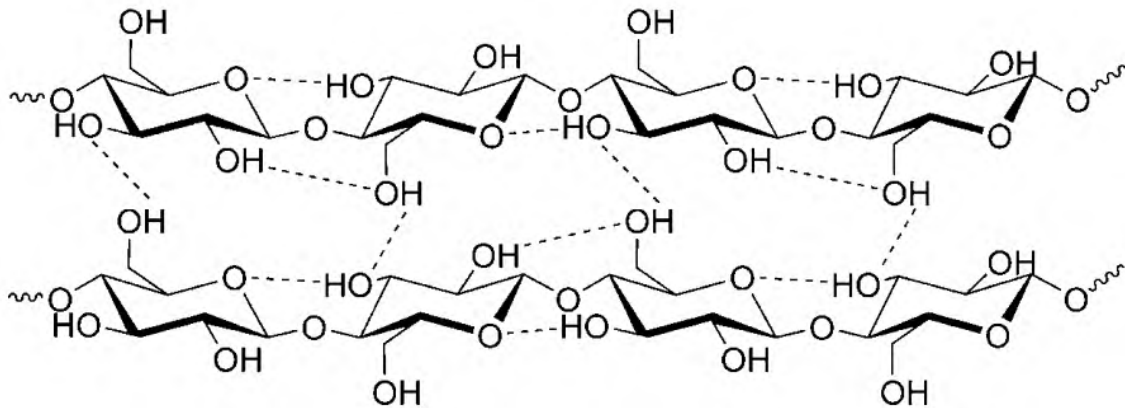


Figura 5. Estructura molecular de la celulosa (adaptada de Van de Vyver *et al.*, 2011).

Cada monómero de glucosa tiene tres grupos hidroxilos en el polímero de celulosa, estos grupos hidroxilos son los principales responsables de la variedad de enlaces de hidrógeno inter e intra moleculares, los cuales dan origen a varios arreglos cristalinos conocidos como polimorfos o alomorfos de celulosa (Maya y Sabu, 2008). Se han reportado 6 arreglos cristalinos diferentes para la celulosa: la nativa o tipo I, II, III_I, III_{II}, IV_I y IV_{II}.

La celulosa I o celulosa nativa tiene un gran tamaño molecular y según su procedencia posee grados de polimerización comprendidos entre 1.8 a 1.4×10^6 monómeros. A causa de su alto peso molecular y su estructura firmemente ordenada es insoluble en agua. También, posee una baja capacidad de absorción de agua, aunque varía con respecto a la fuente botánica de la celulosa. La celulosa I se presenta de forma natural mientras que las otras formas restantes son producidas a partir de la celulosa nativa mediante diferentes tratamientos químicos (Aulin, 2009; Siqueira *et al.*, 2010a).

La celulosa II se obtiene por regeneración o mercerización de la celulosa I. El tratamiento de la celulosa con amoníaco líquido o ciertas aminas permite la preparación de la celulosa III a partir de la celulosa I (III_I) o de la celulosa II (III_{II}). La celulosa III tratada a altas temperaturas con glicerol es transformada en celulosa IV y se presenta en dos alomorfos dependiendo de si parte de III_I (IV_I) o de III_{II} (IV_{II}).

Recientemente, se ha encontrado (Atalla y Vanderhart, 1984) que la celulosa tipo I contiene dos fases coexistentes: celulosa I_α y celulosa I_β en una proporción que varía dependiendo de su origen. La celulosa I_α se encuentra principalmente en algas y bacterias, mientras que la celulosa I_β es el componente principal de las plantas superiores y del tunicato.

La forma cristalina de la celulosa ha sido estudiada mediante difracción de rayos X (DRX) y la relación de las fases presentes en la celulosa I se ha estudiado con técnicas como espectroscopia infraroja (FTIR) y resonancia magnética nuclear (RMN). (Rondeau-Mouro *et al.*, 2003; Newman y Hemmingson, 1990; Hulleman *et al.*, 1994) A través de estos estudios, se conoce que la celda unitaria monoclinica de la fase I_β tiene dimensiones $a=8.01 \text{ \AA}$, $b=8.17 \text{ \AA}$, $c=10.36 \text{ \AA}$ y $\gamma=97.3^\circ$. La fase I_α correspondiente a una celda triclinica con dimensiones $a=6.74 \text{ \AA}$, $b=5.93 \text{ \AA}$, $c=10.36 \text{ \AA}$, $\alpha=117^\circ$, $\beta=113^\circ$ y $\gamma=97.3^\circ$. Asimismo, se ha determinado que la celulosa I_α es metaestable y se puede convertir en I_β con tratamiento hidrotérmico a 260 °C. Este cambio es causado por la modificación de los enlaces que dan origen a las fases de la celulosa nativa.

En las plantas la celulosa se encuentra en forma de microfibras en la pared celular primaria, secundaria y terciaria, organizadas ya sea de manera unidireccional o como una malla entretrejida. Estas microfibras están asociadas a una matriz no-celulósica de hemicelulosa, pectinas y lignina. Las microfibras de celulosa son

haces de cadenas moleculares glucopiranosas de un espesor de 5 nm, cuyo módulo de Young alcanza los 134 GPa, con una densidad de 1.5 g/cm³ y una resistencia estimada de alrededor de los 2 GPa. Las microfibras de celulosa tienen un diámetro desde 20 hasta 200 Å, mientras su longitud puede alcanzar varias decenas de micrones. Estas características son la causa de las interesantes propiedades mecánicas de las microfibras (Rondeau-Mouro *et al.*, 2003).

Las microfibras son obtenidas de la biomasa mediante tratamiento químico seguido de un tratamiento físico, con el fin de obtener una suspensión homogénea de microfibras individuales (Herrick *et al.*, 1983; Turbak *et al.*, 1983). En este proceso, se efectúa la desintegración de la celulosa por la generación de altas fuerzas de corte. Como consecuencia de lo anterior, las microfibras de celulosa se desprenden del material que las rodea y mantiene unidas a otras microfibras para dar lugar a la formación de una estructura de red integrada por fibras de dimensiones nanométricas. La celulosa obtenida por este procedimiento, es llamada celulosa micro fibrilada (MFC).

Las microfibras de celulosa son paquetes de fibras de escala nanométrica. Se ha determinado que en las plantas estas nanofibras de celulosa tienen la capacidad de soportar la presión ejercida por el agua contenida en las células vegetales. Debido a esto se propone el uso de la celulosa a escalas nanométricas para la elaboración de nanocompositos, donde la nanocelulosa actúa como relleno o reforzante en una matriz polimérica. Entre sus ventajas, las nanofibras de celulosa tienen gran relación de aspecto superficial (L/d, siendo L longitud y d diámetro), compatibilidad con polímeros naturales, altos valores de resistencia y módulo de viscosidad, así como otras propiedades físicas favorables asociadas con alta cristalinidad de la conformación de la cadena.

Las propiedades mecánicas de la celulosa han sido utilizadas en aplicaciones de materiales tales como la madera, el papel, construcción de mobiliario, ropa, empaques, etc., sin embargo, las microfibras de celulosa no han sido explotadas específicamente como refuerzo en polímeros termoplásticos. Una alternativa para elaborar composites es el almidón termoplástico. La similitud química entre la celulosa y el almidón genera una buena compatibilidad entre ellos, resultando en notables mejoras en las propiedades mecánicas (Wollerdorfer y Bader, 1998). Los composites de almidón-celulosa son significativos desde una perspectiva ambiental, ya que ambos constituyentes son naturales, generando así materiales que se pueden degradar bajo condiciones ambientales bien definidas (Gatenholm y Mathiasson, 1994).

Los procesos desarrollados para el aislamiento de la celulosa se realizan en medio acuoso, en los cuales se promueven la accesibilidad de los grupos hidroxilos, de esta forma la superficie interna, la alta cristalinidad y el rompimiento de los puentes de hidrógeno de la celulosa favorecen el aumento de la reactividad de las fibras. Los tratamientos más utilizados son: hidrólisis enzimática, hidrólisis alcalino-ácida e hidrólisis con líquidos iónicos. Pero estos métodos no son suficientes para llegar a escalas nanométricas, por lo cual se propone el uso de diferentes métodos físicos como pretratamiento en la extracción y la reducción de la celulosa a dimensiones nanométricas. Los cuales se han empleado extensamente para la extracción de nanopartículas de celulosa, estos métodos se pueden usar solos o acoplados entre ellos, según sea el grado de desfibrilación o la reducción del tamaño de partícula deseada (García-Ramón, 2015). En el presente trabajo se proponen el uso del ultrasonido y la molienda mecánica como una alternativa novedosa para la obtención de nanopartículas de celulosa, debido al corto periodo de tiempo al que se llegan a escalas micro y nanométrica, estas técnicas se describen a continuación:

2.3.1. Ultrasonicación

En los últimos años la aplicación de ultrasonido para el proceso de extracción y refinación de distintos materiales ha recibido una creciente atención. Debido a que el tratamiento con ultrasonido es simple y requiere de tiempos más cortos y de temperaturas más bajas que las técnicas convencionalmente utilizadas en plantas de procesamiento de materiales.

El tratamiento con ultrasonido de alta intensidad consiste en la aplicación de ondas de sonido en la gama de frecuencias de 20 a 100 kHz (Mason y Lorimer, 2002) con una intensidad de sonido de 10 y 1000 W/cm². La energía vibracional proviene del transductor ultrasónico que convierte la energía eléctrica a energía de sonido de los cuales hay dos tipos usados más comúnmente, piezoeléctricos y magnetostrictivos, siendo el piezoeléctrico el más común (Mason, 1998). Los transductores magnetostrictivos son menos eficientes en términos de consumo de energía eléctrica, pero tienen la ventaja de ser de una construcción más robusta, por lo cual se están aplicando a servicios pesados.

La aplicación de ultrasonido en el laboratorio y la industria alimentaria ha recibido una creciente atención. La ultrasonicación se ha utilizado para mejorar los procesos de reducción del tamaño de partícula, secado, extracción, filtración (Bhaskaracharya *et al.*, 2009), depolimerización o degradación de macromoléculas (Sun *et al.*, 2002) y emulsificación entre muchas otras aplicaciones (Gülseren *et al.*, 2007). En un medio líquido el ultrasonido se transmite en forma de ondas de compresión. Estas ondas al comprimirse provocan la formación y el colapso de burbujas microscópicas, las cuales van acompañadas por la generación de ondas de compresión y fuerzas de cizallamiento de alta intensidad, estas burbujas colapsan durante el ciclo de presión positiva y producen condiciones de flujo altamente turbulentas y presiones locales y temperaturas extremadamente altas. La temperatura transitoria puede ser tan alta como 4726.85 °C y presiones que pueden

llegar a 1200 bar, a este proceso se le conoce como cavitación acústica (Bernstein, *et al.*, 1996), ver **Figura 6**.

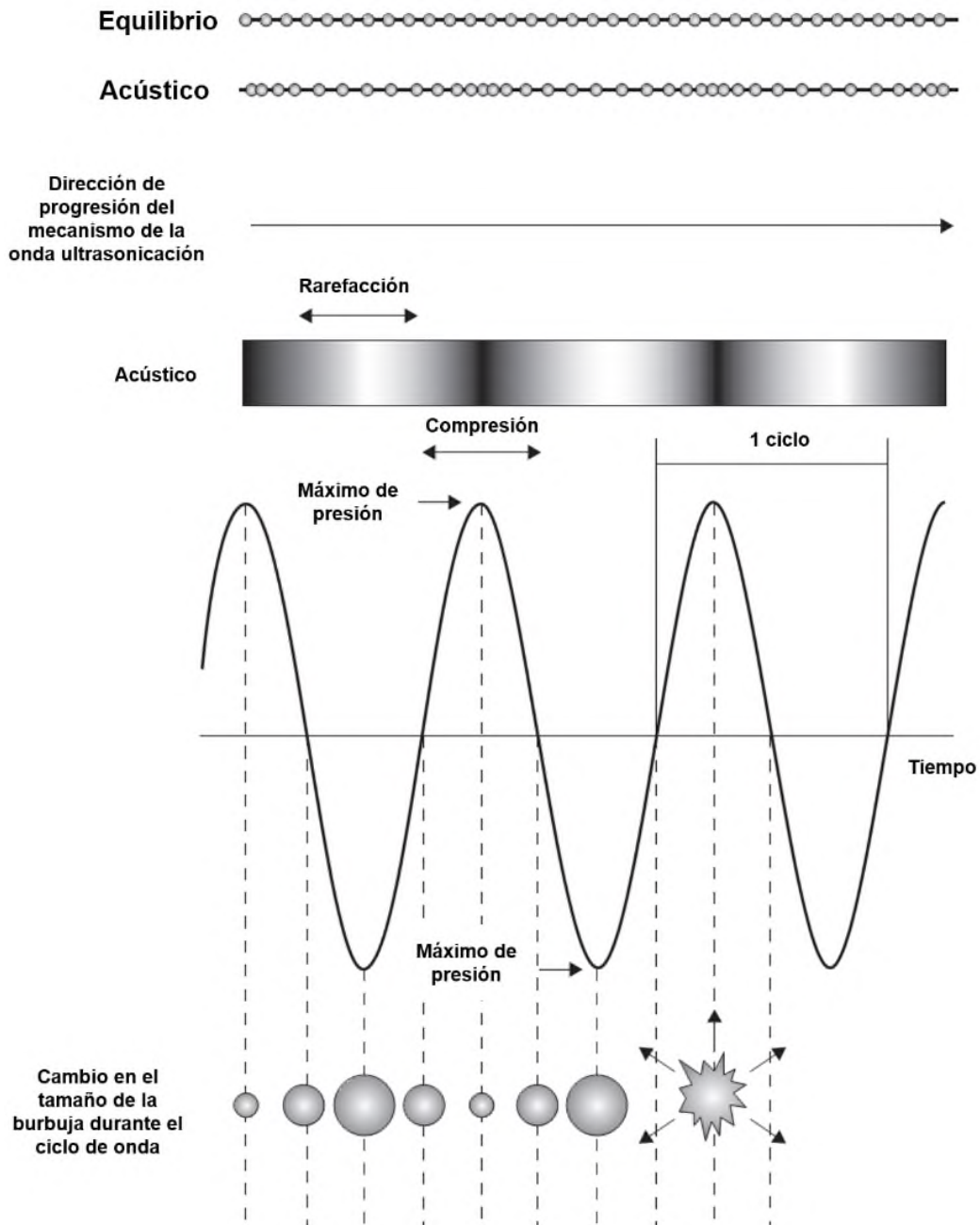


Figura 6. Fenómeno de cavitación debido al ultrasonido (adaptado de Vollmer *et al.*, 1998; Tiwari y Mason, 2012).

2.3.2. Molienda mecánica

La molienda mecánica es una técnica de procesamiento de materiales en estado sólido que se realiza en molinos de bolas de alta energía. La molienda mecánica tiene el objetivo de obtener polvos con estructuras cristalinas difíciles de alcanzar con otras técnicas, es decir, reducir el tamaño de partícula y cambiar su forma; obteniéndose una microestructura fina y controlada de polvos metálicos y cerámicos, lo que puede derivar en el mejoramiento de sus propiedades físicas (Benjamin, 1970). La molienda mecánica es un proceso donde la materia que se deposita en su interior se suelta, se rompe y se vuelve a soldar; ya que dentro del molino se producen impactos continuos debido al movimiento continuo de bolas o cuerpos moledores que inducen la fractura de las partículas de polvo. En el proceso de la molienda mecánica, normalmente hay una etapa en el proceso en la que se produce un equilibrio en la fractura, obteniéndose polvos con una microestructura muy homogénea. De este modo las partículas de polvo se refinan obteniéndose polvos a escala muy pequeña con una cierta distribución de tamaño de partícula. El uso de molinos de alta energía permite ir más allá y reducir el tamaño de las partículas a dimensiones micrométricas, e incluso nanométricas. Lo anterior es debido a que la energía involucrada en las colisiones es muy alta (Benjamin, 1970; Gilman *et al.*, 1983; Edil, 1998; Habashi, 1998). Para conocer como el proceso va teniendo lugar dentro del molino es necesario determinar el tamaño de partícula del que se parte y el que se quiere obtener, así se puede clasificar el polvo extraído según el diámetro y su forma.

El proceso se basa en la relación que existe entre el tiempo de molienda y la reducción de tamaño de partícula. En este proceso se genera gran cantidad de calor, debido a la energía mecánica generada en los choques de las bolas con la superficie del tazón. La molienda mecánica consiste en la fragmentación de la materia en partículas finas al suministrar energía mecánica a través de un medio de molienda (bolas). Durante este proceso pueden involucrarse diferentes modos de acción (corte, soldadura, compresión, impactos por cuerpos de molienda, etc.)

según el tipo de molino utilizado, así como las condiciones de molienda utilizadas (Cuenca-Álvarez, 2003; Campos-Vaquero, 2011). La muestra de interés, junto con el medio de molienda, se encuentran distribuidos dentro de un tazón, normalmente hecho del mismo material del que están hechas las bolas de molienda. Durante el procesamiento del material, las bolas colisionan entre si y contra las paredes del contenedor, con cierta cantidad de polvos atrapados durante las colisiones.

Durante la molienda, los polvos constantemente se fracturan, se unen (soldadura en frío) y nuevamente se fragmentan. En esta etapa las partículas son blandas y forman nuevas superficies con una mayor energía superficial, por lo que la tendencia a soldarse y formar partículas de mayor tamaño es alta; a medida que el proceso continúa, las partículas se endurecen y su capacidad para resistir una deformación sin fragmentarse decrece, en este caso la fragmentación predomina sobre la soldadura en frío. Después de un determinado periodo de tiempo se llega a un estado de equilibrio dinámico, es decir, se alcanza un balance entre la frecuencia de soldadura en frío y la frecuencia de fragmentación, por lo que el tamaño de las partículas permanece constante, mientras que el tamaño de grano continúa refinándose (Suryanarayana, 2001; Soni, 2001).

2.3.2.1. Molino planetario

El molino planetario puede estar constituido de dos a cuatro contenedores o tazones de molienda, los cuales giran simultáneamente sobre su propio eje sobre un disco rotatorio que gira en sentido contrario. El efecto producido por las fuerzas centrífugas opuestas provoca que el medio de molienda impacte desde un extremo lateral del contenedor hasta el otro. La cantidad de polvos que se pueden procesar en los molinos planetarios de laboratorio es desde 1 a 240 gramos (Suryanarayana, 2001).

La aplicación de la molienda mecánica de alta energía es una tecnología utilizada desde hace muchos años en diferentes industrias como la minera y farmacéutica, mejorando la homogenización de los diferentes productos que después se compactan en frío. También, se ha utilizado en la industria metalúrgica en procesos de trituración, afino y homogenización de polvos, y en química extractiva (preparación de cementos y hormigón, preparación de pinturas y pigmentos metálicos). El cambio de su uso para crear nuevos materiales comienza con las aleaciones resistentes por dispersión de óxidos y actualmente en el procesamiento de biopolímeros como celulosa, almidón y quitina.

2.3.2.2. Etapas del proceso de molienda mecánica

Etapa 1. Inicial

Comienza la deformación del polvo al estar entre las bolas. Los polvos de materiales dúctiles, se deforman fácilmente por las fuerzas de compresión, en cambio, los polvos de materiales frágiles se fracturan con mayor facilidad.

Etapa 2. Predominio de la soldadura

En esta etapa aparecen partículas con estructura multicapas, donde, las láminas van soldándose e incrementando el espesor de las partículas, por la acción de los cuerpos moledores.

Etapa 3. Formación de partículas equiaxiales

Este tipo de partículas aparecen en esta etapa debido a la pérdida de ductilidad del material que presenta una mayor tendencia a la conminución, a causa, del endurecimiento a lo largo de las diferentes etapas.

Etapa 4. Soldadura con orientación desordenada

En esta etapa predominan los procesos de fractura de las partículas adquiriendo una morfología totalmente equiaxial y un aumento de las propiedades del polvo, como es la dureza.

Etapa 5. Afinamiento de la estructura

En esta etapa final se alcanza una homogenización interna del polvo obteniendo un polvo de composición deseada y prealeado equivalente a la composición porcentual de la mezcla del polvo inicial. En esta última etapa es donde aparecen los equilibrios en los procesos de fractura y soldadura, un crecimiento en la microdureza del polvo y una disminución de la ductilidad (Edil, 1998; Habashi, 1998; Campos-Vaquero, 2011)

2.3.2.3. Variables del proceso de molienda.

Las variables que influyen en el proceso de molienda mecánica de alta energía son muy diversas, tales como:

a) Tipo de bolas

El tamaño de las bolas utilizadas debe ser el adecuado para el molino empleado, ya que la energía cinética que se crea depende de la masa y velocidad que se marcan. Por ello, la utilización de bolas de materiales densos como el acero es más adecuado. Aunque se debe tener en cuenta que una densidad elevada puede reducir la frecuencia de los choques e impedir un movimiento continuo.

b) Relación masa/carga

La relación bola/carga es uno de los parámetros más importantes en molienda mecánica, suele oscilar normalmente entre 10:1 y 20:1 pero depende del tipo de molino.

c) Frecuencia e intensidad de molienda

Es fácil darse cuenta que cuanto más rápido gira el molino mayor será la entrada de energía en el polvo. Pero, en función del diseño del molino hay ciertas limitaciones a la velocidad máxima que se podría emplear. Por ejemplo, en un molino de bolas convencional el aumento de la velocidad de rotación aumenta la velocidad con la que las bolas se mueven. Por encima de una velocidad crítica, las bolas se pegan a las paredes internas del vial y no caen hacia abajo para ejercer ninguna fuerza de impacto. Por lo tanto, la velocidad máxima debería ser justo debajo de este valor crítico para que las bolas caigan por debajo de la altura máxima para producir la máxima energía de colisión.

d) Tipo de molino

La selección del molino es un factor importante en los resultados que se obtendrán y para ello se necesita comprobar su capacidad, el costo, el tiempo de ciclo al que se someterá, el tipo de material y la distribución de tamaño de partícula.

e) Fractura de las partículas

Las fracturas de partículas se producen cuando la presión de molienda es alta y la resistencia de las partículas es baja, en un entorno de velocidades elevadas al incrementar la energía de las colisiones. La producción de partículas de tamaño de

micras se consigue con el uso de medios de molienda con tamaños más pequeños, donde la estructura crea diferentes resultados de fractura según su distribución.

f) Atmósfera

Cuando se trabaja con atmósfera controlada se consigue una reducción de la contaminación mediante la colocación del molino dentro de un recinto, donde se controle la atmósfera o bien sellar el contenedor. Las atmósferas controladas suelen ser de gases nobles como el argón (Ar) o helio (He). En cambio, los procesos sin control de la atmósfera producen mayores contaminaciones por la formación de compuestos volátiles o no volátiles y por la absorción de gases por los polvos sin procesar. Con este proceso se sintetizan nitruros o hidruros de metal debido a las reacciones sólido-gas.

g) Materia prima

Generalmente se trabaja con polvos equiaxiales, hecho que favorece la obtención de un producto final con propiedades físicas y químicas sin ejes preferenciales. En caso contrario, una posible dirección preferencial en el material de partida podría mantenerse hasta el final del proceso, y después de compactar los polvos se podría tener un material con marcada anisotropía en sus propiedades mecánicas. En cuanto al tamaño de las partículas, en el caso de materias en forma de polvo, oscila normalmente entre 5 y 500 micras. Para facilitar procesos difusivos se desea que el tamaño de partículas sea lo más parecido posible entre los distintos componentes.

