Caracterización fisicoquímica y microestructural de biopelículas a base de almidón nativo de "*Oxalis tuberosa*".

F.E. González-Jiménez[1], A. Velazquez-Parra[1], M. de J. Perea-Flores[2], G. Vivar –Vera[1], J. Jiménez-Guzmán[1].
[1]Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Veracruzana, Prolongación de Oriente 6, N°1009 Col. Rafael Alvarado C.P. 94340 Orizaba Veracruz. [2]Centro de Nanociencias y Micro y Nanotecnologías, IPN. Luis Enrique Erro s/n, Zacatenco, Ciudad de México, C.P. 07738.
Área de participación: Ingeniería Química

Resumen

Oxalis tuberosa ha sido reportada como una fuente no convencional para la extracción de almidón, dicho biopolímero es una opción para la obtención de películas biodegradables. En el presente trabajo se obtuvo y caracterizó una biopelícula de almidón de *Oxalis tuberosa* (BAOT). BAOT presentó una humedad de 11.95 % y una a_w de 0.35. La apariencia de BAOT fue brillosa y traslúcida. Presentó una elasticidad con fuerza de ruptura de 8.18 N a una distancia de 12.38 mm, la permeabilidad al vapor de agua fue de 0.0116 gmm/m^2sPa. Las micrografías (SEM) mostraron que BAOT presenta menor rugosidad en comparación con biopelículas de almidón de maíz (BACM) (control) corroborándose dicha información mediante microscopia de fuerza atómica con valores menores (Rq 44.5 nm, Ra 35.1 nm) respecto a BACM (Rq 164 nm, Ra 133nm). Lo anterior convierte el almidón de *Oxalis tuberosa* en una opción viable para la elaboración de biopelículas.

***Palabras clave**: biopelículas, rugosidad, permeabilidad.*

Abstract

Oxalis tuberosa has been reported as an unconventional source of starch extraction, this biopolymer is an option for obtaining biodegradable films. In the present work, an oxalis tuberosa starch biofilm (BAOT) was obtained and characterized. BAOT presented a humidity of 11.95% and an a_w of 0.35. BAOT's appearance was bright and translucent. It presented elasticity with breaking strength of 8.18 N with a distance of 12.38 mm, the water vapor permeability was 0.0116 gmm/m^2sPa. The micrographs (SEM) showed that BAOT presented less roughness compared to corn starch biofilms (BACM) (control), confirming this information by atomic force microscopy with lower values (Rq 44.5 nm, Ra 35.1 nm) respect to BACM (Rq 164 nm, Ra 133nm). The above makes Oxalis tuberosa starch a viable option for the production of biofilms

***Key words**: Biodegradable, roughness, permeability.*

Introducción

En la elaboración de materiales de recubrimiento, el polietileno es utilizado para obtener películas de empaque para alimentos, los cuales resultan poco benéficos para el medio ambiente [Enríquez y col., 2012). Por ello, surge la necesidad de buscar nuevas fuentes naturales no convencionales y sustituir dicho material en la elaboración de películas biodegradables para la conservación de alimentos, que sean más amigables con el medio ambiente [Vázquez-Briones y Guerrero-Beltrán, 2013], que sean de fuentes no convencionales, como el almidón de O*xalis tuberosa* que presenta un rendimiento en su extracción del 61.1 % en base seca [Núñez-Bretón y col., 2019]. Al formular películas usando sólo almidón, estas podrían tener propiedades mecánicas pobres, alta permeabilidad al vapor de agua, tendencia a la retrogradación, alta rigidez, quebradizas, entre otros [Enríquez y col., 2012); sin embargo, estos problemas pueden resolverse con la adición de plastificantes (glicerol, sorbitol y el quitosano), que proveen propiedades de barrera y antimicrobianas [Sánchez y col., 2012]. Los plastificantes, aumentan la flexibilidad de las películas, debido a su capacidad para reducir los enlaces de hidrógeno intracadenas de los polímeros, mientras aumentan el espacio molecular [Zamudio-Flores y col., 2007]. Los polímeros biodegradables más empleados son los almidones obtenidos de maíz, papa, trigo, sorgo o yuca, los cuales presentan la capacidad de gelificar para la formación de películas. El polímero puede manejarse tanto en su estado nativo o modificado. La amilosa y la amilopectina, forman parte de la estructura principal de