3. Antecedentes

La contaminación por desechos plásticos derivados del petróleo es un problema que afecta actualmente al medio ambiente. Por lo cual, recientemente se han realizado estudios relacionados con la elaboración de materiales a partir de fuentes botánicas, con el fin de desarrollar e introducir nuevos productos biodegradables que presenten propiedades físicas similares o superiores a los de los plásticos convencionales. Debido a esto se propone el uso de materiales nanoestructurados, los cuales por efecto de las nanopartículas contenidas como reforzante, poseen mejores propiedades físicas en comparación con el material base del nanocompuesto; por ejemplo: mayores temperaturas de degradación, mejores propiedades mecánicas o de barrera de gases.

En la actualidad el uso de biopolímeros está teniendo mucho auge, por lo que se emplean diferentes métodos para su extracción, como son los métodos químicos, enzimáticos, físicos, o combinaciones de estos, entre otros. Debido a la amplia distribución a nivel mundial del almidón y de la celulosa, y a su naturaleza semicristalina se están generando nanopartículas de estos biopolímeros y se están empleando en la elaboración de materiales nanoestructurados. Lo anterior con la finalidad de aumentar la resistencia a las variaciones de temperatura, al desgaste y mejorar la permeabilidad de gases (por ejemplo, más permeable al vapor de agua) del material compuesto. Por tal motivo, se han empleado métodos físicos para el procesamiento de estos biopolímeros, como son la ultrasonicación y la molienda mecánica. Dichos métodos en el caso de la celulosa, facilitan la reducción del tamaño de partícula a escalas nanométricas, generan una mayor superficie de contacto, producen una distribución de partícula más homogénea facilitando las interacciones entre la matriz y el reforzante del compuesto. A continuación se mencionan algunos trabajos relacionados con celulosa y almidón:

Schwanninger *et al.*, 2004, estudiaron mediante la técnica de FTIR el efecto de tiempos cortos de molienda mecánica sobre la celulosa de madera. Observaron cambios en la estructura relacionados a cambios en las bandas de absorción del espectro IR. Esto debido a la influencia del tratamiento mecánico aplicado, relacionándolo directamente como un efecto de la temperatura y tamaño de partícula alcanzado después del proceso de molienda. Los cambios más notorios en los espectros se observaron en la banda característica del grupo –OH en la región de 3200 a 3500 cm^{-1} . Estos cambios se atribuyeron a una disminución del grado de cristalinidad y/o degradación de la celulosa.

Huang *et al.*, 2008, estudiaron el efecto de la molienda mecánica sobre las propiedades y características fisicoquímicas del almidón de maíz y yuca. Observaron una disminución en la temperatura y la entalpia de gelatinización; así como un incremento en el contenido de amilosa, en la solubilidad en agua fría y en la transparencia. Estos cambios fueron atribuidos a la amorfización progresiva de la estructura semicristalina del almidón. Señalando que para las diferentes etapas de degradación del almidón después de cada tiempo de molienda pueden sugerir diferentes aplicaciones.

Müller *et al.*, 2009, estudiaron el efecto de la adición de fibras de celulosa en las propiedades mecánicas y de barrera al vapor de agua de películas a base de almidón. Observaron que la incorporación de las fibras en la película, proporciona alta resistencia a la tensión, baja capacidad de deformación y baja permeabilidad al vapor de agua comparada con una película control. Además, la adición de la celulosa aumenta la viscosidad de la solución filmogénica.

Liu *et al.*, 2011, estudiaron el efecto del tratamiento con molienda mecánica sobre la estructura y porosidad del gránulo de almidón de maíz, utilizando distintos

tiempos de molienda (1, 2 y 3 h), a 500 rpm y utilizando cerámica como material de molienda. Observaron una amorfización progresiva después de cada tiempo de molienda, esto debido a un decremento del contenido de la doble hélice de amilosa dentro del almidón. Mediante FTIR, observaron un incremento en la banda localizada en 3382 cm^{-1} y una disminución relacionada a las bandas de $1047\text{-}1018\text{ cm}^{-1}$ y $1018\text{-}995\text{ cm}^{-1}$ correspondientes a la zona cristalina y la zona amorfa de la estructura del almidón. Con respecto a la porosidad del almidón, ésta se vió rápidamente afectada después de cada tiempo de molienda, debido a que la superficie del granulo de almidón se fracturó con las fuerzas de impacto generadas durante la el proceso de molienda, de tal modo que la porosidad del granulo incrementó.

Teixeira *et al.*, 2011, Estudiaron el uso del bagaso de caña de azúcar para la extracción de whiskers de celulosa. Ellos utilizaron un pretratamiento alcalino con $\text{NaOH}/\text{H}_2\text{O}_2$ seguido de una hidrolisis con H_2SO_4 a $45\text{ }^\circ\text{C}$, posteriormente utilizaron la ultrasonicación como método para disminuir el tamaño de partícula. Observaron que después de cada tratamiento el tamaño de partícula se redujo considerablemente, pero después de la ultrasonicación se alcanzó a reducir las fibras a tamaños nanométricos. Apoyándose en la difracción de rayos X, pudieron observar que las fibras nativas mostraban los polimorfos I y II de la celulosa, y que después de cada tratamiento la intensidad del pico característico para el polimorfo I disminuía, mientras que el del polimorfo II aumentaba considerablemente. Además de esto, mediante termogravimetría observaron que las temperaturas de degradación variaron con respecto a cada tratamiento.

Yu y Wu, 2011, estudiaron el efecto de la molienda mecánica (a tiempos de molienda de 1, 4 y 7 h) como pretratamiento de la hidrólisis en agua caliente a altas presiones (Hot-Compressed Water) de la celulosa microcristalina. Observaron una considerable reducción del tamaño de partícula, de la cristalinidad de la celulosa (de

0.79 % a 0.58 y 0.38 %, después de 1 y 4 h de molienda respectivamente) y específicamente de su reactividad durante la hidrólisis. También, contrastaron los resultados usando molienda mecánica en condiciones de criogenia por 2 min, obteniendo una considerable reducción en el tamaño de partícula de la celulosa, pero sólo pequeños cambios en la cristalinidad (de 0.79 a 0.78 %) y en la reactividad durante la hidrólisis.

Avolio *et al.*, 2012, estudiaron el efecto de la molienda mecánica sobre fibras de celulosa comercial. Utilizaron acero templado (Fe) como material de molienda, con una relación esferas:celulosa de 10:1 en peso, y tiempos de molienda de 2, 4, 8, 15, 30 y 60 min; ellos observaron una amorfización progresiva en la estructura de la celulosa, estimada cualitativamente mediante la técnica de FTIR y comprobada mediante DRX. Ellos observaron una serie de cambios: disminución en la cristalinidad de 0.53 a 0.15 después de 60 min de molienda; disminución en el tamaño del dominio cristalino de 4 nm a 3.4 nm después de 30 min de molienda; reducción en la estabilidad térmica de las muestras; así como modificación en la morfología de las fibras a pequeños fragmentos cuasi-circulares.

He *et al.*, 2014, estudiaron el efecto de la molienda mecánica en las propiedades fisicoquímicas del almidón de maíz. Observaron un incremento en la solubilidad del almidón en agua fría, deformaciones progresivas en la superficie del gránulo de almidón después de cada tiempo de molienda, disminución de la cristalinidad del gránulo de almidón, así como aumento en la transparencia del almidón.

Mello *et al.*, 2015, elaboraron películas de almidón de cebada nativo y oxidado con hipoclorito de sodio (1.0, 1.5 y 2.0%), y las reforzaron con celulosa obtenida de la cascarilla de la cebada usando un proceso de hidrólisis alcalina, seguida de blanqueado de las fibras. Mediante FTIR identificaron las bandas características de

los grupos funcionales presentes dentro de la estructura de la celulosa, así como la disminución de las señales características para la lignina y la hemicelulosa después de cada tratamiento. Mediante DRX, observaron un aumento en la cristalinidad, así como los picos característicos para el polimorfo tipo I β de la celulosa. Las películas elaboradas poseían una concentración del 0, 10 y 20 % de celulosa, observándose que la adición de las fibras de celulosa incrementa la fuerza de tensión y disminuye la elongación. Con respecto a la permeabilidad al vapor de agua, se observó una baja permeabilidad en la película con 20% de celulosa, así como una alta estabilidad térmica, con respecto a las películas control.

4. Justificación

Actualmente una de las tendencias en la generación de películas o empaques biodegradables es la búsqueda de materiales de fácil degradación y amigables con el ambiente. Un ejemplo de estos materiales son los biopolímeros como: celulosa, almidón y quitina, los cuales tienen un gran potencial de aplicación en la elaboración de películas. En la región del Papaloapan el cultivo de plátano macho (*Musa paradisiaca L.*) es la segunda actividad agrícola más importante, en la cual se genera una gran cantidad de residuos lignocelulósicos y frutos que no son aprovechados en su totalidad. Estos residuos son una fuente potencial para extracción de celulosa y almidón. Estos biopolímeros son los más estudiados en la elaboración de películas, empaques biodegradables, composites y nanocomposites, ya sea en combinación o sustitución de polímeros sintéticos, o bien, mezclas con polímeros naturales. La combinación de tratamientos físicos (molienda mecánica y ultrasonido) y químicos (hidrólisis alcalina y ácida), son alternativas para la obtención de nanopartículas de celulosa. La incorporación de nanopartículas de celulosa como reforzantes en la elaboración de biopelículas o nanocomposites confieren propiedades mecánicas superiores a las propiedades finales del material comparado con la incorporación de fibras de celulosa como reforzante. Por lo cual, las nanopartículas de celulosa (NPC) también son una temática de investigación actual debido a su gran potencial en distintas aplicaciones. Aunado a esto, el estudio del uso de la molienda mecánica en almidón nativo es escaso, así como las contribuciones del uso de esta técnica como tratamiento del almidón para elaborar películas. Por tal motivo la combinación de dos biopolímeros (almidón y nanopartículas de celulosa) y la combinación de tratamientos químicos y físicos de los biopolímeros parecen ser una buena alternativa para la elaboración biopelículas con propiedades físicas adecuadas para su posible aplicación en empaques de alimento.

5. Hipótesis

El uso de la “molienda mecánica” – “hidrólisis química” e “hidrólisis química” – “ultrasonido” en las fibras del raquis de plátano macho generará la reducción del tamaño de las fibras hasta obtener nanopartículas de celulosa, las cuales al ser incorporadas como reforzante en una matriz polimérica de almidón de plátano macho (*Musa paradisiaca* L.) permitirá la elaboración de biopelículas con buenas propiedades mecánicas.

6. Objetivos

6.1. Objetivo general

Caracterizar y evaluar las técnicas de ultrasonido y molienda mecánica como procesos para la obtención de nanopartículas de celulosa, así como comparar las propiedades que estas nanopartículas le confieren al almidón de plátano macho (*Musa paradisiaca* L.) en la elaboración de biopelículas.

6.2. Objetivos específicos

1. Obtener nanopartículas de celulosa mediante molienda mecánica e hidrólisis química.
2. Caracterizar morfológica, estructural y térmicamente las nanopartículas de celulosa obtenidas.
3. Formular y desarrollar películas de almidón/celulosa.
4. Caracterizar morfológica, estructural y térmicamente, las biopelículas elaboradas.
5. Evaluar las propiedades mecánicas y de barrera de las biopelículas elaboradas.

7. Metodología

Para la extracción de almidón y nanopartículas de celulosa, se utilizó como materia prima la pulpa de plátano macho (*Musa paradisiaca* L.) en estado inmaduro proveniente de Santa María Jacatepec, Oaxaca. En el caso de la celulosa fue extraída a partir del raquis del mismo cultivo.

7.1. Obtención del almidón

La obtención del almidón se hizo a nivel de planta piloto y se empleó la metodología propuesta por Flores-Grosquera et al., 2004 con las modificaciones propuestas por Vergara-Méndez *et al.*, 2012. Los plátanos se pelaron y se cortaron en trozos de 5 a 6 cm e inmediatamente se sumergieron en una solución de ácido cítrico al 3%. Después, se molieron en una licuadora tipo industrial (Waring Laboratory), a una velocidad baja (600 g de fruto por litro de solución) durante 2 minutos. Después de haber transcurrido este tiempo se tamizaron con mallas de 100, 150, 200, 300 y 400 U.S., hasta que se obtuvo un filtrado con una coloración clara. El tamizado se secó en un horno de charolas a una temperatura de 50 °C. Finalmente, el polvo obtenido se tamizó (malla de 100 U.S) y se guardó en bolsas de plástico al vacío para almacenarlo.

7.1.1. Molienda mecánica del almidón

Para estudiar el efecto de la molienda mecánica sobre la capacidad del almidón de formar películas, se sometió el almidón a molienda mecánica utilizando un molino planetario de bolas Pulverisette 7 premium line marca Fritsch. La molienda se realizó a velocidad constante (600 rpm), variando el tiempo de residencia de la muestra (2, 4, 8, 15, 30 y 60 min) dentro del tazón, para lo cual se utilizaron ciclos de molienda para cada muestra, y como material de molienda: acero templado (Fe), en un tazón de 80 mL, se utilizó 15 bolas de 10 mm de diámetro, de 4.14 g cada una y con una relación en peso de 12.5:1 (bolas-almidón); carburo de tungsteno

(WC), en un tazón de 80 mL, se utilizó 15 bolas de 10 mm de diámetro, 7.7 g cada una y con una relación en peso de 23:1 (bolas-almidón).

7.2. Obtención de nanopartículas de celulosa

7.2.1. Mediante el uso de ultrasonido

Para la obtención de las nanopartículas de celulosa se utilizó la metodología propuesta por García-Ramón, 2015. La metodología consiste en dispersar 5 g de fibra de plátano previamente tratada con presión y temperatura en 100 mL de NaOH y 100 mL de H₂O₂ por 24 h. Una vez que la fibra fue blanqueada y con pH neutro, se hidrolizó en 100 mL de H₂SO₄ 6M, utilizando agitación durante 3 h y a una temperatura de 65 °C. Una vez concluido el tiempo, se agregaron 500 mL de agua destilada para detener la reacción. Posteriormente, el exceso de H₂SO₄ se retiró totalmente lavando las fibras con agua destilada, hasta que alcanzó un pH = 7. Para la extracción de las nanopartículas de celulosa con ultrasonido se utilizó un ultrasonicador de la marca Hielscher modelo UP200st. La suspensión neutralizada de celulosa se puso a sonicar en un vaso de precipitado de 100 mL por 40 min, amplitud de 20%, poder de 100% y pulsos por ciclo de 50%, por último se almacenó en refrigeración. Como ya se realizó la caracterización de estas nanopartículas en la tesis de licenciatura, solo se presentaran para fines de este trabajo los resultados del análisis térmico, los cuales se van a comparar con los de las partículas obtenidas mediante molienda mecánica, con la finalidad de ver cuál de las dos presenta un punto de degradación más alto.

7.2.2. Mediante el uso de molienda mecánica

Para la extracción de nanopartículas de celulosa con molienda mecánica se utilizó un molino planetario de bolas Pulverisette 7 premium line marca Fritsch. La molienda se realizó a velocidad constante (600 rpm), variando el tiempo de residencia de la muestra (2, 4, 8, 15, 30 y 60 min) dentro del tazón, para lo cual se

utilizaron ciclos de molienda para cada muestra, y como material de molienda: acero templado (Fe), en un tazón de 80 mL, se utilizó 15 bolas de 10 mm de diámetro, de 4.14 g cada una y con una relación en peso de 12.5:1 (bolas-raquis); carburo de tungsteno (WC), en un tazón de 80 mL, se utilizó 15 bolas de 10 mm de diámetro, 7.7 g cada una y con una relación en peso de 23:1 (bolas-raquis). Después de que se obtuvieron los polvos, se procedió a realizar el blanqueado de las fibras con NaOH y H₂O₂ por 24 h, en baño de hielo, seguido de una hidrólisis con H₂SO₄ por 3 h, en baño María a 60 °C. Una vez que se tuvieron las fibras con pH neutro, se almacenaron en recipientes hasta su posterior uso.

7.3. Elaboración de las películas

Se elaboraron películas de almidón nativo y nanopartículas de celulosa (NPC) a diferentes combinaciones y concentraciones (tal como se muestra en las Tablas 1 y 2), tomando como 100% el total de gramos de sólidos utilizados para formar las películas. Las películas se prepararon dispersando el almidón (6, 5.94, 5.82 y 5.7 g, según el porcentaje de almidón) en 210 mL de H₂O destilada en un vaso de precipitado de 500 mL, se dejó en agitación constante y dentro de un baño María durante 30 min, al transcurrir 20 min, se le agregó glicerol (10% p/p) y faltando 5 min para finalizar el tiempo de mezclado, se le agregaron las NPC. Por último se vertió la solución filmogénica en moldes y se dejó secar por 14 h a 50 °C en un horno de convección. Una vez que las películas se secaron, se desprendieron del molde y se guardaron en un desecador con un intervalo de 50-60% de humedad relativa controlada con una solución saturada de NaBr. En las **Tablas 1 y 2** se muestran las combinaciones y porcentajes utilizados de almidón nativo y nanopartículas de celulosa para la elaboración de las películas.

Tabla 1. Combinaciones de almidón y celulosa para la elaboración de películas.

Combinaciones		
F1	Almidón nativo	NPC obtenidas por ultrasonido
F2	Almidón nativo	NPC obtenidas por molienda mecánica
F3	Almidón nativo con 2 min de molienda mecánica	NPC obtenidas por ultrasonido
F4	Almidón nativo con 2 min de molienda mecánica.	NPC obtenidas por molienda mecánica

Tabla 2. Concentraciones de almidón y celulosa para la elaboración de películas.

Porcentaje de NPC con respecto al almidón	Almidón (g)	NPC (g)
0	6	0
1	5.94	0.06
3	5.82	0.18
5	5.7	0.3

7.4. Técnicas de caracterización

7.4.1. Análisis químico proximal (AQP) del almidón nativo.

7.4.1.1. Humedad

Se pesaron 2 g de muestra, los cuales se secaron en una estufa a $130 \pm 3^\circ\text{C}$ por 1 h. La humedad se determinó por diferencia de peso (método 44-16, AACC 2000).

7.4.1.2. Cenizas

Se determinó calculando la pérdida en peso de 3 g de muestra después de su incineración a 600°C durante 3 h en una mufla (método 08-01, AACC 2000).

7.4.1.3. Lípidos

Se utilizarón 80 mL éter de petróleo como disolvente, utilizando un sistema de extracción soxhlet a 3 g de muestra (método 30-25, AACC 2000).

7.4.2. Análisis térmico

7.4.2.1. Análisis Termogravimétrico (TGA)

Se utilizó un analizador térmico simultáneo STA 6000 de la marca Perkin Elmer. Muestras de 15 ± 5 mg se sometieron a un calentamiento de 30 a 700°C , a una velocidad de $10^\circ\text{C}/\text{min}$, bajo una atmosfera inerte de nitrógeno, con un flujo de 20 ml/min.

7.4.3. Análisis morfológico

7.4.3.1. Distribución del tamaño de partícula en almidón

El tamaño de partícula se determinó a temperatura ambiente utilizando un analizador de difracción laser Malvern Master Sizer (Malvern Instrument, Ltd.) con una celda de Fourier (0.02 a 200 μm) y una unidad de dispersión de muestra de volumen pequeño (SVSDU) con una capacidad de 50 a 120 μL .

7.4.3.2. Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Para el estudio de microscopia electrónica de barrido (MEB), se utilizó un microscopio electrónico de barrido FEI (modelo Quanta 450; FEI Instrument). Previamente, las muestras se cubrieron con una capa de oro de 30 nm de espesor depositada al vacío (10⁻⁵ Torr) en una evaporadora JEOL.

7.4.4. Análisis estructural

7.4.4.1. Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).

Los análisis de FTIR se llevaron a cabo en un espectrómetro e interferómetro con reflectancia total atenuada (ATR por sus siglas en inglés) marca DYNASCAN spectrum 100, Perkin Elmer, los espectros se obtuvieron con una resolución de 4 cm^{-1} , en un rango de 4000-515 cm^{-1} y un total de 20 barridos por muestra.

7.4.4.2. Difracción de rayos X (DRX)

Las biopelículas se analizaron 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 rejilla de 2 mm, se corrieron en 2θ de 5 a 55 $^{\circ}$ con una corriente de 30 mA y un voltaje de 40 kV

7.4.5. Pruebas mecánicas

A las películas elaboradas a partir de almidón-celulosa, se les determinó la fuerza de tensión y el porcentaje de elongación. Estos análisis se realizaron utilizando un analizador de textura marca Brookfield, modelo CT3, con una celda de carga de 25 Kg y resolución de 2.0 g, exactitud de carga de 0.1% en el total de la escala, utilizando un software BELTA-CT-PRO-AV. Antes del análisis las muestras se almacenaron durante 3 días en un desecador con una solución salina saturada de bromuro de sodio (NaBr) a una humedad relativa (HR) del 57 %.

7.4.6. Análisis de viscosidad aparente

Las muestras de almidón nativo y almidón sometido a molienda mecánica fueron evaluadas en un equipo DHR-2 Hybrid Rheometer TA Instrument. Para esto se prepararon dispersiones de las muestras de almidón y agua destilada (10% p/v), posteriormente fueron homogenizadas por 20 min con recubrimiento de teflón utilizando una geometría de hélice. Las muestras fueron sometidas a un programa de calentamiento de 5 °C por minuto desde una temperatura de 30 a 90 °C.

7.4.7. Determinación de la Permeabilidad al Vapor de Agua (WVP)

Se empleó el método estándar de la norma ASTM, E 96-80 (ASTM1989). Las películas se cortaron con un diámetro de 7.5 cm, posteriormente se colocaron cuidadosamente sobre la celda de prueba con sílica gel en su interior para generar una humedad relativa cercana al 0%. Las celdas se colocaron en un desecador a una humedad relativa del $75\% \pm 2$ (generada por una solución saturada de NaCl); registrándose el cambio en el peso de las celdas cada hora, durante 8 h.

8. Resultados y Discusión

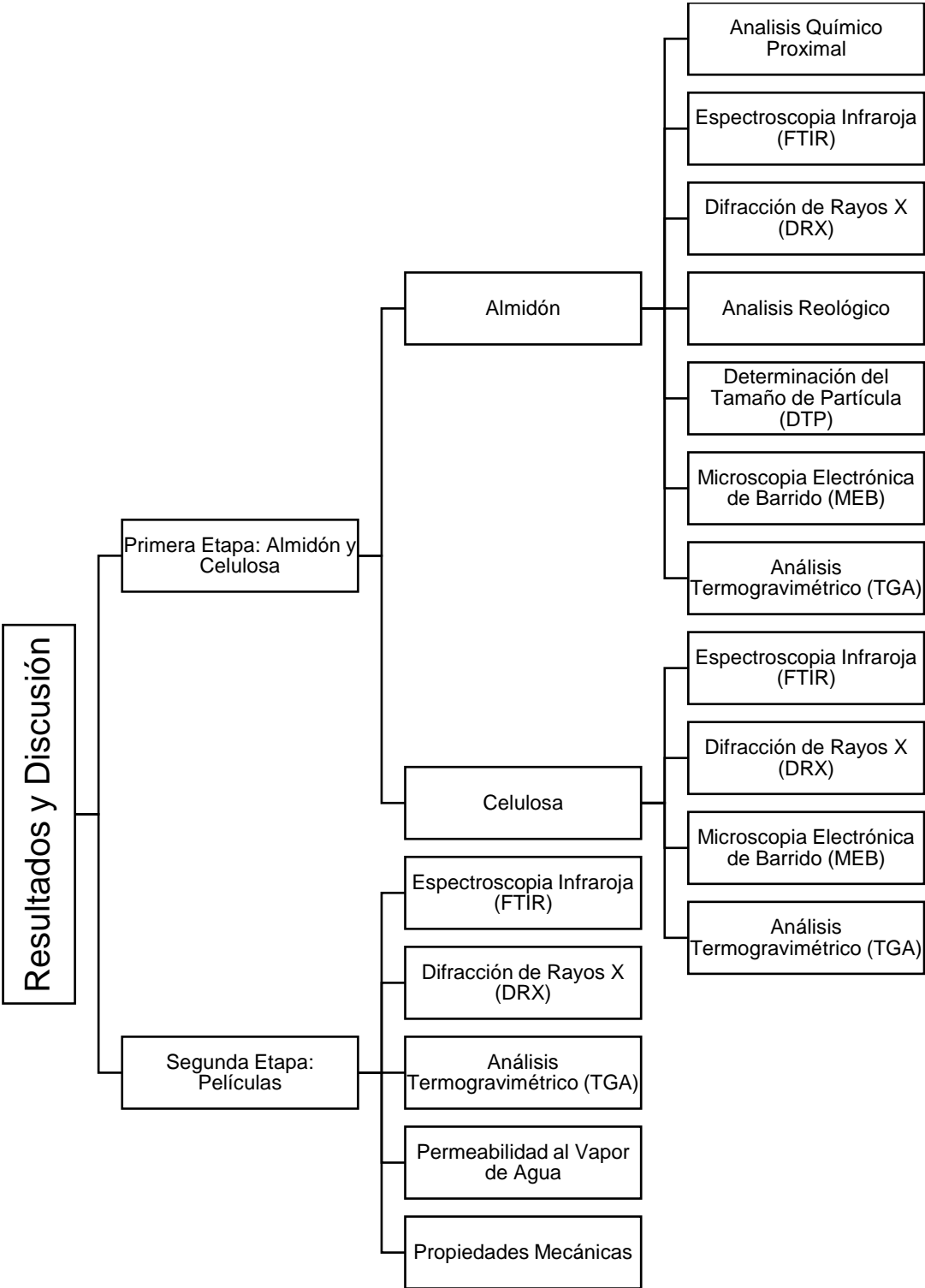


Figura 7. Diagrama de las etapas en que se dividen los resultados y discusión.

Los resultados obtenidos de la parte experimental se han dividido en dos etapas. En la primera etapa se muestran los resultados obtenidos tras caracterizar la materia prima, el almidón y la celulosa; en la segunda etapa, se muestran los resultados obtenidos para la caracterización de las películas elaboradas a base de almidón y reforzadas con celulosa (ver **Figura 7**).

Primera etapa: almidón y celulosa

8.1. Almidón de plátano

8.1.1. Análisis químico proximal del almidón

Tabla 3. Composición químico proximal del almidón nativo de plátano macho (*Musa paradisiaca* L).

Muestra	Porcentaje (%)
Humedad	13.19 \pm 0.0031
Cenizas*	0.50 \pm 0.0003
Grasas*	0.32 \pm 0.0007
Proteínas	0.82 + 0.0253

Promedio de las tres repeticiones \pm desviación estándar

Factor 6.5

*Base seca

Los resultados obtenidos del análisis de la composición química del almidón nativo (AN) se muestran en la **Tabla 3**. El contenido de humedad del AN de plátano fue de 13.19%, el cual es superior al valor reportado (5.2, 6.72, 6.58, 7.17 y 8.3%) por otros

autores (Bello-Pérez *et al.*, 1998; Carmona-García *et al.*, 2009, Alanis-Lopez (2011), García-Tejeda *et al.*, 2011 y Zamudio-Flores *et al.*, 2007, respectivamente) en almidón de plátano macho de la misma variedad (*Musa paradisiaca* L.). Esta variación se puede deber a las condiciones ambientales del lugar de trabajo, así como a las variables del proceso de secado durante el aislamiento.

Con respecto al contenido de cenizas se obtuvo un 0.50%, que se encuentra por debajo de lo reportado por Zamudio-Flores *et al.*, 2007, (1.89%). Tejeda-García *et al.*, 2011, reportaron un 0.22% de contenido de cenizas, por lo que, podemos decir que el valor obtenido se encuentra dentro del intervalo reportado. El contenido de grasas, presentó un nivel de 0.32%, el cual se encuentra dentro del intervalo reportado por Bello-Pérez *et al.*, 1998, Carmona-García *et al.*, 2009, Alanis-López *et al.*, 2011, García-Tejeda *et al.*, 2011 y Zamudio-Flores *et al.*, 200 (0.2-1.85%). Con respecto al porcentaje de proteína, se presentó un bajo nivel de esta (0.82%) muy similar al reportado por Carmona-García *et al.*, 2009 (0.98%) y menor al reportado por Bello-Pérez *et al.*, 1998, Alanis-López *et al.*, 2011 y Tejeda-García *et al.*, 2011, (2.03, 2.03 y 1.06%, respectivamente). El contenido de carbohidratos totales fue de 98%, los cuales fueron determinados por diferencia de peso. Este valor sugiere que el almidón obtenido posee un buen grado de pureza.

8.1.2. Análisis estructural

8.1.2.1. Espectroscopia infrarroja

En la **Figura 8**, se muestra el espectro de FTIR del almidón nativo (AN) de plátano macho (*Musa paradisiaca* L.) en el que se puede observar una banda característica de absorción a $3673-3075\text{ cm}^{-1}$ correspondiente a la vibración de estiramiento de los grupos $-\text{OH}$, la cual se puede asociar a los enlaces intra e intermoleculares dentro de la estructura del almidón. En 2950 cm^{-1} aparece una banda de absorción que puede ser atribuida a los enlaces $-\text{CH}$ relacionados a la estructura de la

glucopiranosas, alrededor de 1625 cm^{-1} , se aprecia una banda que puede estar relacionada con la cantidad de agua absorbida por el almidón. En la región o zona de la huella dactilar, podemos observar bandas de absorción muy bien definidas alrededor de $1240\text{-}875\text{ cm}^{-1}$ correspondientes a las vibraciones de los enlaces C-O-C presentes dentro del anillo de la glucopiranosas. Por último, las bandas que aparecen por debajo de $813\text{-}563\text{ cm}^{-1}$, se pueden asociar a los enlaces C-C dentro del anillo de la glucopiranosas (Goheen y Wool, 1991; Guerra-DellaValle *et al.*, 2008 y García-Tejeda *et al.*, 2011).

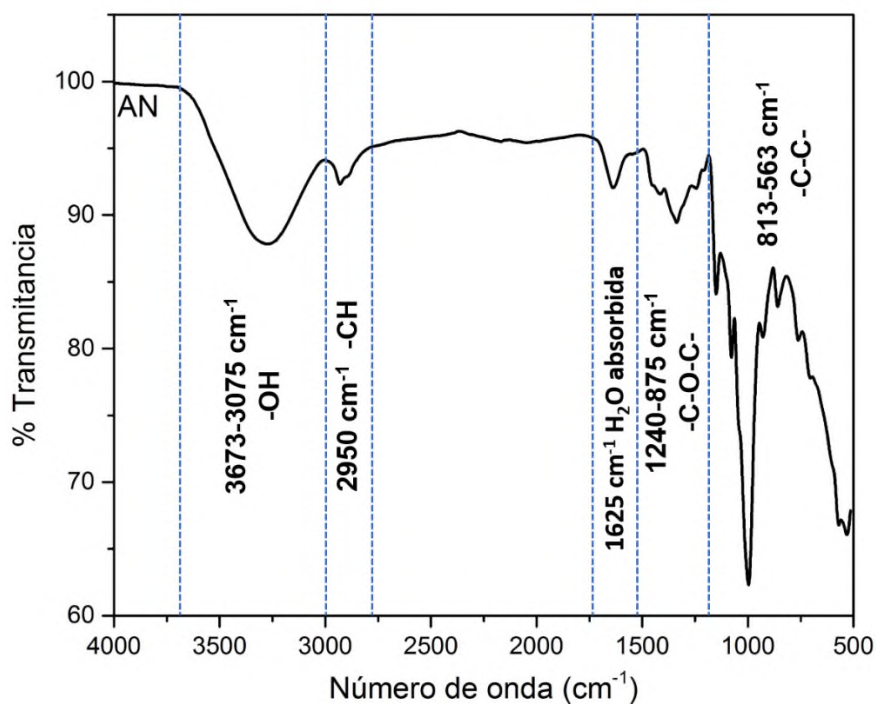


Figura 8. Espectro de FTIR para el almidón nativo (AN) de plátano macho (*Musa paradisiaca* L).

8.1.2.2. Difracción de rayos X

En la **Figura 8**, se muestran los patrones de difracción del AN, en el cual se puede observar un patrón de difracción tipo “C” de los almidones, con picos de difracción

característicos en $2\theta = 2.5, 15, 17$ y 23° aproximadamente (Bello-Pérez, *et al.*, 1999). Agama-Acevedo *et al.*, 2015, observaron un patrón de difracción para almidones de tipo B para tres variedades de plátano (valery, enano gigante y morado) contrastado con almidón de plátano macho, observando picos característicos en $2\theta = 12, 15, 17, 23$ y 25° . Esta diferencia en el tipo de polimorfo reportado para un almidón de la misma fuente botánica (*Musa paradisiaca L*), se debe al arreglo que existe de las moléculas de glucosa dentro del granulo de almidón, mientras que en uno tiene 8 moléculas de agua (tipo "A"), el otro tiene 32 moléculas de agua (tipo "B"), así como las condiciones climatológicas y la diferencia en el contenido de los nutrientes del suelo donde fue cultivado el plátano. Debido a esto, la presencia de polimorfo tipo C nos indica mayor homogeneidad en la presencia de cadenas cortas y largas de amilosa y amelopectina.

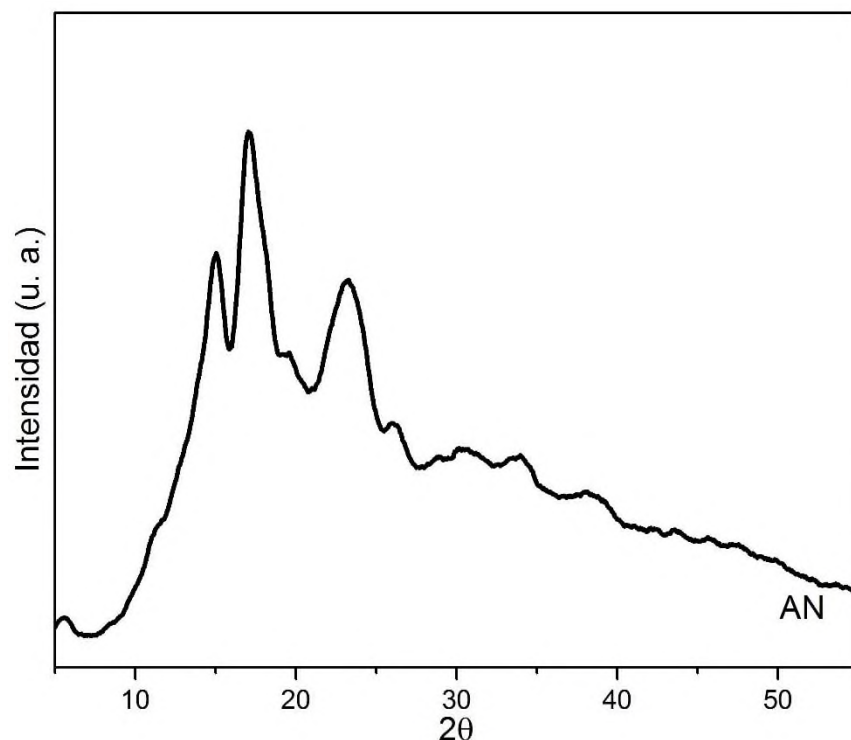


Figura 9. Patrón de DRX para el almidón nativo (AN) de plátano macho (*Musa paradisiaca L*).

8.1.2.2.1. Difracción de rayos X del almidón sometido a molienda mecánica

En las **Figuras 10 y 11**, se muestran los patrones de difracción para el almidón de plátano macho (*Musa paradisiaca* L) sometido a diferentes tiempos de molienda (2, 4, 8, 15, 30 y 60 min), con tazones y bolas de distinto material (Fe: Acero templado y WC: Carburo de tungsteno, respectivamente).

En la **Figura 10** se presentan los resultados de DRX para el almidón sometido a molienda mecánica utilizando tazón de Fe; en esta figura se puede observar como el patrón de difracción del almidón cambia a partir de los 8 min de molienda. Un comportamiento similar fue observado en el almidón que fue sometido a molienda mecánica utilizando un tazón y bolas de WC (**Figura 11**), estos cambios son observados más rápidamente a partir de los 2 min de molienda.

Este comportamiento se debe a la distinta energía de impacto generada por las bolas dentro del tazón de molienda, a mayor densidad mayor energía de impacto y en consecuencia mayor efecto de degradación durante la molienda. Por lo tanto, en la molienda con WC se observa un efecto de degradación más rápido que con Fe.

Dicho efecto ha sido reportado por diversos autores, atribuyéndolo una amorfización de la estructura cristalina del almidón, identificándose principalmente al perderse las señales características de los dominios cristalinos en el difractograma, lo cual indica una pérdida en la organización de la estructura interna del granulo de almidón.

Kim *et al.*, 2001, observaron la amorfización progresiva del almidón de papa al ser sometido a distintos periodos de molienda (1, 2, 4, 17, 45, 70 y 140 h) a 90 rpm, alcanzándose el máximo nivel de amorfización a las 140 h de molienda. Anzai, *et al.*, 2011, observaron cambios en el patrón de DRX del almidón de papa a partir de

las 4 h de molienda a 90 rpm, a partir de las 17 h presento una pérdida significativa de la cristalinidad y una amorfización completa del almidón usando Fe como material de molienda. Liu *et al.*, 2011, observaron una pérdida completa del patrón de difracción del almidón de maíz, esto después de ser sometido a un periodo de 3 h de molienda, con tazones y bolas de cerámica, mostrándose la reducción parcial de la cristalinidad desde 1 h de molienda a 500 rpm. Diop *et al.*, 2012, observaron una amorfización completa del almidón de maíz después de un periodo de 72 h de molienda a 450 rpm, utilizando tazones y bolas de ágata. Tan *et al.*, 2015, observaron una ligera amorfización progresiva del almidón de maíz ceroso al ser sometido a molienda con tazón de cerámica y bolas de zirconio durante un periodo de 20 h a 1032 rpm, lo cual atribuyeron a la baja densidad de peso del material de molienda.

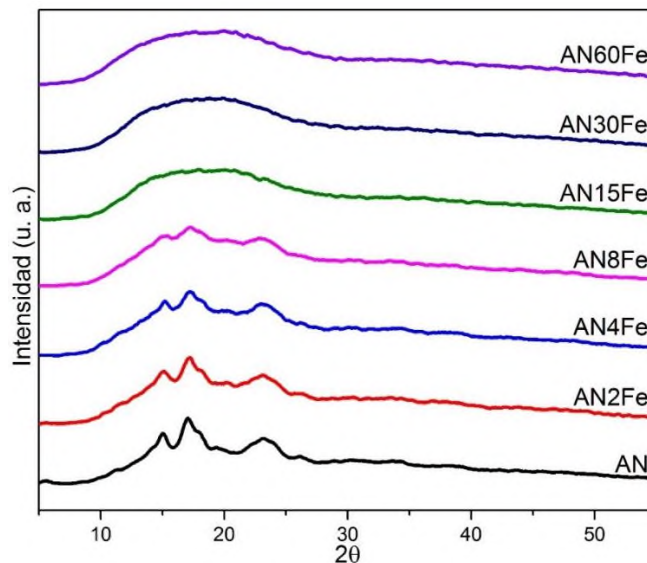


Figura 10. Patrones de difracción de rayos X para almidón nativo de plátano macho (*Musa paradisiaca* L.) sometido a diferentes tiempos (2, 4, 8, 15, 30 y 60 min) de molienda mecánica con material de molienda Fe.

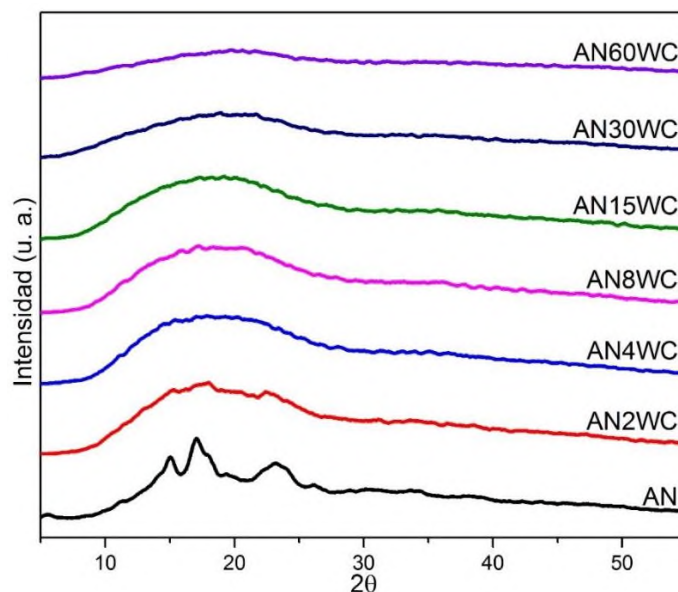


Figura 11. Patrones de difracción de rayos X para almidón de plátano macho (*Musa paradisiaca L*) sometido a diferentes tiempos (2, 4, 8, 15, 30 y 60 min) de molienda mecánica con material de molienda WC.

8.1.2.3. Análisis reológico

En las **Figuras 12** y **13** se muestran los resultados para el análisis reológico de las muestras de almidón sometidas a diferentes tiempos de molienda mecánica (2, 4, 8, 15, 30 y 60 min) con acero templado (Fe) y carburo de tungsteno (WC). En estas gráficas podemos observar como la viscosidad del almidón cambia significativamente a medida que aumenta el tiempo de molienda. Esto indica que el tratamiento de molienda mecánica ocasionó un fuerte daño a la estructura del gránulo de almidón, lo cual coincide con los resultados de DRX, en los que se observan la amorfización progresiva del almidón al aumentar el tiempo de residencia en los tazones de molienda.

En la **Figura 12** correspondiente a las moliendas con Fe, se puede observar que para 2, 4 y 8 min de molienda la viscosidad incrementa con respecto a la de AN,

esto puede ser debido a que estos tiempos de molienda mecánica las zonas amorfas y algunas partes de las cristalinas son removidas, permitiendo la entrada de una mayor cantidad de agua, para después disminuir a partir de los 15 minutos de molienda.

Mientras que en la **Figura 13** correspondiente a la molienda de almidón con WC, se observa que desde los 2 min de molienda la viscosidad del almidón empieza a disminuir progresivamente hasta los 60 min de molienda, a partir de este tiempo se observa que la viscosidad del almidón se elevó drásticamente debido a que por efecto de la energía acumulada dentro del tazón de molienda el almidón se retrograda, esto sugiere que las fracciones de almidón se reorganizaron dejando que los grupos hidroxilos quedan expuestos, facilitando una mayor interacción con el agua, aumentando así la viscosidad del almidón.

Estos fenómenos son atribuidos a la diferencia de densidad de los materiales de molienda y a la cantidad de energía suministrada por cada uno al almidón durante el proceso de molienda. Por ejemplo, Han *et al.*, 2002, reportaron que el incremento del daño en la estructura del almidón, inducido por la molienda mecánica, disminuye considerablemente los perfiles de viscosidad en almidones cerosos y normales.

Morrison y Tester (1994), mencionan que la molienda mecánica causa considerablemente la ruptura de los puentes glucosídicos de las cadenas de amilopectina, de tal manera que se puede relacionar con la pérdida de viscosidad. Por otra parte, estudios previos realizados por Bettge *et al.*, 2000, en almidones de trigo cerosos sugieren que los gránulos de almidón ricos en amilopectina pueden ser sustancialmente más susceptibles al daño físico en comparación con los gránulos de almidón que contienen amilosa (almidones parcialmente cerosos o almidones normales), reduciéndose así la viscosidad del almidón.

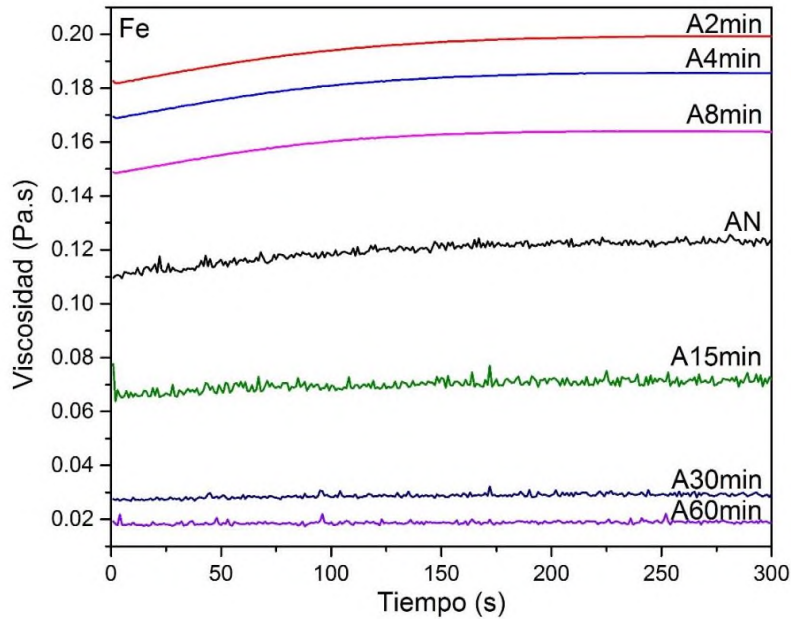


Figura 12. Resultados del análisis reológico para el almidón de plátano macho (*Musa paradisiaca* L) tratado con molienda mecánica a diferentes tiempos (2, 4, 8, 15, 30 y 60 min), utilizando acero templado (Fe) como material de molienda.