rec 06/ago/2019, acc. 13/sep /2019

los almidones y se ha reportado, que entre mayor sea el contenido de amilopectina, mayor será la cristalinidad de las películas [Enríquez y col., 2012]. Para evaluar la calidad, la funcionalidad y las propiedades de las biopelículas, existen diversos parámetros de medición directa [Quintero y col., 2010]. Entre las mediciones más importantes, destacan la permeabilidad al vapor de agua y a diferentes gases, la solubilidad de la película, propiedades mecánicas, color y opacidad, mediciones reológicas, la humectabilidad de la superficie, estudios de morfología y microestructura entre otros [Arzate, 2011]. El presente estudio, tiene como objetivo principal, elaborar y caracterizar una película biodegradable a partir de un polímero obtenido de una fuente vegetal no convencional, como lo es el almidón de papa extranjera *(Oxalis tuberosa*), debido a que es una fuente viable para la extracción de almidón, por su alto rendimiento y su bajo costo, ya que no existen suficientes estudios relacionados con su aplicación en la producción de biopelículas.

Metodología

Materiales

Para la elaboración de biopelículas, se empleó almidón nativo del tubérculo conocido como papa extranjera (*Oxalis tuberosa*), el cual fue cosechado en la localidad de Xometla, Municipio de la Perla, estado de Veracruz (18°56´ latitud norte y una longitud oeste de 97°08’ y a una altura de 2760 msnm). Como control se utilizó almidón comercial de maíz.

Extracción de almidón

El método empleado para la extracción de almidón fue establecido por Barrera [2004]. Los tubérculos se lavaron para eliminar la tierra u otro contaminante, posteriormente se cortaron en pequeños fragmentos de aproximadamente 1.5 cm para liberar los gránulos de almidón y homogenizar con agua destilada, con la ayuda de una licuadora industrial (sanitary LS12VP) durante 10 min; posteriormente se filtró el tubérculo molido, el filtrado se dejó reposar durante 3 h, para obtener un sedimento, el cual contenía el almidón. El sobrenadante fue descartado, finalmente el almidón se secó en una estufa de secado (NOVATECH) durante 24 h a 40 °C.

Preparación de biopelículas

La elaboración de biopelículas se realizó por el método casting [Escamilla-García y col., 2013], para lo cual se realizaron dispersiones de almidón de *Oxalis tuberosa* (3 % p/v) y glicerol como plastificante (40 % p/p). Como control se utilizaron películas obtenidas con almidón comercial de maíz en la misma concentración. La homogenización de la dispersión se efectuó a 85 °C durante 20 min con agitación constante. De la dispersión preparada se colocaron 25 g sobre una caja petri (9 cm de diámetro). Por último, fueron secadas en una estufa de secado (NOVATECH) durante 24 h a 45 °C para su posterior análisis.

Caracterización de las biopelículas

Humedad y actividad de agua (a_w)

El contenido de humedad se determinó por la Norma Mexicana NMX-F-428-1982. Para cuantificar el contenido de humedad de las biopelículas, se utilizó una estufa de secado a una temperatura de 105 °C. El porcentaje de humedad se calculó mediante Eq. 1. Mientras que, para la evaluación de actividad de agua, se utilizó un higrómetro Lab Swift-aw, novasina).

$$\%\ Contenido\ de\ humedad = \frac{(W_1 - W_2)}{W_1}\ x\ 100 \qquad (1)$$

Dónde
W_1: Peso inicial de la muestra húmeda, W_2 : Peso final de la muestra seca.

Permeabilidad al vapor de agua

Para determinar la permeabilidad al vapor de agua, se utilizó el método gravimétrico estándar de la ASTM E96-80. Se recortaron circunferencias de 3 cm de diámetro de cada biopelícula, las cuales se colocaron y se fijaron en la superficie de cada celda de permeación, que contenían 10 gr de $CaCl_2$ como agente desecante. Cada sistema completo de permeación se pesó, registrando el peso como la lectura a tiempo cero. Posteriormente las

celdas fueron colocadas en un desecador que contenía 300 mL de una disolución saturada de NaBr, lo cual proporcionó una humedad relativa del 58%. El desecador fue cerrado por completo. El cambio de peso de las celdas se registró cada 24 h utilizando una balanza analítica con precisión de 0.0001g, hasta el momento en que se observó un cambio en el peso en dos determinaciones consecutivas, esto es, cuando se alcanzó el equilibrio. Con los datos obtenidos se realizaron tres cálculos (Eq. 2-4), midiendo la tasa de transición de vapor de agua ($WVTRm$):

$$WVTRm = \Delta w/(\Delta t\ x\ A) = g/(m^2 s) \quad (2)$$

Dónde

Δw: cambio de peso (g) de la celda de permeación, Δt: tiempo (s); A: área constante (m^2)

$$Permeación = WVTRm/(P_{A1} - P_{A2}) = g/(m^2 sPa) \quad (3)$$

$$Permeabilidad = Permeación\ x\ Espesor = gmm/(m^2 sPa) \quad (4)$$

Color

La determinación de color se realizó siguiendo la metodología descrita por Rhim, y col, [2000]. Para ello se empleó un colorímetro (Minolta CR-400) y los parámetros colorimétricos se obtuvieron de acuerdo al sistema CIE-Lab. Para medir la diferencia de color, se calculó con la Eq. 5.