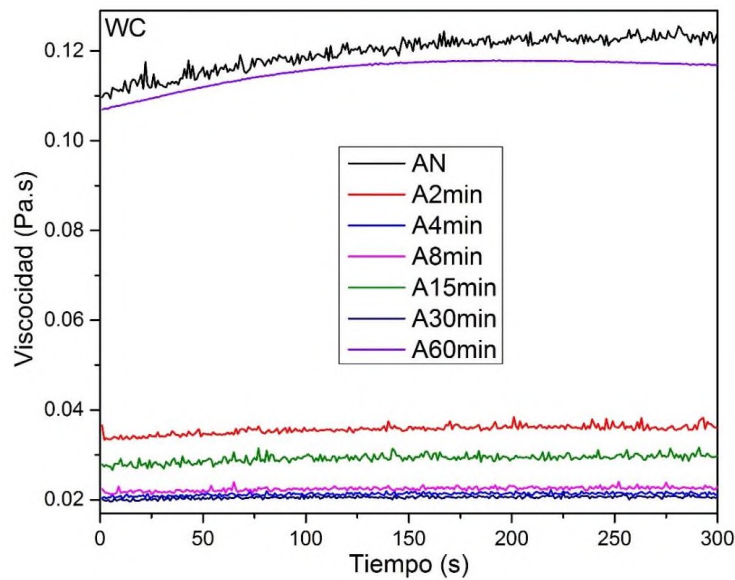


Figura 13. Resultados del análisis reológico para el almidón tratado con molienda mecánica a diferentes tiempos (2, 4, 8, 15, 30 y 60 min), utilizando carburo de tungsteno (WC) como material de molienda.

De acuerdo con los resultados mostrados en las **Figuras 12 y 13**, los almidones sometidos a molienda mecánica con Fe, exhiben una mayor viscosidad en comparación con los tratados con carburo de tungsteno (WC). La mayor viscosidad la presentan las muestras sometidas a 2 ,4 y 8 min de molienda, los cuales, según los resultados de DRX (**Fig. 10 y 11**), conservan parte de su carácter semicristalino. En consecuencia, se decide tomar la molienda mecánica de 2 y 8 min con Fe para observarlos mediante microscopia electrónica de barrido (MEB) y trabajar en la elaboración de películas.

8.1.3. Análisis morfológico

8.1.3.1. Determinación del tamaño de partícula (DTP)

Para el análisis de las muestras en DTP, primero se realizó una selección de los almidones sometidos a molienda mecánica que presentaban aun su carácter semicristalino y no estuvieran completamente degradados, esta selección se realizó de acuerdo con los resultados del análisis de DRX y viscosidad. Las muestras seleccionadas fueron las de 2, 4 y 8 min de molienda mecánica con Fe, ya que estas aun presentaban esta característica.

En la **Figura 14**, se puede observar las distribuciones de tamaño de partículas para las moliendas de 2, 4 y 8 min del almidón, comparadas con el almidón nativo (AN). El almidón con 8 min de molienda presentó una distribución bimodal con tamaños de partícula pequeños (8 μm) y grandes (90 μm), donde el pico mejor definido es el que corresponde a los 90 μm . Para el almidón con 4 min de molienda se presentó una distribución unimodal, con una distribución de tamaño de partícula de 500 μm . Para el almidón con 2 min de molienda se presentó una distribución bimodal, donde el tamaño promedio de partícula fue de 120 y 1000 μm , siendo 1000 μm el tamaño predominante. Por su parte, el almidón nativo, también presenta una distribución bimodal y con un tamaño promedio de partícula de 1250 μm .

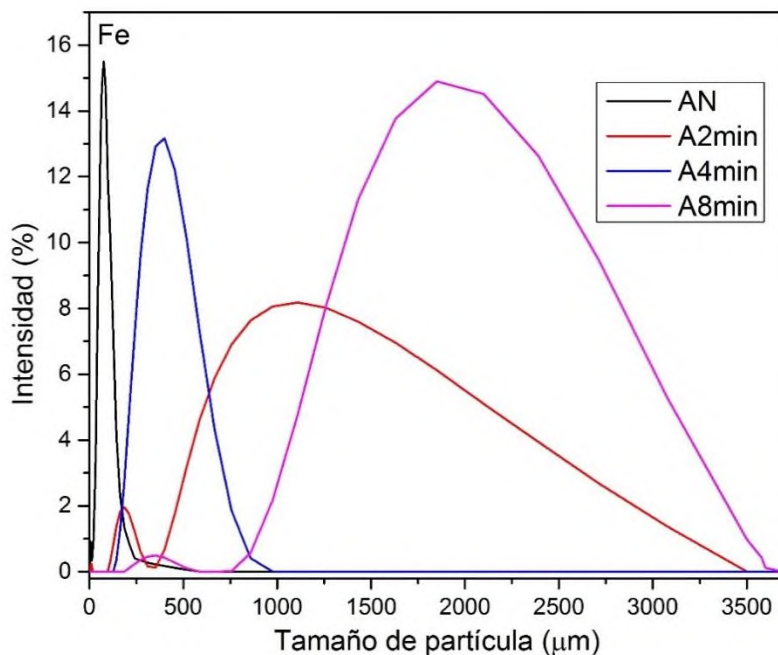


Figura 14. Determinación y distribución del tamaño de partícula (DTP) para el almidón nativo de plátano macho (*Musa paradisiaca* L) con acero templado (Fe).

Con estos resultados, se puede notar claramente el efecto de la molienda mecánica sobre el gránulo de almidón, debido a que entre mayor sea el tiempo de molienda, el tamaño de partícula es más grande y heterogéneo, debido al fenómeno de retrogradación. Edwards *et al.*, 2008, estudiaron el efecto de la distribución de tamaño de gránulo del endospermo de almidón en el rendimiento de molienda de trigo duro (utilizando un tiempo de molienda de 16 h). Ellos observaron una distribución bimodal, con un promedio en el tamaño de partícula de 6 µm y 75 µm. Por otra parte, Diop *et al.*, 2012, en su estudio sobre las propiedades del almidón modificado por molienda mecánica (con tiempos de molienda de 0 a 72 h) en medio etanólico como agente hidratante, observaron una mejor distribución del tamaño de partícula cuando la relación etanol-almidón fue de 1:0 y 1:3 (peso:volumen) y con 24 h de molienda. Ellos observaron una distribución monomodal de los gránulos y un tamaño promedio de partícula de 9 y 12 µm respectivamente. También observaron un aumento en la concentración de amilosa, el cual varió

específicamente con el aumento del tiempo de molienda y no con la variación del contenido de etanol.

He *et al.*, 2014, estudiaron el efecto de la molienda mecánica en las propiedades fisicoquímicas del almidón de maíz, observaron que después de 5 h de molienda con tazones y bolas de acero y cerámica, que el espesor de los gránulos molidos aumentó significativamente por encima de la distribución de tamaños estrecha y uniforme encontrada en los gránulos sin tratar. Esto debido a que durante el proceso de molienda mecánica hay procesos de formación de aglomerados. Los gránulos de almidón se fracturan en tamaños de partícula más pequeños que posteriormente se aglomeran formando partículas más grandes.

8.1.3.2. Microscopia electrónica de barrido (MEB)

Para el análisis de las muestras por MEB, se seleccionaron los almidones sometidos a 2 y 8 min molienda mecánica. Estos almidones aún conservaron su carácter semicristalino de acuerdo con los resultados de DRX, después de la molienda mecánica.

En la **Figura 15**, se muestran las micrografías a magnificaciones de 1000x, 2500x y 5000x para el almidón nativo y el sometido a molienda mecánica (2 y 8 min) con Fe como material de molienda. En las micrografías se puede observar claramente la morfología elipsoidal de los gránulos de almidón. En las **Figuras 15 a), b) y c)** se pueden ver formas muy bien definidas en los gránulos de almidón, así como una textura lisa en la superficie. En las micrografías para 2 min (d, e, f) y 8 min (g, h, i) de molienda, se observan pequeñas deformaciones y defectos en la superficie del gránulo de almidón, así como ligero aplastamiento. Liu *et al.*, 2011, observaron este mismo fenómeno al someter almidón de maíz a molienda mecánica por periodos de 1, 2 y 3 h. Ellos observaron que después del primer tiempo de molienda (1 h) los

gránulos de almidón, presentaban ligeras deformaciones en su superficie. Fue hasta después de las 2 h de molienda donde se notó una fuerte deformación de la morfología del gránulo, hasta obtener una deformación completa después de las 3 h de molienda. El mismo comportamiento es reportado por He *et al.*, 2014, donde también se observó una deformación progresiva con respecto al tiempo de molienda.

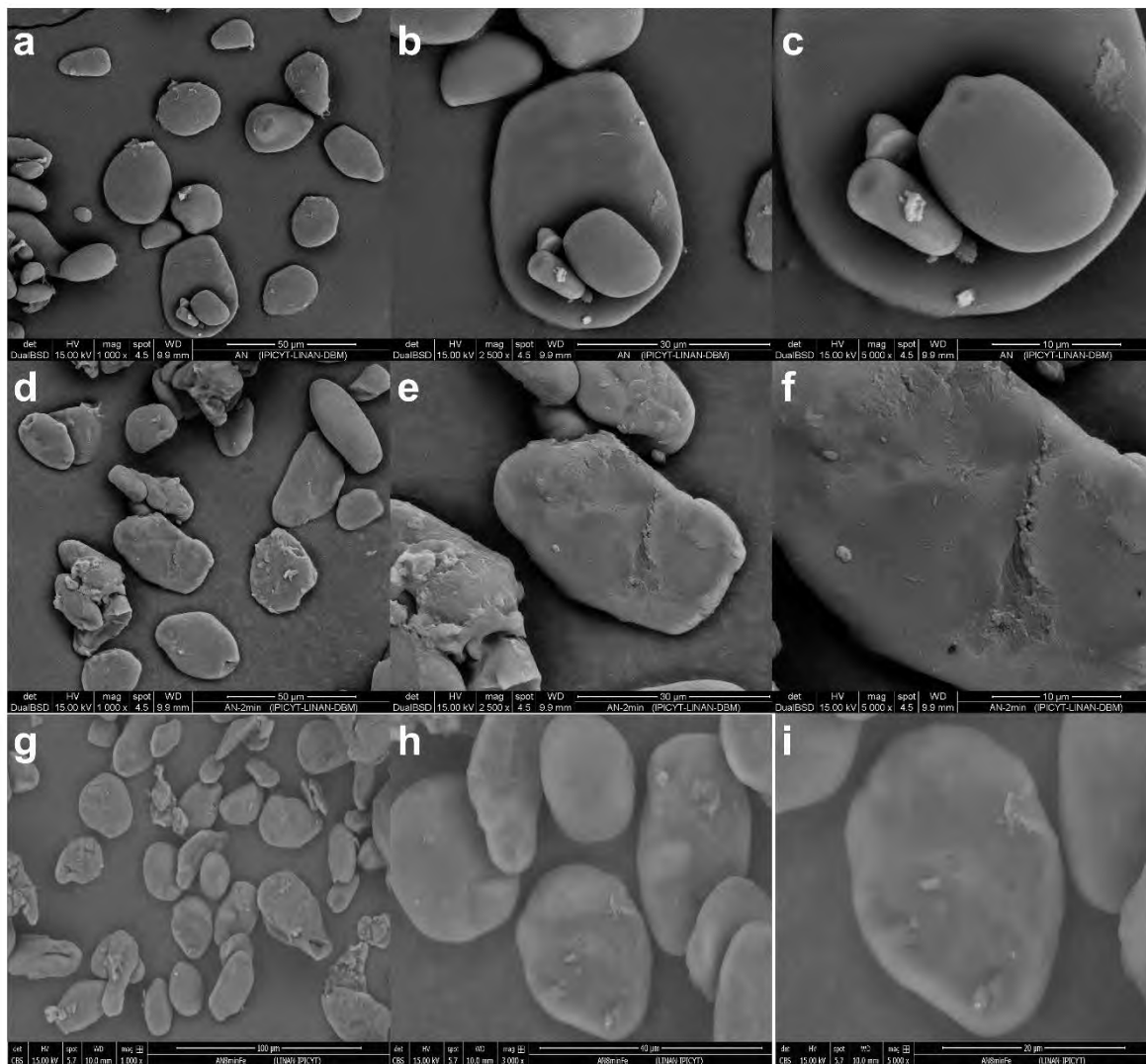


Figura 15. Almidones nativos de plátano macho (*Musa paradisiaca* L: a, b, c), con 2 min (d, e, f) y 8 min (g, h, i) de molienda mecánica, con aumentos de 1000X, 2500X y 5000X respectivamente.

8.1.4. Análisis térmico

8.1.4.1. Análisis Termogravimétrico (TGA)

En la **Figura 16** se muestran los resultados del análisis termogravimétrico para las muestras de almidón nativo (AN), almidón con molienda mecánica (AN2Fe y AN8Fe) y un estándar comercial, glucosa. Se incorporaron los estándares con la finalidad de ver si durante el proceso de molienda mecánica se generó algún tipo de azúcar reductor. En el termograma se pueden observar dos etapas de pérdida de peso, tanto para las muestras de almidón, como para los estándares. Para hacer más evidentes estas etapas se aplicó la primera derivada a los termogramas DTG, **Figura 17**.

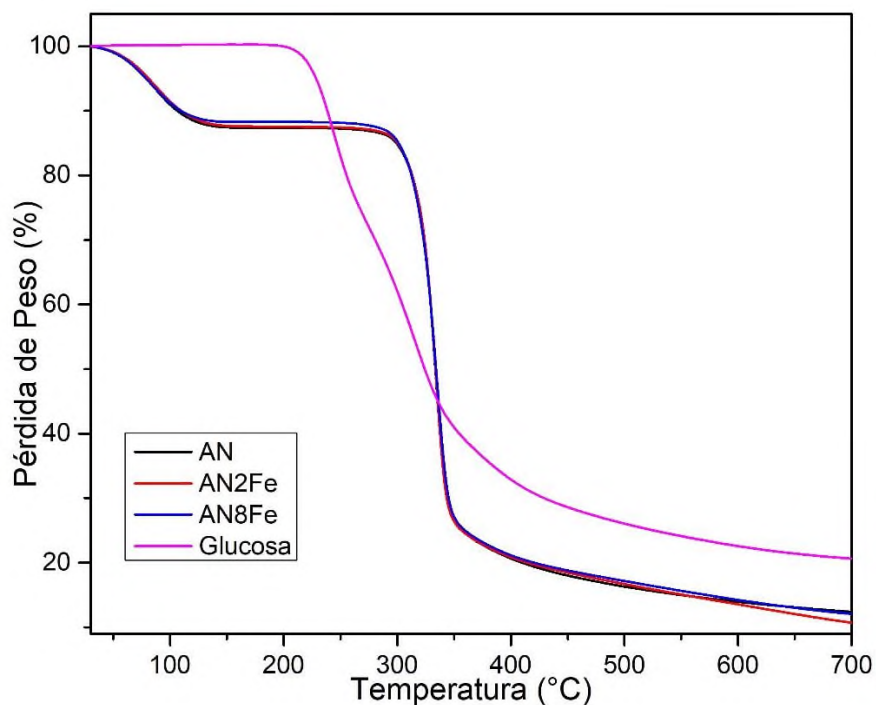


Figura 16. Termogravimetría de las muestras de almidón nativo (AN), almidón con molienda mecánica (AN2Fe y AN8Fe) y glucosa.

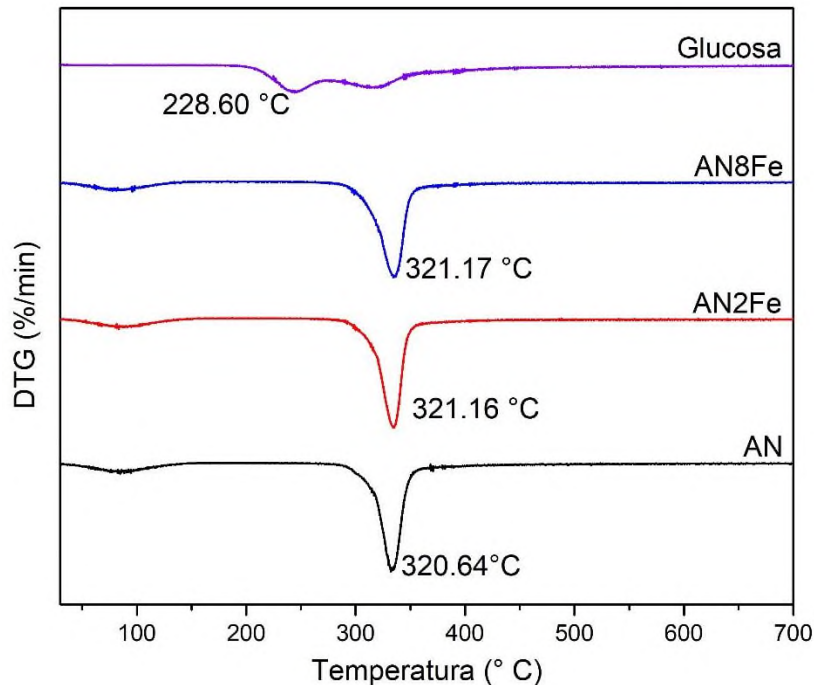


Figura 17. Primera derivada de los termogramas (DTG) de las muestras de almidón nativo (AN), almidón con molienda mecánica (AN2Fe y ANFe) y Glucosa.

De manera general, la primera etapa de pérdida de peso de los almidones se presenta entre 50°-130 °C, con una pérdida del 13% en peso. Esta primera pérdida se atribuye a la eliminación de agua presente en las muestras. La segunda pérdida de peso se observa alrededor de los 320 °C, con una pérdida del 77% en peso. Esto se atribuye a la descomposición del almidón. Apoyándose de la DTG (**Fig.17**), se puede ver con mayor precisión que la temperatura de degradación del almidón son 321 °C. La estabilidad térmica del almidón no se ve afectada por la molienda mecánica.

Para el caso del estándar de glucosa, no se observa la pérdida de peso asociada al agua. Con respecto a la glucosa, la pérdida de peso va de 198 a 380 °C, con una pérdida del 80% de peso, atribuible a la descomposición de la glucosa.

El efecto de la molienda mecánica sobre los gránulos de almidón a tiempos muy cortos (8 y 15 min) y con una densidad de material de molienda baja (Fe) es tan pequeño que no se generan azúcares reductores en el proceso. Lo cual se comprueba con los termogramas, ya que el comportamiento de las muestras de almidón, es muy diferente a la de los estándares.

8.2. Raquis de plátano macho (*Musa paradisiaca L.*)

8.2.1. Análisis estructural

8.2.1.1. Espectroscopia infrarroja

En la **Figura 18** se muestran los espectros de FTIR para las fibras del raquis de plátano macho (*Musa paradisiaca L.*), a diferentes tiempos de molienda (2, 4, 8, 15, 30 y 60 min). En estas figuras se pueden observar espectros característicos de la celulosa. Estos resultados son comparables con los obtenidos por Garcia-Ramón, 2015. En los espectros se pueden apreciar dos regiones típicas de materiales lignocelulósicos. La primera región se localiza a frecuencias de onda bajas, que usualmente es conocida como la región de la huella dactilar y que se localiza de 1800-700 cm^{-1} . Mientras que la segunda región aparece a frecuencias de onda mayores, situadas entre 2700 y 3500 cm^{-1} . A 2893 cm^{-1} se observa una banda pequeña correspondiente a las vibraciones de estrechamiento de los enlaces -CH presentes en la estructura de la lignina contenida en las fibras.

En la región de la huella dactilar característica para las fibras lignocelulósicas se aprecian bandas de absorción alrededor de 1717 cm^{-1} y 1575 cm^{-1} correspondientes a las vibraciones de los enlaces de los grupos acetilos y éster de la molécula de la hemicelulosa.

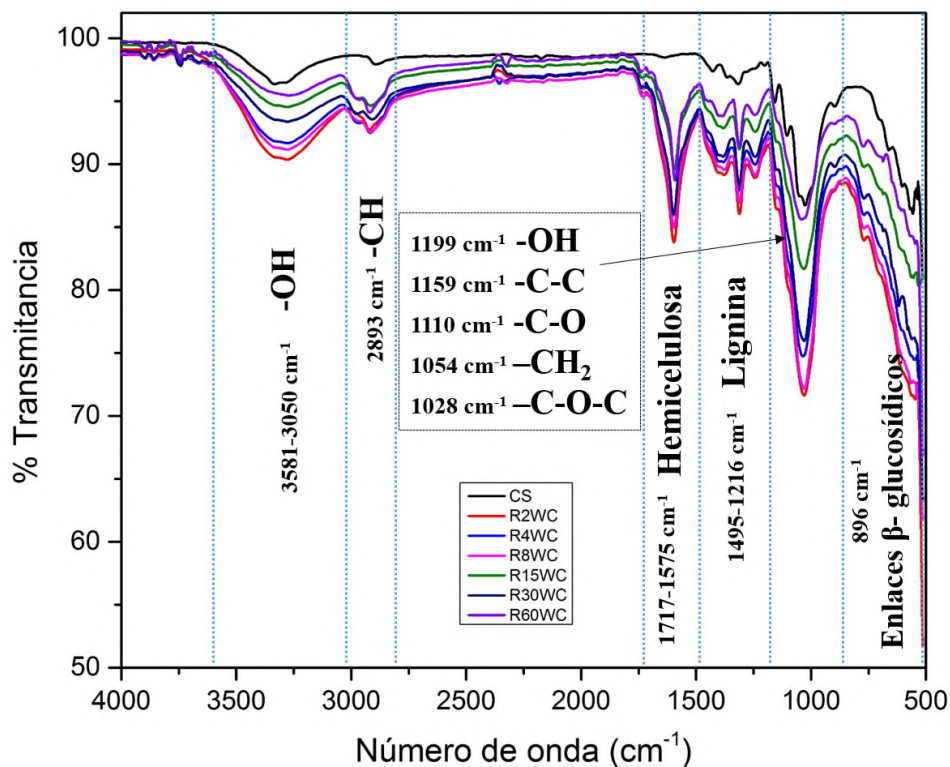


Figura 18. Espectros de FTIR del raquis de plátano con y sin molienda mecánica.