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (5)$$

Dónde

ΔE^*: Diferencia del color, $\Delta L^*, \Delta a^*, \Delta b^*$: Diferencias absolutas de los valores de L*, a*, b*, de las placas de referencia y los valores correspondientes determinados en la muestra.

Textura

La determinación de textura se realizó siguiendo la metodología descrita por Souza y col., [2012] y por Ahumada (2016). Para ello se empleó un texturómetro Brookfield (CT-3 Texture Analyzer), conectado a un ordenador y el software TexturePro CT V1.6 Build 26. Para las mediciones, se colocaron biopelículas de 25 mm de ancho x 60 mm de largo, las cuales se sujetaron a una distancia inicial de 40 mm, la velocidad del cabezal, fue de 0.50 mm/s, empleando una celda de carga de 50 N. Una vez realizado el ensayo de tracción se obtuvo un gráfico de esfuerzo vs distancia.

Indentación instrumental

La técnica de indentación instrumental es una herramienta que fue utilizada para evaluar la profundidad de penetración de las muestras aplicando una carga, de tal forma que permitió calcular la dureza y el módulo elástico directamente de la curva de fuerza-desplazamiento resultante. Para evaluar la dureza instrumental (Mpa) y módulo elástico (Gpa), la muestra fue colocada en un porta objetos, en un microscopio con un indentador de punta de diamante. Las muestras fueron analizadas con una tasa de adquisición de 10 Hz, carga máxima de 5 mN, tasa de carga de 15 mNn/min, tasa de descarga de 15 mN/min y una pausa de 10 s.

Microscopia de fuerza atómica (AFM)

La microscopia de fuerza atómica (AFM) se utilizó para obtener imágenes topográficas de alta resolución en tiempo real (imágenes 3D). La AFM también permitió obtener los parámetros de rugosidad expresados como Ra (rugosidad promedio aritmética) y Rq (rugosidad promedio cuadrática). Para el análisis de AFM, las muestras fueron escaneadas usando el modo “tapping” o intermitente a una velocidad de escaneo de 1 Hz y el tamaño de imagen fue de 100 µm2 (10 µm x 10 µm). Se obtuvieron imágenes topográficas con la ayuda del programa NanoScope v7.30 (Veeco, USA).

Microscopia electrónica de barrido (SEM)

Para el análisis morfológico de las biopelículas, se llevó a cabo mediante un microscopio electrónico de barrido, lo cual permitió determinar la morfología de las biopelículas y la caracterización de su superficie con una alta resolución. La SEM se llevó a cabo mediante un microscopio electrónico de barrido JSM-780F (JEOL, Field

Emission Scanning Electron Microscope). El análisis se realizó a 2.00 kV, sin revolvimiento con electrones secundarios y el detector de la cámara de análisis.

Análisis estadístico

Para todas las pruebas se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza del 95 %, con comparación de medias de Tukey, empleando el software estadístico Minitab.v16.2.3.0.

Resultados y discusión

Humedad y actividad de agua (a_w)

La biopelícula de almidón de *Oxalis tuberosa* (BAOT) presentó mayor contenido de humedad (11.95%) con respecto a la biopelícula de almidón de maíz (BACM) (10.43%), lo cual indica que el almidón de "*Oxalis tuberosa"* tiene mayor capacidad de retención de agua (Tabla 1), lo que contribuye al efecto plastificante de la biopelícula BAOT, inhibiendo la interacción entre las cadenas del polímero por medio de enlaces de hidrógeno [Zamudio, 2005], lo que permite que la biopelícula tenga una mayor elasticidad y resistencia a la deformación. González-Soto y col., [2016], reportaron en películas de almidón de papa (*Solanum tuberosum*) reforzadas con hidroxisilicato de magnesio y aluminio una humedad del 20%. Mientras que Zamudio-Flores y col. [2015], en películas de almidones de avena y de plátano oxidados, adicionadas con betalaínas, obtuvieron una humedad de 19.74 a 42.46%, así como que Galus y Kadzińska, [2016], reportaron una humedad del 16.8 a 17.9%, las diferencias se pueden deber al porcentaje de glicerol y de los otros compuestos de bajo peso molecular, utilizados para cada caso y a su potencial para actuar como plastificantes en las películas, debido a su carácter hidrofílico [Zamudio, 2005]. Esta comparación demuestra que ambas películas (BAOT y BACM), obtenidas en el presente trabajo, tienen un menor contenido de humedad, lo cual es determinante en la conservación de las mismas.