Alrededor de 3581 cm^{-1} a 3050 cm^{-1} se observa una banda ancha y pronunciada característica para los grupos -OH (Zuluaga, *et al.*, 2009; Adel, *et al.*, 2010). Las vibraciones correspondientes al esqueleto de la estructura aromática de la lignina se pueden observar en la región de $1495\text{-}1216\text{ cm}^{-1}$, con una forma característica de una banda con tres picos. Se confirma la presencia de los grupos -OH , mediante la banda de absorción a 1199 cm^{-1} . La señal que se presenta a 1159 cm^{-1} se atribuye a las vibraciones de los enlaces C-C y C-O. La banda de absorción observada en 1100 cm^{-1} se relaciona con el estrechamiento de los enlaces asimétricos de C-O y el de 1054 cm^{-1} se atribuye al desdoblamiento de los enlaces CH_2 . Las señales comprendidas entre 1028 cm^{-1} y 988 cm^{-1} corresponden a las vibraciones de los enlaces C-O-C presentes en el anillo de la piranosa. Por último, las señales que se presentan a 896 cm^{-1} se originan debido a las vibraciones de los enlaces β -glucosídicos en la molécula de celulosa. Todas las señales presentes en el espectro

de IR de las fibras de raquis, se ven aumentadas considerablemente a los 2 min de molienda, después progresivamente fue disminuyendo la intensidad con cada tiempo de molienda. Este fenómeno es atribuible al efecto de las altas fuerzas de cizallamiento generadas dentro del tazón durante el tiempo de molienda, dicho efecto se logra observar notablemente con la reducción de las fibras a polvos muy finos después de los 15 min de molienda.

8.2.1.2. Difracción de Rayos X

En las **Figuras 19 y 20** se ilustran los patrones de difracción de las fibras del raquis de plátano a diferentes tiempos de molienda (2, 4, 8, 15, 30 y 60 min) con Fe y WC, respectivamente. En ambas figuras se ve que el raquis presenta el patrón de difracción característico del polimorfo tipo 1β de la celulosa nativa (El Halal, *et al.*, 2015). Comparando ambas figuras es evidente como la amorfización en la molienda con WC (**Fig. 20**) es mayor que con la molienda con Fe (**Fig. 19**). Esto es debido a la mayor energía suministrada por el material más denso (WC). El proceso de amorfización de las muestras empieza a los 30 min en WC y a los 60 min en Fe. Avolio, *et al.*, 2012, evaluaron el efecto de la molienda mecánica en celulosa comercial, utilizando un tazón y 25 bolas (10 mm de diámetro) de Fe y tiempos de molienda de 2, 4, 8, 15, 30 y 60 min. Ellos observaron una amorfización parcial de la celulosa conforme aumentaba el tiempo de molienda, la cual observaron mediante difracción de rayos X y mediante la disminución de las bandas de absorción en los espectros de FTIR.

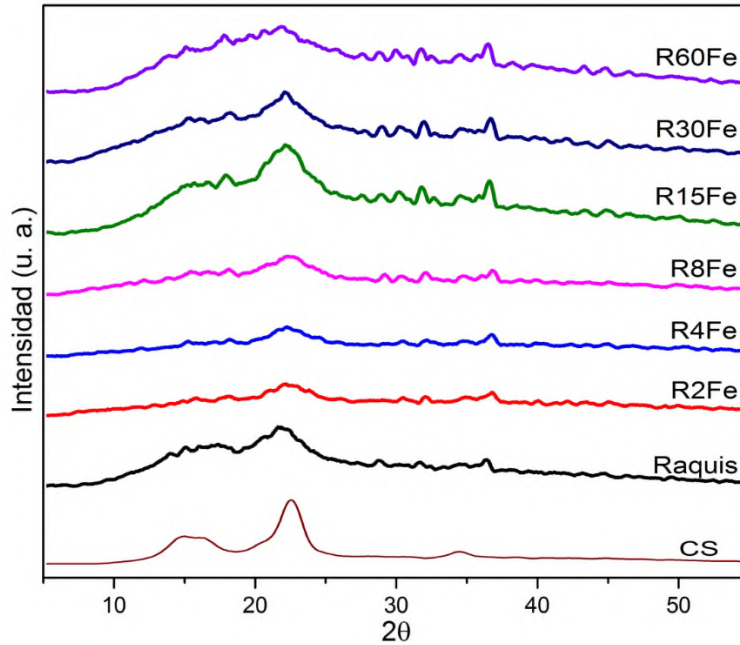


Figura 19. Patrones de difracción de raquis de plátano nativo y a diferentes tiempos de molienda (2, 4, 8, 15, 30 y 60 min) con tazón y bolas de Fe, usando Celulosa (CS) de Sigma-Aldrich como referencia.

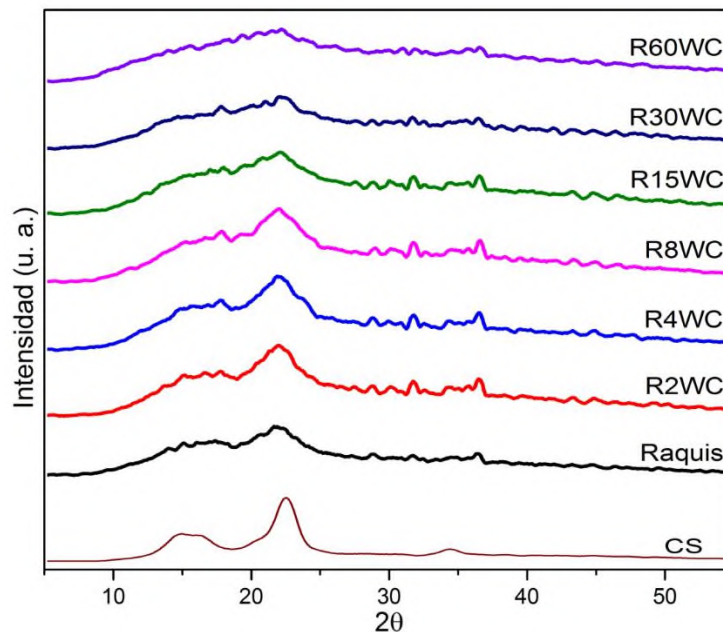


Figura 20. Patrones de difracción de raquis de plátano nativo y a diferentes tiempos de molienda (2, 4, 8, 15, 30 y 60 min) con tazón y bolas de WC, utilizando Celulosa (CS) de Sigma-Aldrich como referencia.

Zhao *et al.*, 2006, estudiaron el efecto de la hidrólisis con H_2SO_4 diluido (0.5 M) a $175\text{ }^\circ C$ sobre la cristalinidad de la celulosa comercial sometida a molienda mecánica, usando como material de molienda óxido de zirconio (ZnO_2), utilizando una bola de masa de 1 Kg y diámetro de 1 cm de diámetro, en un tazón de polipropileno a 60 rpm durante un periodo de tiempo de 1, 2 y 6 días. Observaron una disminución en la intensidad de los picos del plano cristalino en relación al aumento del tiempo de molienda, aunque no observaron la amorfización completa del difractograma debido al material de molienda usado.

A partir de los resultados reportados y los obtenidos, podemos comparar el efecto de la molienda mecánica con WC y Fe como materiales de molienda. Debido a que la energía suministrada en el proceso de molienda por efecto de la densidad del material y el tiempo de residencia del raquis dentro del tazón de molienda varía y se puede obtener una serie de modificaciones a distintos tiempos. Por ejemplo, polvos finos y amorfos en tiempos cortos (molienda con WC) o polvos gruesos y parcialmente amorfizados en tiempos largos (molienda con Fe).

Después de analizar los resultados de los análisis obtenidos mediante FTIR y DRX de las muestras de raquis de plátano a diferentes tiempos de molienda con carburo de tungsteno (WC) y hierro (Fe), se eligieron dos muestras representativas. La selección se realizó tomando en cuenta las características físicas y el patrón de difracción del raquis, eligiéndose así las muestras de 8 y 15 min de molienda con carburo de tungsteno (WC) para el análisis morfológico. Se seleccionaron estos tiempos y material de molienda ya que a estas condiciones se tienen polvos finos de fibra y estos aún conservan su carácter semicristalino.

8.2.2. Análisis morfológico

8.2.2.1. Microscopía electrónica de barrido (MEB)

En la **Figura 21** se muestran las micrografías de MEB de raquis nativo (a, b, c), raquis después de 8 min (d, e, f) y 15 min (g, h, i) de molienda mecánica a diferentes magnificaciones (100X, 500X y 1000X). Para el caso del raquis nativo a 100X (**Fig. 21 a**), se observa una gran variación en la morfología, a lo largo y ancho de las fibras. Mientras que a 500X (b) y 1000X (c) se observan más claramente los haces de microfibras que constituyen la morfología y el arreglo interno del raquis así como pequeños aglomerados de fibras de tamaño menor al de los haces fibrosos. Estas observaciones están de acuerdo con lo reportado por Gañan *et al.*, 2008.

A los 8 min de molienda se observa la disminución de fibras individuales (**Fig. 21 d**) y la aparición de pequeños aglomerados (**Fig. 21 e, f**). Se puede observar con claridad la reducción del tamaño de las fibras y la conformación de los agregados formados debido al efecto de la molienda mecánica, este efecto se ve con más contundencia conforme aumenta el tiempo de molienda de 8 a 15 min de molienda (**Fig. 21 g, h, i**). A 15 min de molienda se puede observar una menor densidad de fibras largas y un gran número de aglomerados de mayor tamaño. En las figuras con mayor magnificación (20 h, e) se puede apreciar la morfología y conformación de los aglomerados. Estos están formados de pequeñas capas de fibras que fueron trituradas dentro del tazón de molienda, que posteriormente por acción de la alta energía generada por la fuerza de impacto del material de molienda, propicio que la agregación de las fibras hasta formar partículas mas grandes, tal y como los que se observan en las micrografías de las muestras sometidas a molienda mecánica.

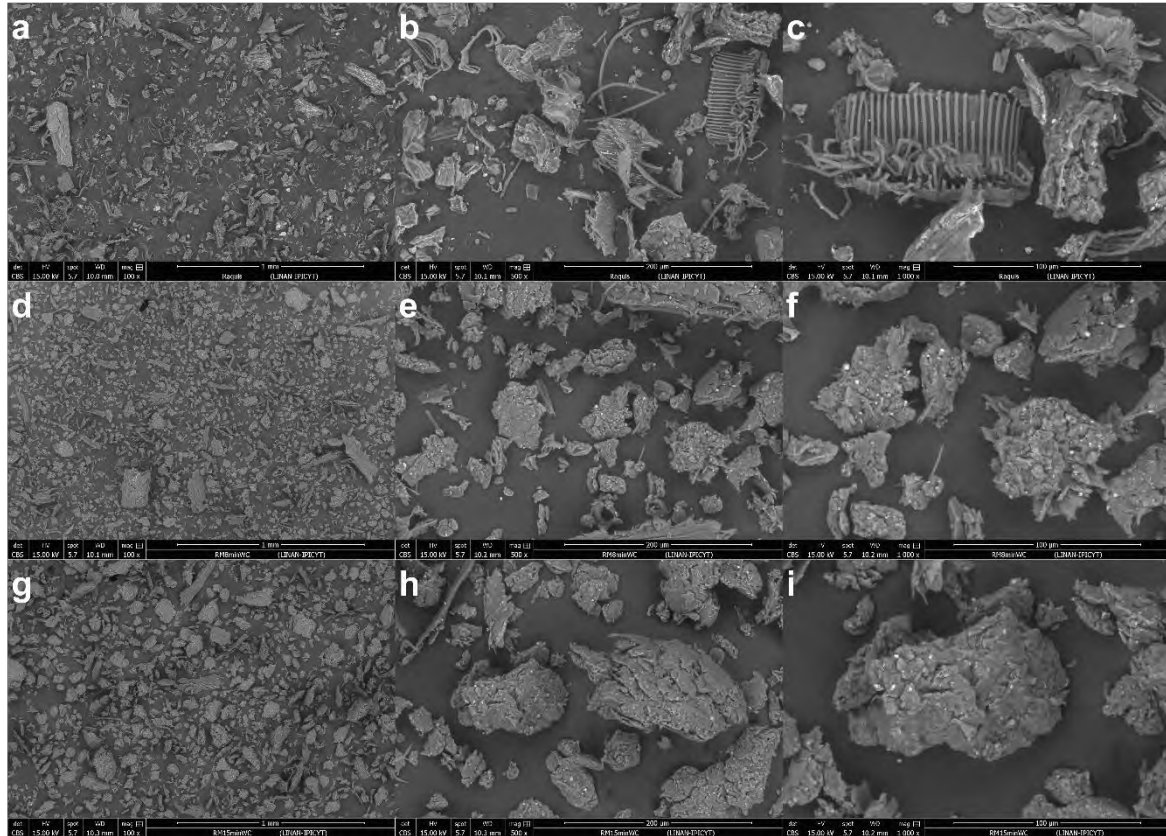


Figura 21. Micrografías de MEB para las fibras del raquis (a, b, c) y raquis con 8 min (d, e, f) y 15 min (g, h, i) de molienda con WC a diferentes magnificaciones 100X, 500X y 1000X.

Una vez que se tuvieron los polvos de raquis a 8 y 15 min de molienda, se procedió a realizar el proceso de blanqueado e hidrólisis de estos. Durante estos procesos se retiró el pigmento de las fibras, la lignina y la hemicelulosa presentes. Después de este proceso se observó una mayor homogeneidad en las fibras en comparación con las fibras nativas sometidas al mismo proceso. En la **Figura 22**, se pueden observar las imágenes obtenidas por MEB para las fibras de raquis con y sin molienda mecánica después del tratamiento de blanqueado e hidrólisis con H_2SO_4 . Se puede observar que para las fibras nativas del raquis (**Fig. 22** a, b, c) aun después de la hidrólisis, es posible observar la morfología bien definida de estas, tanto su longitud como su diámetro. Mientras que para las fibras con 8 min (**Fig. 22**

d, e, f) y 15 min (**Fig. 22** g, h y i) de molienda, podemos observar claramente como la estructura larga de las fibras se han fragmentado notablemente. La morfología de las fibras sometidas a molienda mecánica presenta deformaciones en la superficie, esto atribuido a las fuerzas de cizallamiento originadas dentro del tazón durante el proceso de molienda. En contraste con las micrografías de la **Figura 22**, podemos ver que después del proceso de blanqueado e hidrólisis de las fibras, los grumos o cúmulos de fibra formados después de cada periodo de molienda se dispersan.

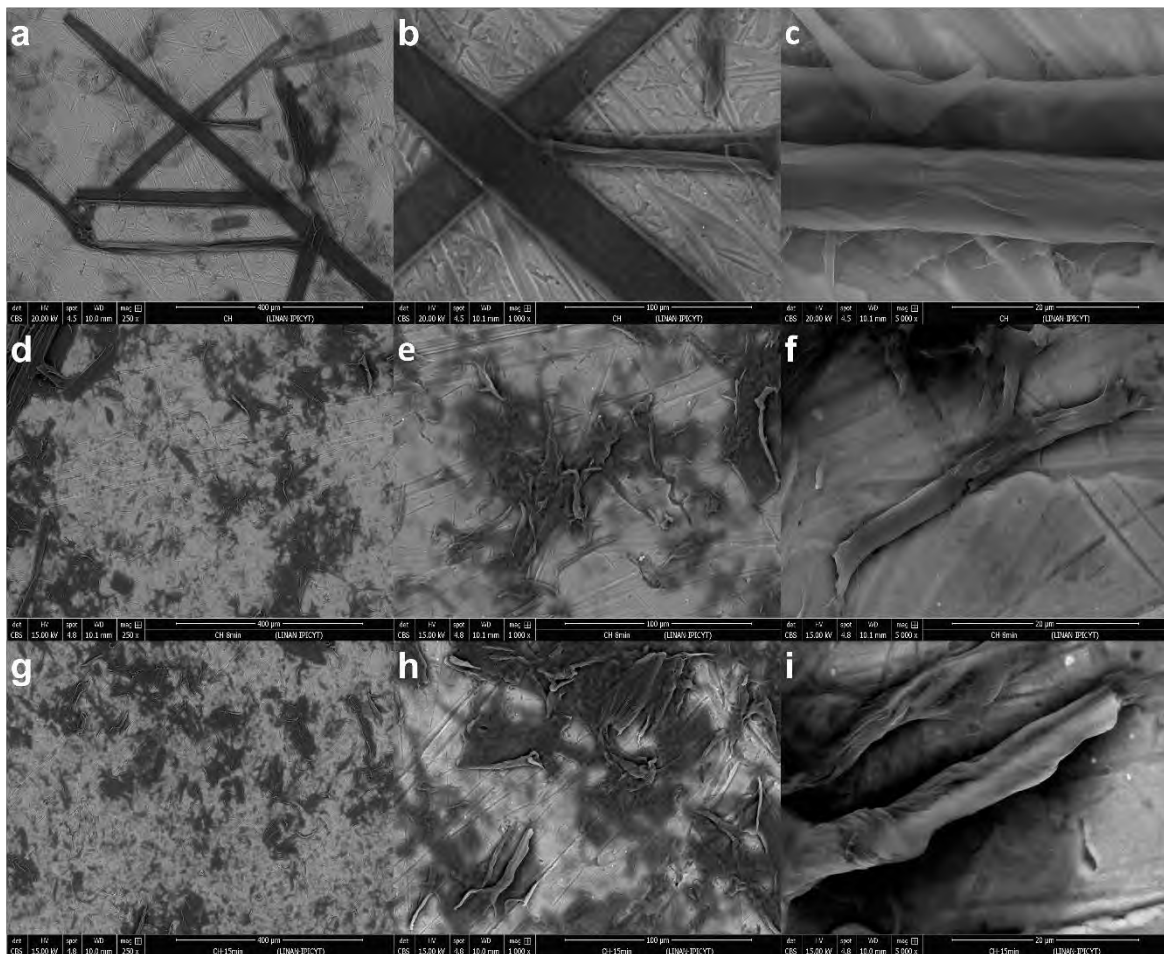


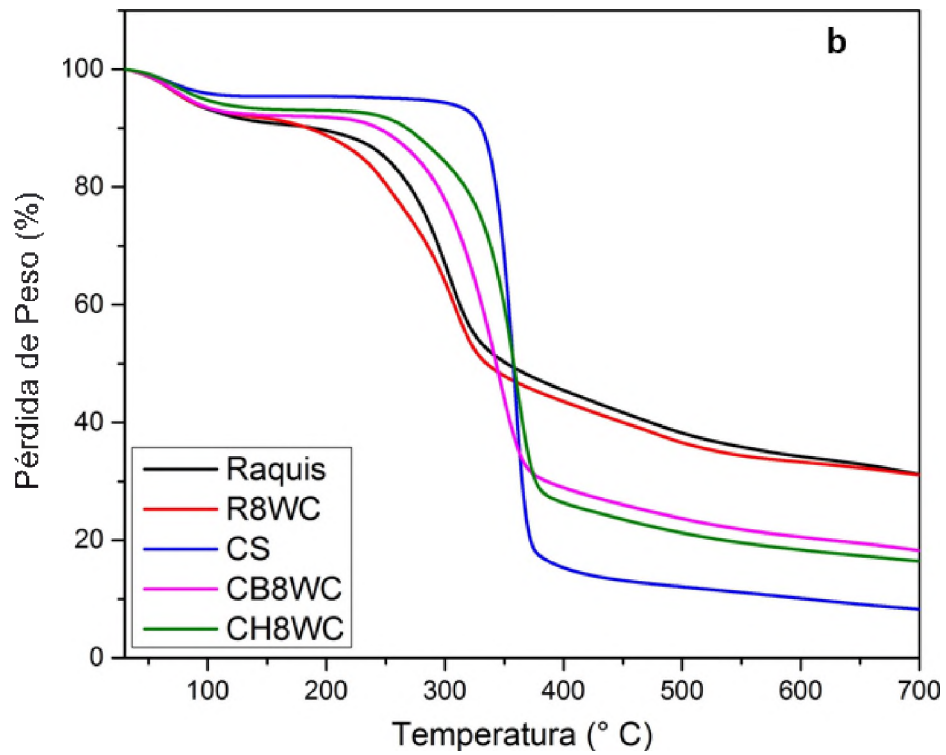
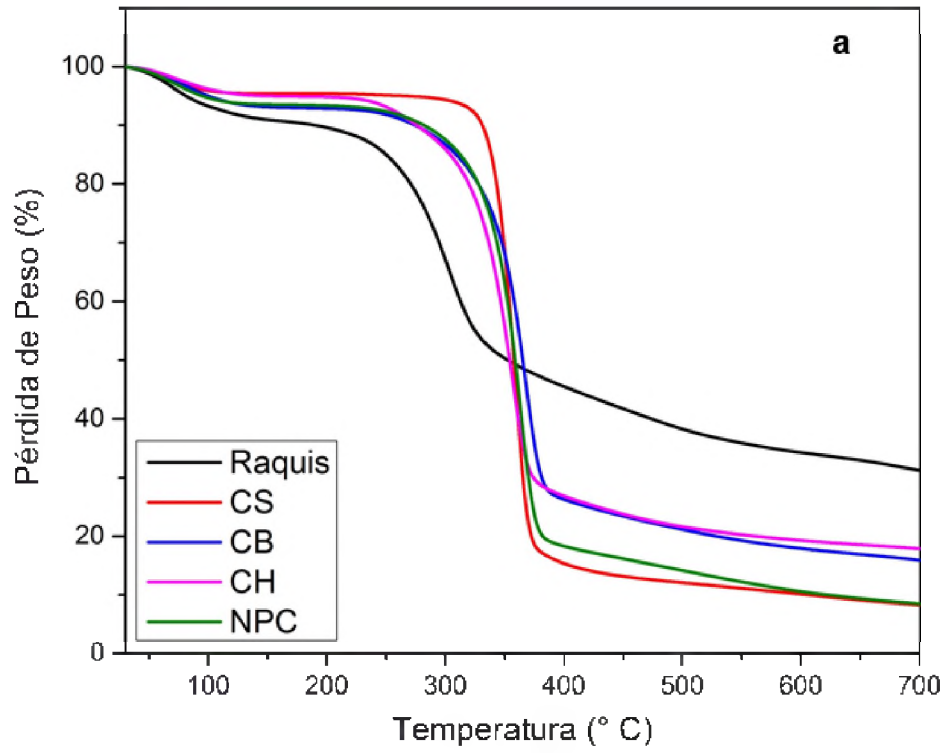
Figura 22. Micrografías de MEB para fibras de raquis hidrolizadas (CH a, b, c) con 8 (CH8 d, e, f) y 15 (CH15 g, h, i) minutos de molienda.

Avolio *et al.*, 2012, reportaron que hay un extraordinario efecto de la molienda mecánica sobre fibras de celulosa, debido a que se remarca la disminución progresiva del tamaño de las fibras en cada periodo de molienda. Después de 60 min de molienda, la celulosa pierde completamente su estructura fibrosa y es reducida a pequeñas partículas con dimensiones micrométricas. El tamaño inicial de las fibras de 200 μm se reduce a 12 μm después de 60 min de molienda. Los autores resaltan que después de 30 min de molienda, desaparece completamente la estructura de las fibras, evidenciando la formación de macropartículas de celulosa amorfa durante el proceso de molienda. Chin *et al.*, 2015, utilizaron la molienda mecánica e hidrólisis ácida como pretratamiento de fibras obtenidas de los racimos de la fruta de la palma de aceite. Ellos utilizaron tazones de Fe y bolas de cerámica como material de molienda durante tiempos de 6-24 h y una velocidad de 230 rpm. Los autores observaron que la superficie de las fibras sin tratar era lisa y rígida, y que a medida que aumentaba el tiempo de molienda se observaba una reducción progresiva en el tamaño de las fibras. Después de alcanzar el tiempo máximo de molienda (24 h) observaron la destrucción total de la estructura de las fibras y la formación de una superficie más rugosa.

8.2.3. Caracterización térmica

8.2.3.1. Análisis termogravimétrico (TGA)

En la **Figura 23**, se muestran las curvas termogravimétricas (TGA) correspondientes a la estabilidad térmica y degradación de las muestras de raquis y raquis con molienda mecánica, con y sin tratamiento de blanqueado e hidrólisis, nanopartículas de celulosa (NPC) y se comparan con estándar de celulosa comercial (marca Sigma) como referencia. En todos los termogramas se observan dos pérdidas de peso. La primera pérdida de peso se observa homogéneamente en todas las muestras alrededor de 50-100 °C, está perdida es atribuible a la pérdida del agua presente en las muestras (aproximadamente el 8% del peso).



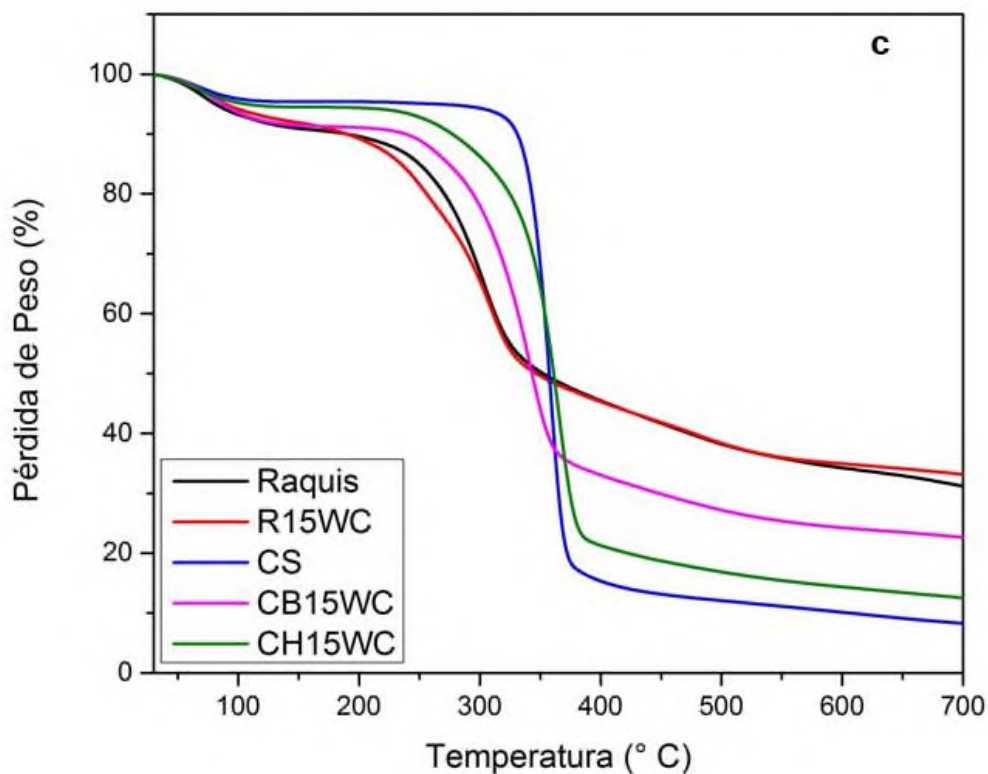


Figura 23. Termograma de las muestras raquis (a), raquis con molienda mecánica de 8 (b) y 15 (c) minutos de molienda, antes y después de cada proceso químico, comparados con el estándar comercial de celulosa sigma (CS).

La segunda pérdida de peso se presenta a distintas condiciones. Para las muestras de raquis, R8WC y R15WC se presentó entre 147.4 y 324.5 °C, correspondiente a un 50% de la pérdida de peso. Para CB8WC y CB15WC se presentó entre 216 y 366.7 °C, representado una pérdida en peso del 77%. Mientras que CB, CH y NPC (**Figura 23 a**), CH8WC (**Figura 23 b**) y CH15WC (**Figura 23 c**) se presenta entre 244.5 y 385 °C, con una pérdida en peso del 83%, aproximadamente. La celulosa comercial (CS) presentó esta pérdida de peso entre 285 y 369.6 °C, representando el 80% de la pérdida de peso total de la muestra. Esta segunda pérdida de peso en las muestras, es atribuible al proceso de degradación de la celulosa pues según Martins *et al.*, 2014, pueden ocurrir una serie de fenómenos como son: la depolimerización de la celulosa y la descomposición de las unidades glucosídicas.

Avolio *et al.*, 2012, reportaron la primera pérdida de peso correspondiente a la deshidratación de las muestras de celulosa sin molienda mecánica entre 25 y 150 °C, aunado a esto, señalaron que las muestras sometidas a molienda mecánica presentaron un efecto de mayor absorción de agua, esta absorción de agua aumentaba conforme al tiempo de molienda. El incremento de la absorción de agua varió de un 7.3% en peso de la celulosa nativa a un 11.6% de la celulosa tratada con molienda mecánica. Avolio *et al.*, relacionan este fenómeno a la estructura cristalina. Lo anterior debido a que el agua es fácilmente absorbida por la fracción amorfa de la celulosa, ya que los dominios cristalinos son difícilmente accesibles para las moléculas de agua. Por otra parte, reportan que la temperatura máxima de degradación decrece con respecto al aumento en los tiempos de molienda, siendo a los 4 min donde se presenta una mayor temperatura de degradación (349 °C) y a los 60 min de molienda una menor (337 °C).

Segunda etapa: Películas

8.3. Películas de almidón-celulosa

En esta segunda parte se discuten los resultados obtenidos después de la caracterización de las películas elaboradas a partir del almidón nativo con y sin molienda mecánica, adicionándole a la matriz polimérica como reforzante nanopartículas de celulosa obtenidas mediante tratamiento químico asistido por molienda mecánica o ultrasonido.

Tabla 4. Formulación de las películas analizadas.

	Concentración			Etiqueta
	Almidón (g)	Celulosa (g)	Glicerol (g)	
AN	6	0	1.8	PAN
A2	6	0	1.8	PA2
Formulación 1 (F1)	5.94 (AN)	0.06 (ultrasonido)	1.8	PF1.1
	5.82 (AN)	0.18 (ultrasonido)	1.8	PF1.3
	5.7 (AN)	0.3 (ultrasonido)	1.8	PF1.5
Formulación 2 (F2)	5.94 (AN)	0.06 (molienda)	1.8	PF2.1
	5.82 (AN)	0.18 (molienda)	1.8	PF2.3
	5.7 (AN)	0.3 (molienda)	1.8	PF2.5

Las películas elaboradas, se almacenaron en un desecador con una humedad relativa aproximada del 36 %. De las combinaciones de películas elaboradas, se eligieron las hechas a base de almidón nativo (AN), ya que las hechas de almidón con 2 min de molienda (A2) eran quebradizas, debido a que al someterse el almidón a molienda mecánica se fracturó la estructura interna del gránulo de almidón, lo cual provocó que hubiese una mala gelatinización. En la **Tabla 4** se muestran las formulaciones de las películas elaboradas, así como la etiqueta asignada de acuerdo a la concentración de celulosa utilizada. A partir de estas películas se hicieron las caracterizaciones, exhibiendo los siguientes resultados.

8.3.1. Análisis Estructural

8.3.1.1. Espectroscopia infrarroja

En la **Figura 24**, se observan los espectros de infrarrojo (IR) para las diferentes formulaciones de películas elaboradas, así como los controles de almidón nativo sin y con 2 minutos de molienda (PAN y PA2 respectivamente). En estos espectros se pueden ver claramente los tipos de señales características para cada grupo funcional presentes en las estructuras del almidón y la celulosa (ver **Tabla 5**). Debido a que ambos biomateriales están formados por moléculas de glucosa entrelazadas entre sí, debido a esto, las señales de los grupos funcionales permanecen iguales, aun después de variar las concentraciones de celulosa y almidón. De lo cual se puede decir que entre la celulosa y el almidón no existe interacción química fuerte. Por lo tanto, la interacción principal entre ambos biopolímeros al formarse las películas es mediante enlace por puente de hidrógeno. Un resultado similar fue reportado por Frone *et al.*, 2015, lo que se representa esquemáticamente en la **Figura 25**.

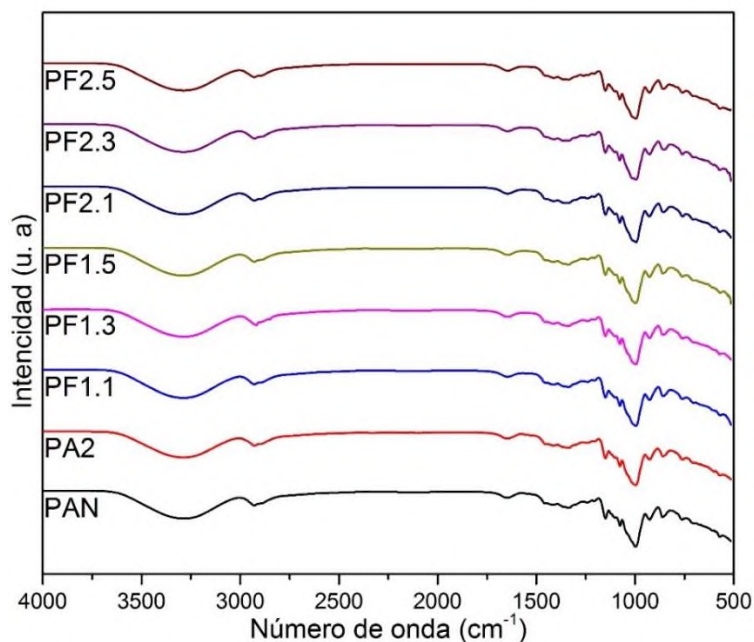


Figura 24. Espectros de IR de las películas elaboradas a base de almidón con incorporación de celulosa a diferentes concentraciones.

Tabla 5. Grupos funcionales observados mediante FTIR presentes en la estructura de la glucosa.

Grupo funcional	Numero de onda (cm ⁻¹)
Estiramiento de -OH	3673-3075
Estrechamiento de -CH ₂	2960
Vibración de -OH (atribuible al agua absorbida)	1625
Estiramiento de -C-O-C- del anillo de la glucopiranososa.	1240-875
Vibración de -C-C- del anillo de la glucopiranososa	813

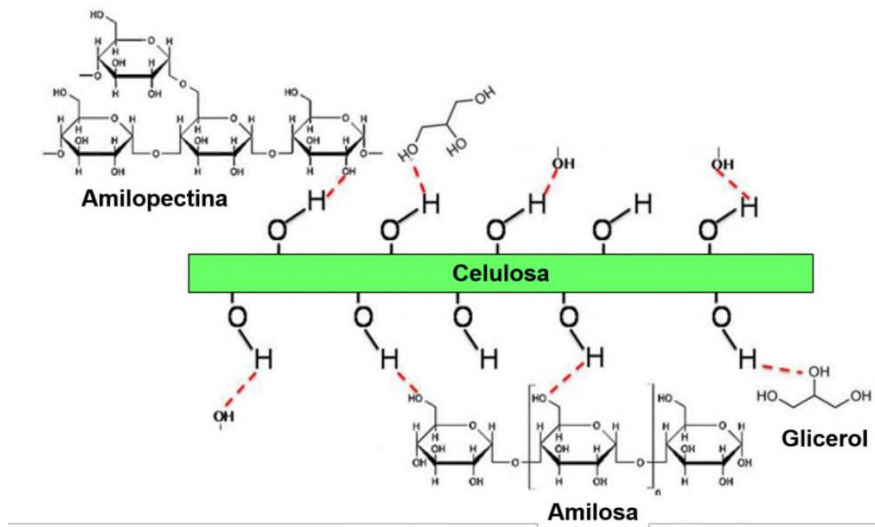


Figura 25. Representación esquemática de los enlaces por puente de hidrógeno promovidos por la interacción entre la celulosa, almidón y glicerol (adaptada de Frone *et al.*, 2015).

8.3.1.2. Difracción de Rayos X

En la **Figura 26**, podemos observar los patrones de difracción de rayos X para las películas elaboradas a diferentes concentraciones de almidón y celulosa. Se logra observar claramente como el patrón de difracción de las diferentes muestras posee un carácter semicristalino, denotándose ligeros cambios en los picos característicos para las películas con mayor cantidad de celulosa. El principal cambio se observa en $2\theta = 22.5$, correspondiente al pico característico de la región cristalina de la celulosa. Las muestras que presentan este comportamiento corresponden a las que contienen nanopartículas de celulosa obtenidas mediante ultrasonido (García-Ramón, 2015), esto no se observa en las de molienda. Lo anterior puede ser debido a que mediante la molienda mecánica se obtienen partículas con carácter mayormente amorfo.

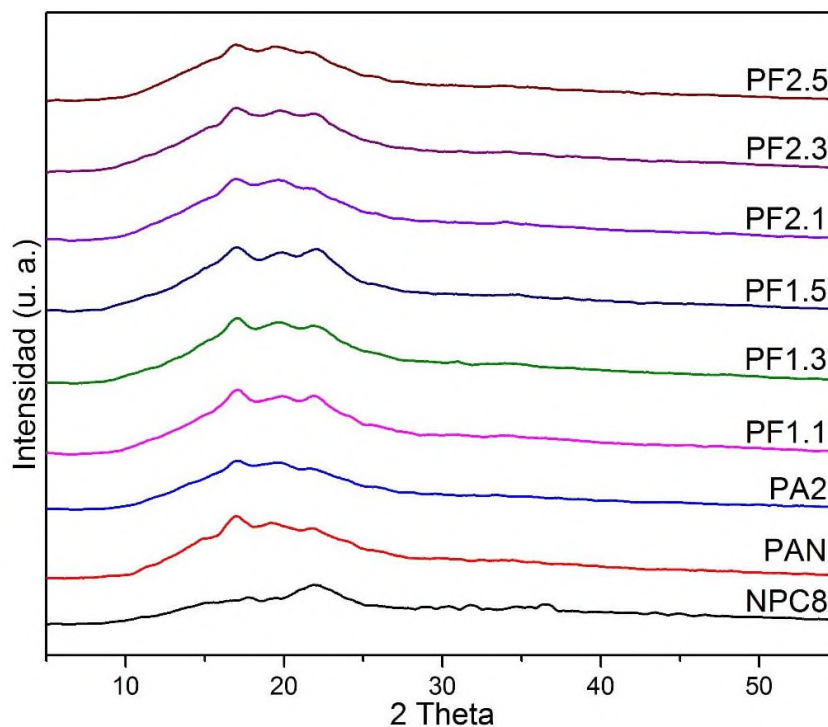


Figura 26. Patrones de difracción de rayos X de las películas elaboradas a partir de almidón-celulosa a diferentes concentraciones (1, 3 y 5%) y celulosa con 8 min de molienda mecánica (NPC8).

De manera muy general, los picos de cada una de las muestras control (NPC8 y PAN) se pueden apreciar en los difractogramas de las películas son los mismos que observamos para las cada una de las muestras control, existiendo como única diferencia el pico característico de la celulosa, el cual se hace más intenso al aumentar la concentración de ésta. Al igual que en los espectros de IR, en los difractogramas se puede observar que no hay interacción química entre la celulosa y el almidón. Esto sugiere que los tipos de interacciones entre estos dos biomateriales al formarse la película son interacciones físicas.

8.3.2. Análisis térmico

8.3.2.1. Análisis termogravimétrico (TGA)

Para ver si hay un efecto sobre las propiedades térmicas del almidón por la interacción con la celulosa, se llevó a cabo el análisis termogravimétrico. En la **Figura 27** se muestran las curvas de pérdida en peso de las películas de almidón-celulosa a diferentes concentraciones. En la **Figura 28** se muestran las curvas de la primera derivada de las curvas de TG (DTG). De acuerdo con lo mostrado en los termogramas, podemos observar tres eventos o etapas térmicas durante la pérdida de peso de las muestras. Las dos primeras correspondientes a la degradación de los componentes de las películas. La tercera etapa corresponde a los residuos formados después de la degradación del material. En el caso de PAN y PA2, se observan dos etapas en el proceso de degradación, esto también es fácil de ver en su primera derivada DTG (**Fig. 28**). La primera etapa, con la tasa de degradación más alta (132 °C) se atribuye a la eliminación del agua. Leblanc *et al.*, 2008, reportaron que la mezcla de glicerol-agua muestran una rápida cinética de evaporación de dos etapas, la evaporación del agua comienza en un corto tiempo después de iniciar el calentamiento y la del glicerol cerca de los 100 °C. Este es un fenómeno interesante debido a que al final de esta pequeña etapa de degradación solo se han consumido aproximadamente el 11% de la muestra (Frone *et al.*, 2015). La segunda etapa corresponde a la degradación del almidón, la cual se lleva a cabo en el intervalo de 258 a 355 °C, exhibiendo como temperatura máxima de degradación 326.76 °C. Esta etapa de degradación del almidón corresponde a más del 80% de la pérdida de peso. Por último, tenemos los residuos carbonosos con un peso aproximado del 9% a 700 °C.

La adición de la celulosa a las películas disminuye la capacidad hidrofílica del almidón. Debido a que los grupos hidroxilos presentes en la estructura del almidón, anteriormente propensos a solvatare, se encuentran ahora formando interacciones por puentes de hidrógeno con los grupos hidroxilos presentes en la estructura de la celulosa y el glicerol (ver **Figura 25**). Por tal motivo el comportamiento térmico de

las películas de almidón es diferente al de las películas de almidón-celulosa. Para las muestras PF1.1, 1.3, 2.1, 2.3 y 2.5, podemos observar principalmente dos caídas de pérdida en peso. La primera pérdida de peso se registra por debajo de los 100 °C, donde todas las películas presentan una pérdida aproximada del 10% en peso, relacionado directamente a la evaporación del agua presente en las muestras.

La segunda caída o pérdida de peso se registra en el intervalo de 282 a 359 °C (con una temperatura máxima de degradación para PF1.1= 329.9, PF1.3=331.75, PF1.5=336.03, PF2.1=324.05, PF2.3=329.18 Y PF2.5=325.47 °C, **Fig. 27**). Esta caída corresponde a la degradación del almidón y de la celulosa, la variación en el pico máximo de degradación, está directamente relacionada a la concentración de celulosa en cada película. Podemos observar que para las películas adicionadas con celulosa obtenidas por sonicación, la temperatura máxima aumentó gradualmente. Sin embargo, para las películas adicionadas con celulosa de molienda mecánica, la temperatura de la concentración 1% y 3% aumentó, pero para la de 5%, la temperatura disminuyó en 3.7 °C (ver **Tabla 6**). Este comportamiento se puede deber a que la celulosa obtenida por molienda mecánica es más amorfa y los tamaños de partícula son menos homogéneos en comparación con los obtenidos por sonicación.

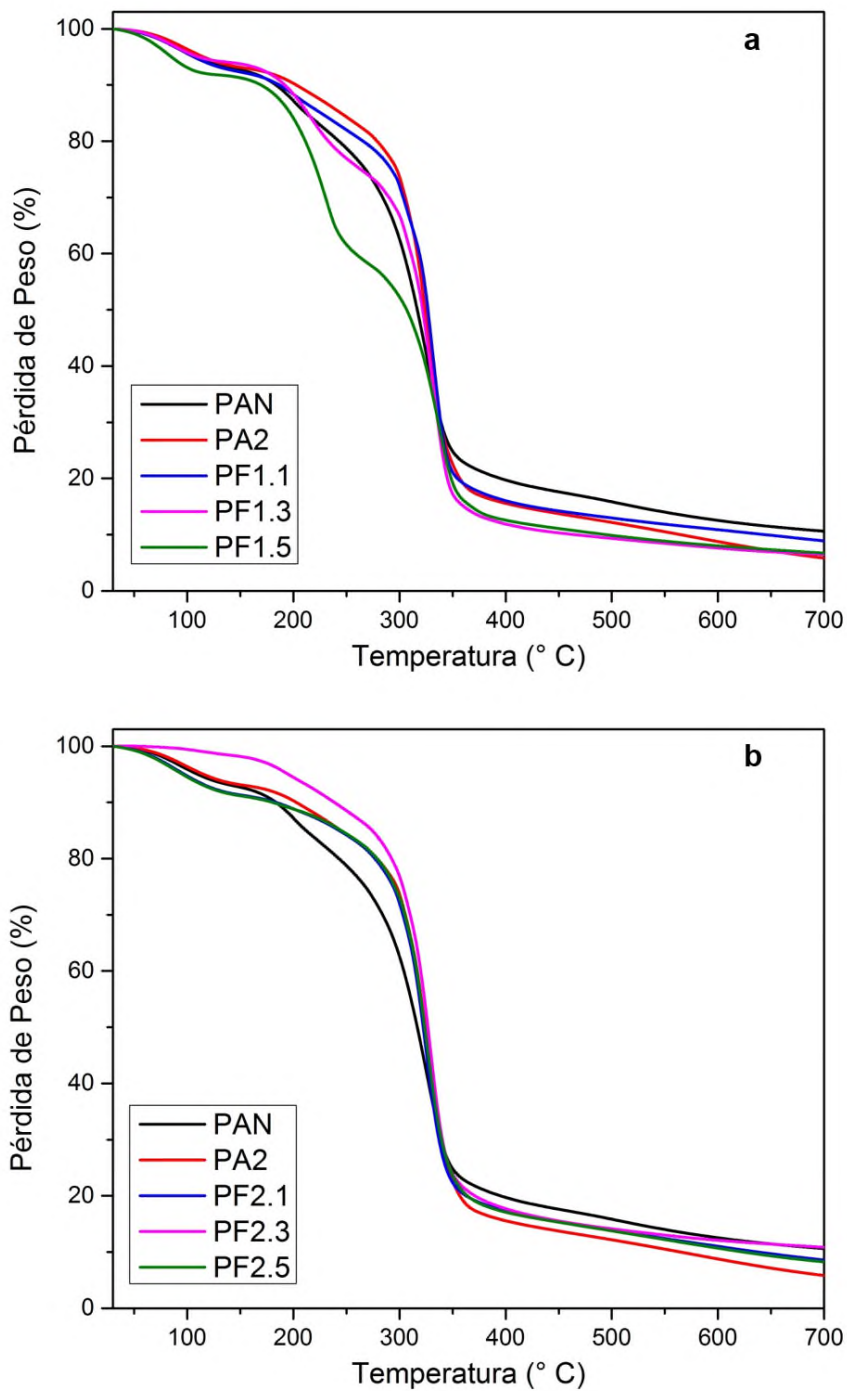


Figura 27. Termograma de la pérdida en peso de las películas elaboradas a base de almidón con a) celulosa obtenida mediante ultrasonido y b) celulosa obtenida mediante molienda mecánica.

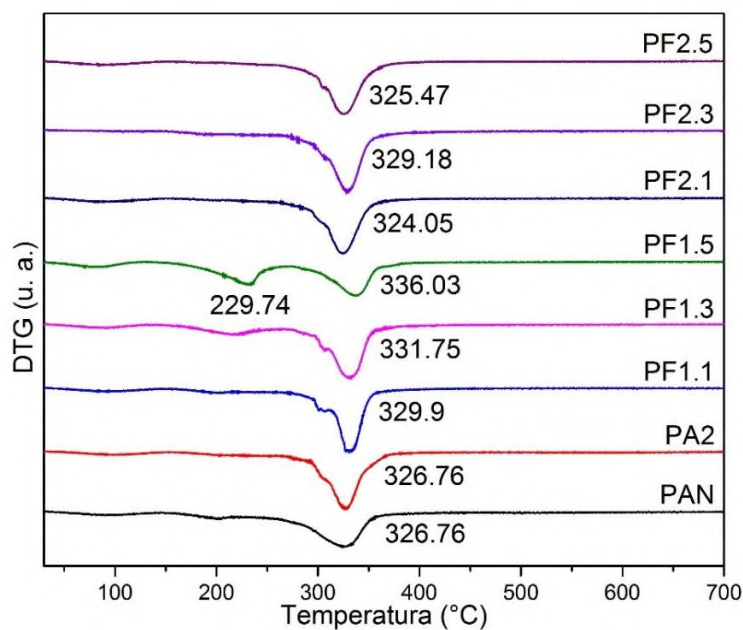


Figura 28. Primera derivada de los termogramas de la pérdida en peso (DTG) de las películas elaboradas a base de almidón-celulosa.

Tabla 6. Datos de la curva de degradación de las películas elaboradas de almidón-celulosa a diferentes formulaciones y concentraciones.

Muestra	T _{inicial} (°C)	T _{máxima} (°C)	T _{final} (°C)
PAN	258.85	326.76	354.58
PA2	258.85	326.76	354.58
PF1.1	282.24	329.9	358.86
PF1.3	282.24	331.75	358.86
PF1.5	282.24	336.03	358.86
PF2.1	282.24	324.05	358.86
PF2.3	282.24	329.18	358.86
PF2.5	282.24	325.47	358.86

8.3.3. Permeabilidad al vapor de agua

La evaluación de la propiedad de permeabilidad al vapor de agua, es una prueba importante para los materiales que se pretendan usar como empaques de alimentos, debido a que estos deben de evitar la migración de la humedad del medio ambiente al interior del alimento. La **Figura 29** muestra los resultados de las pruebas de permeabilidad al vapor de agua de las películas PAN, PA2, PF1 y PF2. Se puede notar que las películas PAN y PA2 presentan mayores valores de permeabilidad de agua, siendo la película PA2 él que posee valores más elevados. Lo cual se puede atribuir al efecto de la molienda mecánica que provocó un aumento considerable del carácter hidrofílico del almidón, debido a que se fracturó la estructura del granulo, permitiendo de este modo la fácil migración del vapor de agua a través de la película. Dicho efecto se redujo considerablemente después de añadir la celulosa, lo que brindo carácter hidrofóbico a las películas.

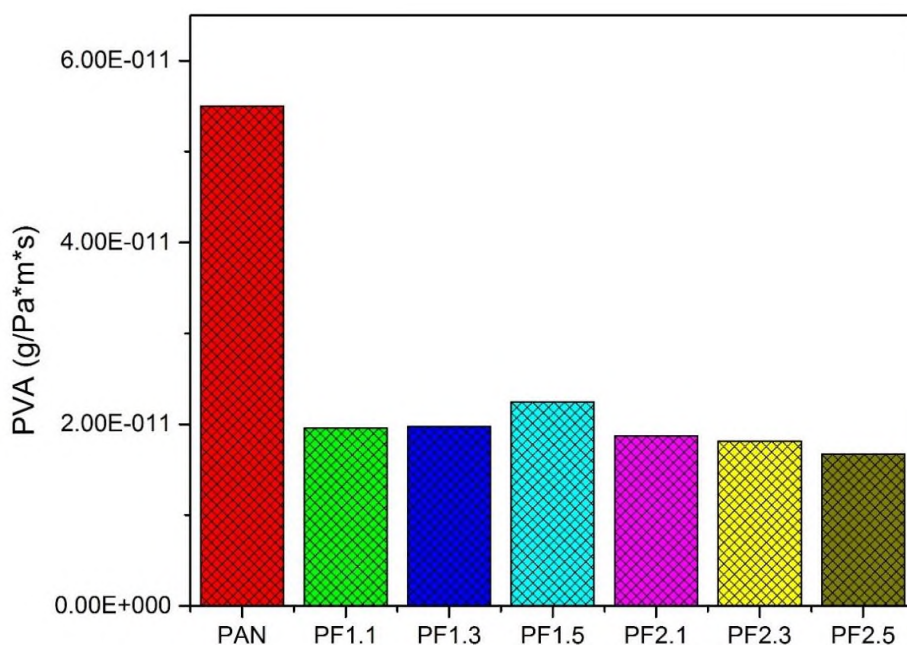


Figura 29. Permeabilidad al vapor de agua de las películas elaboradas a partir de almidón y diferentes concentraciones de nanopartículas de celulosa.

Con respecto a las películas elaboradas con almidón nativo (PF1 y PF2), las que mostraron una menor permeabilidad al vapor de agua fueron las que se reforzaron con nanopartículas de celulosa obtenidas por molienda mecánica (PF2.1, 2.3 y 2.5). Dicho efecto se puede atribuir a que las nanopartículas de celulosa obtenidas mediante molienda mecánica quedan cargadas estáticamente después de la molienda, lo cual propicia que la interacción física existente en ellas y el almidón dificulten la fácil migración de las moléculas de agua a través de la película. Caso contrario es el de las nanopartículas obtenidas por ultrasonido (PF1, 1.3 y 1.5) las cuales exhiben un ligero incremento en la permeabilidad. Autores como Mali *et al.*, 2004, reportaron que la permeabilidad de vapor de agua disminuye con el aumento de zonas cristalinas dentro de la película, debido a que el fenómeno de permeación se da a través de las zonas amorfas presentes en la película.

Müller *et al.*, 2009, realizaron un estudio sobre el efecto de la adición de fibras de celulosa en la elaboración de películas a base de almidón de yuca, las películas fueron elaboradas a diferentes concentraciones de celulosa (0.10, 0.30 y .050 g) y usando glicerol como plastificante (0.30g). Ellos observaron que la adición de celulosa ayudaba a mejorar las propiedades de permeabilidad al vapor de agua, mostrando valores de permeabilidad inferiores a la de las películas sin celulosa. Mostraron que la permeabilidad al vapor de agua tiene una fuerte dependencia de los coeficientes de solubilidad y difusión de agua, por consecuencia, el rango del gradiente de humedad relativa presentó valores de hasta 2 a 3 veces más, dependiendo de la formulación de la película. Resaltando que es importante determinar esta propiedad sobre la base de las condiciones ambientales a las que se utilizaran las películas. Lo anteriormente citado, concuerda con los resultados del trabajo realizado en esta investigación, debido a que sigue la misma tendencia en cuanto al aumentar la cantidad de celulosa, disminuye la permeabilidad del vapor de agua. Esto también concuerda con lo reportado por Fabra *et al.*, 2016, quienes estudiaron la mejora de las propiedades de barrera de biopelículas elaboradas a base de almidón de maíz y reforzadas con nanowhiskers (NWC) de celulosa

bacteriana a diferentes concentraciones (0, 2, 5, 10, 15 y 20 % en peso). Ellos observaron una mejora en las propiedades de barrera al vapor de agua a una humedad relativa alta (80%), con valores de 1.52, 8.73, 8.26, 7.40, 6.42 y 7.48 Kg * m⁻¹ * Pa⁻¹ * s⁻¹ (respectivamente), alcanzándose un mejor valor de permeabilidad en la película con 15% de NWC.

8.3.4. Propiedades mecánicas

En la **Tabla 7**, se muestran los resultados para la evaluación de las propiedades mecánicas (tensión a la fractura y porcentaje de elongación) de las películas PF1 y PF2. Las películas PF3 y PF4, al estar elaboradas con almidón sometido a molienda mecánica, exhiben alta rigidez y una fácil fracturabilidad, atribuido a la fractura dentro del gránulo de almidón. Por lo anterior se optó por trabajar con las películas elaboradas a partir de almidón nativo y nanopartículas de celulosa (obtenidas usando ultrasonido y molienda mecánica). Se puede notar en los valores reportados que la adición de celulosa provoca un cambio significativo en las propiedades mecánicas. En el caso de la tensión a la fractura, la película PF1.1 presenta el mayor valor (17.63 MPa) con respecto a la película control (PAN), seguida de la película PF2.5, con un valor de 8.05 MPa.

Con respecto al porcentaje de elongación, se puede observar que en las películas elaboradas con NPC obtenida por ultrasonido, la concentración del 3%, es la que presenta el mayor valor (12.53 %). Esto puede indicar que 3% es la concentración adecuada para tener un material con buena propiedad de elongación, debido a que al aumentar la concentración de las NPC, se observó una disminución en el porcentaje de elongación. Por otra parte, las películas elaboradas con NPC obtenidas con molienda mecánica, presentan valores altos en el porcentaje de elongación, los cuales aumentan considerablemente al aumentar la concentración de NPC.

Tabla 7. Propiedades mecánicas de las películas elaboradas a partir de almidón de plátano y nanopartículas de celulosa.

Muestra	Tensión a la fractura (MPa)	Elongación (%)
PAN	9.68 ± 0.241	4.6 ± 0.234
PF1.1	17.63 ± 0.362	3.18 ± 0.067
PF1.3	6.66 ± 0.523	12.53 ± 0.729
PF1.5	1.42 ± 0.751	7.98 ± 0.347
PF2.1	4.6 ± 0.493	29.15 ± 0.412
PF2.3	4.32 ± 0.32	45.97 ± 0.523
PF2.5	8.05 ± 0.463	46.41 ± 0.523

Estos resultados sugieren que las nanopartículas obtenidas por los diferentes métodos (molienda y sonicación), brindan diferentes propiedades a las películas de almidón. Mientras que las nanopartículas obtenidas por ultrasonido brindan mejores propiedades con respecto a la tensión a la fractura, las nanopartículas obtenidas por molienda mecánica brindan mejores propiedades en el porcentaje de elongación. Esta variación puede ser debida a diferentes factores, entre ellos a la concentración y la cristalinidad de las NPC obtenidas mediante cada método. Mientras que por ultrasonido las NPC son más cristalinas, debido a que durante el proceso de hidrólisis y sonicado, la parte amorfa de la celulosa es la más susceptible a ser removida. Por otra parte, al someter las fibras de celulosa a molienda mecánica, el efecto de cizallamiento de las bolas de molienda deforma la parte cristalina de la celulosa obteniéndose así partículas de carácter más amorfo. Esto se puede observar claramente en los resultados obtenidos por difracción de rayos X de las nanopartículas obtenidas (**Figura 19 y 20**).

Müller *et al.*, 2009, observaron que la incorporación de fibras de celulosa en la formulación de biopelículas a base de almidón de yuca mejoraba considerablemente las propiedades mecánicas (de 6.7 a 18 veces el esfuerzo máximo a la tensión). Este comportamiento es similar al reportado en la **Tabla 7** para la película con 1% de NPC obtenidas mediante ultrasonido, donde se observó un incremento en el valor de tensión a la fractura con respecto al valor encontrado para la película control (PAN). Müller *et al.*, también indicaron que las biopelículas presentaron menor permeabilidad al vapor de agua. Atribuyendo este aumento significativo en las propiedades mecánicas a la similitud entre las estructuras químicas de los dos biopolímeros.

Fabra *et al.*, 2016, observaron que las películas elaboradas a partir de almidón de maíz y reforzadas con nanowhiskers de celulosa bacterial (BNWC) a diferentes concentraciones (0, 2, 5, 10, 15 y 20 % en peso) mostraron mayor rigidez en las películas. Por lo tanto, el porcentaje de elongación de las películas reforzadas con bajas concentraciones de BNWC se vió ligeramente disminuido a (7.3, 6.9, 6.2 y 6.8%, respectivamente) en comparación con la película control de almidón nativo. Sin embargo, el porcentaje de elongación disminuyó alrededor del 50% en las películas con mayor concentración de BNWC (15 y 20 %), haciendo que el material sea menos elongable. Lo cual atribuyeron al carácter altamente cristalino de la celulosa bacterial. Caso contrario se observa en los resultados reportados en la **Tabla 7**, en la cual podemos observar que el porcentaje de elongación aumenta proporcionalmente con el aumento de la concentración de NPC, siendo las NPC obtenida mediante molienda mecánica las que exhiben un mejor porcentaje de elongación.

9. Conclusiones

- Se caracterizó el almidón nativo y el sometido a molienda mecánica mediante la técnica de DRX. El almidón nativo presenta un polimorfo del tipo "C". La molienda mecánica causa un fuerte daño sobre el granulo de almidón, provocando la amorfización progresiva del almidón después de ser sometido a diferentes tiempos de molienda.
- Mediante MEB se pudo ver los defectos en la superficie del granulo de almidón causados por la molienda mecánica a tiempos cortos.
- El perfil de viscosidad cambio contundentemente después de cada tiempo de molienda. Entre cada material de molienda el comportamiento reológico fue diferente. Para carburo de tungsteno (WC), como material de molienda la viscosidad empezó a disminuir desde tiempos cortos de molienda. A 60 min de molienda la viscosidad se volvió a elevar debido a la retrogradación del almidón. Para acero templado (Fe) como material de molienda, se pudo observar que a los 2 min de molienda la viscosidad se elevó por arriba de la del almidón nativo, para posteriormente ir disminuyendo conforme aumentaba el tiempo de molienda. Este fenómeno observado en el perfil de viscosidad se puede deber a las deformaciones en los gránulos de almidón generadas por la molienda mecánica.
- Los resultados de la determinación del tamaño de partícula (DTP) para el almidón, mostraron que después de cada tiempo de molienda el tamaño de partícula aumentó, debido a la formación de aglomerados por efecto de la molienda.
- Por análisis termogravimétrico no se observó que la molienda mecánica tuviera un efecto en la estabilidad térmica del almidón.
- El uso de la molienda mecánica para la extracción de partículas de celulosa, representa un método viable debido al corto periodo de tiempo en el que se llega a la obtención de partículas a escala micro o nanométrica y con mayor homogeneidad.

- En FTIR se observó que no hay cambio en la estructura química de la celulosa por efecto de la molienda mecánica y a través del análisis de DRX se observa una amorfización progresiva del carácter semicristalino de la celulosa como efecto de la molienda mecánica. Identificándose el polimorfo tipo 1 β , característico de la celulosa nativa.
- Se demostró mediante MEB la formación de aglomerados de partículas de raquis como efecto de las altas energías alcanzadas dentro del tazón de molienda. Dichos aglomerados se dispersaron después del proceso de hidrólisis química. La superficie de las fibras se observaron con rugosidades por efecto de la molienda mecánica.
- El análisis térmico demostró que después de la hidrólisis química, la temperatura máxima de degradación de las fibras sometidas a molienda mecánica incrementó de 324.5 a 366.7 °C, pero este valor es aún más bajo que el mostrado por la celulosa obtenida por sonicación, con una temperatura máxima de degradación de 385 °C.
- La celulosa además de ser un polímero biodegradable, de amplia distribución a nivel mundial y con bajos costos para su extracción, puede ser una alternativa viable como material de refuerzo para la mejora de las propiedades térmicas, de barrera y mecánicas de las películas elaboradas a base de almidón.
- Se observó mediante FTIR y DRX que no hay interacción química entre la celulosa y el almidón, si no que el tipo de interacción existente es mediante puentes de hidrógeno.
- El análisis térmico reveló que la adición de celulosa eleva considerablemente la temperatura máxima de degradación de las películas, observándose la mayor temperatura a altos porcentajes de celulosa (5%).
- Las películas elaboradas con almidón sometido a molienda mecánica, presentan mayor fragilidad en comparación con las elaboradas con AN.
- Las películas reforzadas con celulosa obtenida por molienda mostraron mayor porcentaje de elongación, baja tensión a la fractura y una baja permeabilidad al vapor de agua. En comparación con las reforzadas con

celulosa obtenida por sonicación. Estas últimas mostraron un bajo porcentaje de elongación, mayor porcentaje de tensión a la fractura y alta permeabilidad al vapor de agua.

- Se observó que dependido del método de obtención de la celulosa (molienda mecánica o sonicación), ésta brindará diferentes propiedades a la matriz polimérica en la que se encuentre inmersa.

10. Perspectivas del trabajo

De acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo se proponen las siguientes recomendaciones y perspectivas:

- a. Realizar un estudio detallado del efecto de la molienda mecánica sobre el almidón y la celulosa. É l cual abarque un amplio estudio en la distribución del tamaño de partícula, propiedades reológicas y morfológicas.
- b. Realizar una modificación química de las partículas de celulosa obtenidas mediante molienda mecánica para otro uso diferente a la elaboración de películas, como puede ser emulsificantes.
- c. Realizar una modificación química al almidón tratado con molienda mecánica y estudiar el efecto de esta sobre el grado de modificación del almidón.
- d. Realizar un análisis por microscopia electrónica de transmisión (TEM) para ver la distribución de las partículas de celulosa dentro de la matriz polimérica de almidón.
- e. Realizar un estudio de permeabilidad de gases para las películas elaboradas.
- f. Realizar pruebas microbiológicas y de biodegradación de las películas elaboradas.

11. Bibliografía

AACC. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. American Association of Cereal Chemists, Vol. II. St. Paul, MN, 2000.

Adel, M. A., El-Wahab, A. H. Z., Ibrahim, A. A., Al-Shemy, M. T. Characterization of Microcrystalline Cellulose Prepared From Lignocellulosic Materials. Part 1. Acid catalyzed hydrolysis. *Bioresourse Technology*. 2010, 101, 4446-4455.

Agama-Acevedo, E., Nuñez-Santiago, M. C., Alvarez-Ramirez, J., Bello-Perez, L. A. Physicochemical, Digestibility and Structural Characteristics of Starch Isolated from Banana Cultivars. *Carbohydrate Polymers*. 2015, 124, 17-24.

Alanís-Lopez, P., Perez-Gonzalez, J., Rendon-Villalobas, R., Jimenez-Perez, A., y Solorza-Feria, J. Extrusion and Characterization of Thermoplastic Starch Sheets from "Macho" Banana. *Journal of Food Science*. 2011, 76, 465-471.

Anzai M., Hagiwara T., Watanabe M., Komiyama J. y Suzuki T. Relationship Between Enthalpy Relaxation and Water Sorption of Ball-Milled Potato Starch. *Journal of Food Engineering*. 2011, 104, 43-48.

Atalla, R. H. y Vanderhart, D. L. Native Cellulose: A Composite of Two Distinct Crystalline Forms. *Science*. 1984, 223,283.

Aulin, C. Novel Oil Resistant Cellulosic Materials (Pulp and Paper Technology). Stockholm, Sweden. KTH Chemical Science and Engineering. 2009, 25, 7675-7685.

Avolio R., Bonadies I., Capitani D., Errico M. E., Gentile G. y Avella. A Multitechnique Approach to Assess the Effect of Ball Milling on Cellulose. *Carbohydrate Polymers*. 2012, 87, 265-273.

Azizi Samir, M. A. S., Alloin, F., Sanchez, J. Y. y Dufresne, A. Tangling Effect in Fibrillated Cellulose Reinforced Nanocomposites. *Polymer Science. Technology*. 2005, 15, 109.

Badui Dergal Salvador. Química de los Alimentos. Pearson education, Cuarta edición, México. 2006, 81.

Bayazeed A., Elzairy M. R., y Hebeish A. Synthesis and Applications of New Thickeners. Part 1: Preparation of Poly(acrylic acid)-Starch Graft Copolymer. *Starch/Stärke*. 1989, 41, 233-236.

Bello-Pérez L. A., Agama-Acevedo E., Sánchez-Hernández L. y Paredes-López O. J. Contribution of Amylose and Amylopectin to the Light Scattering Behaviour of Starches in Aqueous Solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1999, 47, 854-857.

Bello-Pérez y Paredes-Lopez O. El Almidón: Lo Comemos, Pero no lo Conocemos. *Ciencia*. 1999, 50, 29-33.

Bello-Perez, L. A., Agama-Acevedo E., Sanchez-Hernandez L., y Paredes-Lopez O. Isolation and Partial Characterization of Banana Starches. *Journal Agriculture and Food Chemistry*. 1999, 47, 854-857.

Bello-Perez, L. A., Pano-De-Leon, Y., Agama-Acevedo, E., Paredes-Lopez, O. Isolation and Partial Characterization of Amaranth and Banana Starches. *Starch*, WILEY-VCH. 1998, 10. 409-413.

BeMiller, J. y Whistler, R. Carbohydrates in Food Chemistry, Third Edition, ELSEVIER Editorials, Marcel Dekker, New York, USA. 2009, 157-223.

Benjamin J. S. Dispersion Strengthened Superalloys by Mechanical Alloying. *Materials Transactions*. 1970. 1, 2943-2951.

Bernstein L. S., Zakin M.R., Flint E. B. y Suslick K. S. Cavitation Thermometry Using Molecular and Continuum Sonoluminescence. *J Phys Chem*. 1996, 100, 6612–6619.

Bettge, A. D., Giroux, M. J. y Morris, C. F. Susceptibility of Waxy Starch Granules to Mechanical Damage. *Cereal Chem*. 2000, 77, 6, 750-753.

Bhaskaracharya R. K., Kentish S. y Ashokkumar M. Selected Applications of Ultrasonics in Food Processing. *Food Eng Rev.* 2009, 1, 31-49.

Bhatnagar, A. y Sain, M. Processing of Cellulose Nanofiber Reinforced Composites. *Journal of Reinforced Plastic Composite.* 2005, 24, 1259-1268.

Bogacheva, T.Y., Cairns, P., Noel, T. R., Hulleman, S., Wang, T. L., Morris, V. J., Ring, S. G., Hedley, C. L. The Effect of Mutant Genes at the R, Rb, Rug3, Rug4, Rug5 and Lam Loci on the Granular Structure and Physico-Chemical Properties of Pea Seed Starch. *Carbohydrate Polymers.* 1999, 39, 303-314.

Campos-Vaquero, B. Síntesis y Caracterización de los Sistemas Eu_2O_3 y Gd_2O_3 por Molienda Mecánica. Proyecto de fin de Carrera. Universidad Carlos III de Madrid. 2011.

Carmona-Garcia Roselis, Sanchez-Rivera Mirna M., Mendez-Montalvo Guadalupe, Garza-Montoya Bellanira, Bello-Perez Luis A. Effect of the Cross-Linked Reagent Type on Some Morphological, Physicochemical and Functional Characteristics of Banana Starch (*Musa paradisiaca*). *Carbohydrate Polymers.* 2009, 76, 117-122.

Chakraborty S., Sahoo B., Teraoka I., y Gross A. Solution Properties of Starch Nanoparticles in Water and DMSO as Studied by Dynamic Light Scattering. *Carbohydrate Polymers.* 2005, 60,475-481.

Chen, W., Yu, H., Liu, Y., Hai, Y., Zhang, M., y Chen, P. Isolation and Characterization of Cellulose Nanofibers from Four Plant Cellulose Fibers Using a Chemical-Ultrasonic Process. *Cellulose.* 2011, 18, 433-442.

Chin, S. X., Chia, C. H., Zakaria, S., Fang, Z. y Ahmad, S. Ball-Milling Pretreatment and Diluted Acid Hydrolysis of Oil Palm Empty Fruit Bunch (EFB) Fibers for the Production of Levulinic Acid. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers.* 2015, 52, 85-92.

Chivrac Frédéric, Pillet Eric, Schmutz Marc, y Averous Luc. New Approach to Elaborate Exfoliated Starch-Based Nanobiocomposites. *Biomacromolecules*. 2008, 9, 896-900.

Cuenca-Alvarez, R. Contribucion a la Elaboracion de Depositos Compósitos por Proyeccion Plasma de Arco de Polvos Elaborados por Mecanofuncion. Tesis de doctorado. Universidad de Limoges, Francia. 2003.

Cuq, B., Gontard, N. y Guilbert, S. Proteins as Agricultural Polymers for Packaging Production. *Cereal Chemistry*. 1998, 75. 1-9.

Cuq, B., Gontard, N., Cuq, J. L., y Guilbert, S. Select Functional Properties of Fish Myofibrillar Protein-Based Films as Effected by Hydrophilic Plasticizer. *Journal of Agricultural and food Chemistry*. 1997, 45. 622-626.

Diop C. I. K., Li H. L., Cheng P. y Xie B. J. Properties of Maize Starcha Modified by Ball-Milling in Etanol MédiuM and Low Field NMR Determination of the Water Molecular Mobility in their Gels. *Jornal of Cereal Science*. 2012, 56, 321-331.

Dufresne, A., y Cavailié, J. Y. Clustering and Percolation Effects in Microcrystalline Starch-Reinforced Thermoplastic. *Polymer Science. Part. B: Polymer Physics*. 1998, 36, 2211-2224.

Edil, C. Obtencion de Materiales Compuestos de Matriz de Aluminio Reforzados con Intermedios Via Pulvimetalurgica y Optimizacion de la Aleacion Base y los Intermetalicos Obtenidos por la Aleacion Mecanica. Tesis de Maestría. ETSIM. UPM. 1998.

Edwards M. A., Osborne, B. G y Henry R. J. Effect of Endosperm Starch Granule Size Distribution on Milling Yield in Hard Wheat. *Journal of Cereal Science*. 2008, 48, 180-192.

El Halal S. L. M., Colussi R., Deon V. G., Pinto V. Z., Villanova A., Carreño V. L. V., Dias A. R. G. y Zavareze E. R. Films Based don Oxidized Starch from Barley. *Carbohydrate Polymers*. 2015, 133, 644-653.

Fabra, M. J., Lopez-Rubio, A., Ambrosio-Martín, J. and Lagaron, J. M. Improving the Barrier Properties of Thermoplastics Corn Starch-Based Films Containing Bacterial Cellulose Nanowhiskers by Means of PHA Electrospun Coatings of Interest in Food Packaging. *Food Hydrocolloids*. 2016, 61, 261-268.

Flores-Gorosquera E., García-Suárez F. J., Flores-Huicochea E., Nuñez-Santiago, M. C., González-Soto, R. A. and Bello-Pérez, L. A. Rendimiento del Proceso de Extracción de Almidón a Partir de Frutos de Platano (*Musa paradisiaca*). Estudio en Planta Piloto. *Acta Científica Venezolana*. 2004, 55, 86-90.

Frone, A. N., Nicolae, C. A., Gabor, R. A. y Panaitescu, D. M. Thermal Properties of Water-Resistant Starch-Polyvinyl Alcohol Films Modified with Cellulose Nanofibers. *Polymer Degradation and Stability*. 2015, 121, 385-397.

Gallant D. J., Bouchet B., Baldwin P. M. Microscopy of Starch: Evidence of a New Level of Granule Organization. *Carbohydrate Polymer*. 1997, 32, 177-191.

Gallant, D. J. y Bouchet, B. Extensive Degradation of Native Starch Granules by Alpha-Amylase from *Aspergillus fumigatus* *Food Microstructure*. 1986, 5:141-155.

Gañán, P., Zuluaga, R., Cruz, J., Vélez, J. M., Retegi, A., Mondragón, I. Elucidation of the Fibrous Structure of Musaceae Maturate Rachis. *Cellulose*. 2008, 15, 131-139.

García-Ramón Jair A. Tesis de licenciatura. Obtención de Nanopartículas de Celulosa (Nanowhiskers de Celulosa) a Partir del Raquis de Plátano Macho: Caracterización Morfológica, Estructural y Térmica. Universidad del Papaloapan. 2015, 48-49.

García-Tejeda, Y. V., Zamudio-Flores, P. B., Bello-Pérez, L. A., Romero-Bastida, C. A., Solorza-Feria, J. Oxidación del Almidón Nativo de Plátano para su uso Potencial en la Fabricación de Materiales de Empaques Biodegradables:

Caracterización Física, Química, Térmica y Morfológica. *Revista Iberoamericana de polimeros*. 2011,12, 125-135.

Gatenholm, P., Mahiasson, A. Bacterial Nanocellulose as Renewable Material for Biomedical Applications. *Journal of Applied Polymer Science*. 1994, 51, 1231.

Gilman P. S. y Benjamin J. S., (1983). Mechanical Property Control of Mechanically Alloyed Aluminum. *Rev. Materials*. 1983, 13, 279.

Goheen, S. M. y Wool, R. P. Degradation of Polyethylene-Starch Blends in Soil. *Journal of Applied Polymer Science*. 1991, 42, 2691-271.

Guerra-DellaValle D., Bello-Perez L. A., Gonzales-Soto R. A., Solorza-Feria J. y Arambula-Villa G. Effect of Reaction Time on the Acetylation of Plantain Starch. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 2008, 7, 3, 283-291.

Gülseren I., Güzey D., Bruce B. D. y Weiss J. Structural and Functional Changes in Ultrasonicated Bovine Serum Albumin Solutions. *Ultrason Sonochem*. 2007, 14, 173–183.

Habashi, F. Alloys. Preparation, properties, Applications. Ed. Wiley-VCH. 1998.

Habibi Y., Mahrouz M. y Vignon M. R. Microfibrillated Cellulose from Thepeel of Prickly Pear Fruits. *Food Chemistry*. 2010, 115, 423-429.

Han, Xian-Zhong, Campanella, O. H., Nadege, C. M. y Hamaker, B. Consequence of Starch Damage on Rheological Properties of Maize Starch Pastes. *Cereal Chem*. 2002, 79, 6, 897-901.

Hansen N. M. L., y Plackett, D. Sustainable Films and Coatings from Hemicellulose: A Review. *Biomacromolecules*. 2008, 9, 6, 1493-1505.

He, S., Qin, Y., Walid, E., Li, L., Cui, J. y Ma, Y. Effect of Ball-Milling on the Physicochemical Properties of Maize Starch. *Biotechnology Reports*. 2014, 3, 54-59.

Henriksson M., Berglund L. A., Isaksson P., Lindström T. y Nishino T. Cellulose Nanopaper Structures of High Toughness. *Biomacromolecules*. 2007, 9, 1579-1585.

Hernandez, L., Quintana, M. y Morris, H. Obtención de Glicerol a Partir de la Microalga *Dunaliella salina*. *Revista Cubana de Farmacia*. 2000. 34. 134-137.

Herrick, F. W., Casebier, R. L., Hamilton, J. K., Sandberg, K. R. Microfibrillated Cellulose: Morphology and Accessibility. *Journal of Applied Polymer Science: Applied Polymer Symposium*. 1983, 37, 797.

Hoover, R. "Starch-Lipid interactions. En "Polysaccharide Associations Structures in Food". Ed. R. H. Walter, Marcel Dekker. Inc. New York. 1998, 126.

Huang Z: Q., Xie X. L., Chen Y., Lu J. P. y Tong Z. F. Ball-milling Treatment Effect on Physicochemical Properties and Features for Cassava and Maize Starches. *C. R. Chimie*. 2008, 11, 73-79.

Hulleman, S. H. D., Van Hazendonk, J. M., Van Dam, J. E. G. Determination of Crystallinity in Native Cellulose from Higher Plants with Diffuse Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Carbohydrate Research*. 1994, 261, 163.

Iwamoto S., Nakagaito A. N. y Yano H. Nano-fibrillation of Pulp Fibers for the Processing of Transparent Nanocomposites. *Applied Physics A*. 2007, 89, 461-466.

Katz F. R., Furcsik S. L., Tenburge F. L., Hamer R. J., y Friedaman R. B. Behavior of Starches Derived from Varieties of Maize Containing Different Genetic Mutations: Effect of Starch Type on Granular Morphology. *Carbohydrate Polymer*. 1993, 21, 133-136.

Kim, Y. J., Haegiwara, T, Yamaji, I. y Takai, R. Enthalpy Relaxion and Glass to Rubber Transition of Amorphous Patato Starch Formed by Ball-Milling. *Carbohydrate Polymers*. 2001, 46, 1-6.

Le Corre Déborah, Angellier-Coussy Héléne. Preparation an application of starch nanoparticles for nanocomposites: A review. *Reactive and Functional Polymers*. 2014, 85, 97-120.

Leblanc, N., Saiah, R., Beucher, E., Gattin, R, M. Castandet, M. y Saiter, J.-M. Structural Investigation and Thermal Stability of New Extruded Wheat Flour Based Polymeric Materials. *Carbohydrate Polymer*. 2008, 73, 548-557.

Liberman, E. R., y Gilbert, S. G. Gas Permeation of Collagen Film as Effected by Cross Linkage Moisture and Plasticizer Content. *Journal of Polymer Science*. 1973, 41, 33-43.

Liu Q. Understanding Starches and their Role in Foods. In: Food carbohydrates: chemistry, physical properties, and applications, Cui, S., W. (Ed) Taylor & Francis, Inc. Chapter 7, 2005, 314-323.

Liu, T. Y., Ma, Y., Shi, J. y Xue, S. The effect of ball milling treatment on structure and porosity of maize starch granule. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2011, 12, 586-593.

MacAllister, R. V. Nutritive sweeteners made from starch. In: Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry. S. Tip son, and D. Horton (Eds.) Academic Press, Inc. New York. U.S.A. 1979, 36, 15-56.

Mali, S., Grossmann, M., García, M., Martino, M., y Zaritzky, N., E. Microstructural Characterization of Yam Starch Films. *Carbohydrate Polymers*. 2004, 50, 379-386.

Manners, D. J. Recent development in our understanding of amylopectin structure. *Carbohydrate Polymer*. 1989, 11, 87-112.

Martins, D. F., Souza, A. B., Henrique, M. A., Silvério, H. A., Neto, W. P. F., y Pasquini, D. The influence of the cellulose hydrolysis process on the structure of cellulose nanocrystals extracted from capim mombaca (*Panicum maximum*). *Industrial Crops and Products*. 2014, 46, 7858-7864.

Mason T. J. y Lorimer J. P., Applied Sonochemistry: the Uses of Power Ultrasound in Chemistry and Processing. Betz-Druck, Darmstadt. 2002, 3–4.

Mason, T. J. 1998. Powder ultrasound in food processing-The way forward. In M. J. W. Povey and T. J. Mason (Editors), Ultrasound in food processing. 105-126. London, U. K: Thomson Science.

Maya, J. J., y Sabu, T. Biofibres and Biocomposites. *Carbohydrate Polymer*. 2008, 71, 343-364.

McHugh, T., y Krotcha, J. Sorbitol-vs glicerol-plasticized whey protein edible films: Integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1994, 42, 841-845.

Mello, E. H. S. L., Colussi, Deon, G. V., Pinto, V. V., Villanova, F. A., Carreño, N. L. V., Dias, A. R. G., Zavareze E. R. Films Based on Oxidized Starch and Cellulose from Barley. *Carbohydrate Polymers*. 2015, 133, 644-653.

Morrison, W. R., Tester, R. F. y Gidley. Properties of Damaged Starch Granules. II. Crystallinity, Molecular Order and Gelatinization of Ball Milled Starches. *Journal Cereal Science*. 1994, 19, 209-217.

Müller, C. M. O., Laurindo, J. B. y Yamashita, F. Effect of cellulose fibers addition on the mechanical properties and water vapor barrier of starch-based film. *Food Hydrocolloids*. 2009, 23, 1328-1333.

Newman, R. H., Hemmingson, J. A. *Holzforschung*. Determination of the Degree of Cellulose Crystallinity in Wood by Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Cellulose*. 1990, 44, 351.

Parker, R. y Ring, S. G. Aspects of the Physical Chemistry of Starch: Mini Review. *Jurnal of Cereal Science*. 2001, 34, 1-17.

Pérez S., Baldwin P. M., Gallant D. J. Structural Features of Starch Granules I. Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales (affiliated with the Université Joseph Fourier Grenoble), CNRS, Grenoble, France. 2009, 5.151.

Perez, S., y A. Imberty. Structural Features of starch. *Carbohydrate in Europe*. 2000, 17-21.

Romero-Bastida C.A., Bello-Perez L.A., Garcia M.A., Martino M.N., Solorza-Feria J. y Zaritzky N.E. Physicochemical and microstructural characterization of films prepared by thermal and cold gelatinization from non-conventional sources of starches. *Carbohydrate Polymers*. 2005, 60, 235-244.

Rondeau-Mouro, C., Bouchet, B., Pontoire, B., Robert, P., Mazoyer, J., Buleón, A. Structural Features and Potential Texturising Properties of Lemon and Maize Cellulose Microfibrils. *Carbohydrate Polymers*. 2003, 53, 241.

Schwanninger, M., Rodrigues, J. C., Pereira, H. y Hinterstoisser, B. Effects of short-time vibratory ball milling on the shape of FT-IR spectra of wood and cellulose. *Vibrational Spectroscopy*. 2004, 36, 23-40.

Siqueira, G., Bras, J., y Dufresne, A. cellulosic bionanocomposites: A review of preparation, properties and applications. *Polymer*. 2010a, 2, 728-765.

Siqueira, G., Fraschini, C., Bras, J., Dufesne, A., Proud´homme, R., y Laborie, M. P. Impact of the nature and a shape of cellulosic nanoparticles on the isothermal crystallization kinetics of poly (ϵ -caprolactone). *European Polymer Journal*. 2011, 47, 2216-2660.

Soni, P. R. Mechanical Alloying: Fundamentals and Applications. Cambridge international science publishing. Ed. Press Ltd. Stevenage. England. 2001, 6-24.

Sun, R. C., Sung, X. F., Liu, G. Q., Fowler, P., y Tomkinson, J. Structural and physicochemical characterization of hemicelluloses isolated by alkaline peroxide from barley Straw. *Polymer international*. 2002, 51, 117-124.

Suryanarayana, C. Mechanical Alloying and Milling. *Progress in materials science*. 2001, 46, 1-2, 1-184.

Tan, X., Zhang, B., Chen, L., Li, W. y Xie, F. Effect of planetary Ball-milling on multi-scale structures and pasting properties of waxy and high-amylose

cornstarches. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2015, 30, 198-207.

Teixeira, E. M., Bondancia, T. J., Teodoro, K. B. R., Correa, A. C., Marconcini, J. M. y Mattoso. Sugarcane Bagasse Whiskers: Extraction and Characterizations. *Industrial Crops and Products*. 2011, 33, 63-66.

Tester, R. F., Karkalas, J. y Qi, X. Starch-Composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*. 2004, 39, 151-165.

Thomas D. J. y Atwell W. A. Starches. Eagan Press Handbook Series. New York. 1999, 1- 94.

Tiwari, B. K., y Mason, T. J. Ultrasound Processing of Fluids Foods. Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods. 2012. Chapter 6. Elsevier. 135-165. ISBN: 978-0-12-381470-0.

Turbak, A. F., Snyder, F. W., Sandenberg, K. R. Microfibrillated cellulose, a new cellulose product: properties, uses, and commercial potential. *Journal of Applied Polymer Science: Applied Polymer Symposium*. 1983, 37, 813.

Van de Vyver S., Geboers J., Jacobs P. A. y Sels B. F. recent Advances in the Catalytic Conversion of Cellulose. *ChemCatChem*. 2011, 3, 82-94.

Vergara-Mendez B. Z. Tesis de licenciatura. Efecto de la modificación química dual del almidón de plátano (*Musa paradisiaca* L.) sobre las propiedades térmicas, morfológicas y estructurales. Universidad del Papaloapan, Tuxtepec, Oaxaca, Mexico. 2012.

Vollmer, A. C., Kwakye, S., et al., 1998. Bacterial stress responses to 1-megahertz pulsed ultrasound in the presence of microbubbles. *Applications Environmental Microbiology*. 1998, 64, 3927-3931.

Wesslén K. B., y Wesslén B. Synthesis of amphiphilic amylose and starch derivatives. *Carbohydrate Polymers*. 2002, 47, 303-311.

Whistler, R. L., y BeMiller, J. N. Carbohydrate Chemistry for Food Scientists. Eagan Press. Minnessota. 1997.

Wollerdorfer, M., Bader, H. influence of natural fibres on the mechanical properties of biodegradable polymers. *Industrial Crops and Products*. 1998, 8, 105.

Yu, Y. y Wu, H. Effect of Ball Milling on the Hydrolysis of Microcrystalline Cellulose in Hot-Compressed Water. *Environmental and Energy Engineering*. 2011, 57, 3, 793-800.

Zamudio-Flores P. B., Vargas-Torres A., Perez-Gonzalez J., Bosquez Molina E., Bello-Perez L. A. Films prepared with oxidized banana starch: mechanical and barrier properties. *Starch/Stärke* 2006; 58, 274–82.

Zamudio-Flores, P. B., Vargas-Torres, A., Salgado-Delgado, R. y Bello-Pérez, L. A. Caracterización parcial química y física de almidones doblemente modificados de paltano para su aplicación en películas degradables. *IX Congreso de ciencia de los alimentos y V foro de ciencia y tecnología de alimentos*. 2007, 16-23.

Zhang, P., whistler, R. L., BeMiller, J. N., y Hamaker, B. R. Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility a Review. *Carbohydrate Polymer*. 2005, 59, 443-458.

Zhao Haibo, Kwak Ja Hun, Wang Yong, Franz James A., White John M., y Holladay Johnathan E. Effects of Crystallinity on Dilute Acid Hydrolysis of Cellulose by Cellulose Ball-Milling Study. *Energy and Fuels*. 2006, 20, 807-811.

Zobel, H. F. Molecules to granules: a comprehensive starch review. *Starch/Stärke*. 1988, 40, 1-7.

Zuluaga, R., Putaux, J. L., Cruz J., Vélez, J., Mondragón, I., Gañán, P. Cellulose microfibrils from banana rachis: Effect of alkaline treatments on structural and morphological features. *Carbohydrates Polymers*. 2009, 76, 51-59.

Participaciones en congresos, Estancias y Cursos

- Participación en el XXXVI Encuentro Nacional de la Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química, A. C., “Retos con de la Ingeniería en la Globalización”. Ponencia oral con el tema: “obtención de nanopartículas de celulosa a partir de plátano macho (*Musa paradisiaca* L.)”. Celebrado del 5 al 8 de mayo de 2015.
- Participación en la reunión de la Sociedad Mexicana de Cristalografía. Presentación en cartel denominada: “Caracterización de nanopartículas de celulosa obtenidas a partir de raquis de plátano macho (*Musa paradisiaca* L.)”. Llevada a cabo del 8 al 15 de noviembre de 2015.
- Participación en el VII Congreso Nacional de Ciencia e Ingeniería en Materiales. Ponencia en cartel titulada: “Degradación de raquis de plátano macho (*Musa paradisiaca* L.)”. Llevado a cabo del 2 al 4 de marzo de 2016.
- Participación en el XXXVII encuentro Nacional de la Academia de Investigación y Docencia en Ingeniería Química A: C., “Retos tecnológicos y tendencias en la Ingeniería Química”. Ponencia en cartel titulado “Estudio del Efecto de la Molienda Mecánica en la Extracción de celulosa de Fibras de Raquis de plátano macho (*Musa paradisiaca* L.)”. Celebrado del 3 al 6 de mayo de 2016.
- Estancia de investigación en el Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT). Con la finalidad de caracterizar muestras de almidón, celulosa y películas de almidón-celulosa mediante MEB y DRX. Del 9 de mayo al 9 de junio de 2016.
- Participación en el “Curso Básico de Análisis de Datos por Espectroscopia de Electrones Fotoemitidos (XPS)”. Impartido por el LINAN a través del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica. Llevado a cabo del 19 al 20 de mayo de 2016.
- Participación en la IV reunión de materiales, nanotecnología y ciencias aplicadas. Ponencia en cartel titulado: “Uso de la molienda mecánica como pretratamiento en la obtención de nanopartículas de celulosa a partir de fibras

de raquis de plátano macho (*Musa paradisiaca* L.)". Llevado a cabo del 30 de junio a 1 de julio de 2016.

- Participación como asistente en el "I Encuentro de la sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería Delegación Oaxaca". Llevado a cabo del 7 al 8 de julio de 2016.
- Estancia de investigación en el Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA). Con la finalidad de aprender a realizar pruebas microbiológicas a películas de almidón. Del 26 de septiembre la 7 de octubre de 2016.