Respecto a la actividad de agua, los valores no presentan diferencia significativa ($p \leq 0.05$) puesto que la a_w en la biopelícula BACM fue de 0.309 mientras que la biopelícula BAOT tuvo una a_w de 0.353, lo cual confirma su estabilidad en vida de anaquel.

Permeabilidad al vapor de agua (PVA)

La PVA de la película BAOT fue de 0.0116 gmm/m^2sPa, mientras que en la biopelícula BACM fue de 0.0172 gmm/m^2sPa (Tabla 1). Indicando que la disminución de PVA en BAOT se debe a una mayor interacción de las moléculas, lo cual permitió que la biopelícula actuara como una barrera contra la humedad disminuyendo su transferencia al vapor de agua. Esto es favorable debido a que se requiere que la PVA sea lo más baja posible, para que las biopelículas disminuyan la transferencia de humedad entre el producto y el medio [Domínguez-Courtney y Jiménez-Munguía, 2012].

Color

El color fue evaluado con los parámetros a* y b* (cromaticidad) y L* (luminosidad) (Tabla 1), para cada una de las biopelículas elaboradas. La luminosidad de las biopelículas, el valor L* aumenta para biopelículas BAOT acercándose más al color blanco, con un valor L* de 80.04, mientras que en la biopelícula BACM, se obtuvo un valor L* de 67.83, lo cual quiere decir que la biopelícula BAOT, es más transparente y más brillosa. Las biopelículas obtenidas en el presente estudio se encuentran en el rango de lo reportado por diferentes autores; López y col., [2018], reportó en películas activas a base de almidón de maíz, termoplástico mediante la incorporación de oligoquitosanos una L* de 87.00 ± 0.70 y Alanís-López y col., [2018], reportaron una L* de 50 a 85 en películas de almidón de plátano nativo y oxidado (Musa paradisiaca L.) entre otros.

Tabla 1. Valores de humedad, actividad de agua, color y PVA de biopelículas elaboradas a base de almidón de *Oxalis tuberosa* y almidón comercial.

Película	Humedad (%)	(a_w)	PVA (*gmm /m^2sPa*)	a*	b*	L*	ΔE
BAOT	11.95±0.0053^a	0.353±0.0025^a	0.0116±0.0003^a	3.42±0.015^a	-3.77±0.025^a	69.57±0.025^a	19.32±0.04^b
BACM	10.43±0.0025^b	0.309±0.0020^b	0.0168±0.0002^b	3.32±0.025^b	-3.21±0.040^b	66.41^b±0.02^b	18.22±0.02^a

La media que no comparte una letra es significativamente diferente ($p \leq 0.05$).

Textura

En la tabla 2 se muestra que la biopelícula BAOT, tiende a ser más elástica que la biopelícula BACM, debido a que se requiere de una fuerza de 8.18 N recorriendo una distancia de 12.38 mm, mientras que en la biopelícula BACM, se necesita una fuerza de 16.41 N y se recorrió una distancia de 9.78 mm para ocasionar su ruptura, lo que indica que es una biopelícula más dura y menos elástica. El mayor contenido de humedad de la biopelícula BAOT aportó una mayor elasticidad y flexibilidad, debido a la interacción de los componentes del almidón de *Oxalis tuberosa* que provocó que se obtuvieran estructuras menos compactas, haciéndola más manejable. Saavedra y Algecira [2010], obtuvieron una fuerza de 0.30 N en películas de almidón de yuca y en películas de proteína aislada de soya, obtuvieron una fuerza de 0.65 N, los cuales, son valores menores en comparación a los obtenidos en este trabajo, mientras que Alarcón y Arroyo [2016], reportaron una fuerza de 6.07 a 8.60 N en películas de almidón modificado de papa, valores similares a los obtenidos con la película BAOT.

Indentación instrumental

La BACM presento una dureza de 48.25 MPa, mientras que, la BAOT obtuvo una dureza de 35.26 MPa. En lo que respecta el módulo elástico, se obtuvieron valores similares entre ambas biopelículas (Tabla 2). Se ha reportado que un incremento en el contenido de amilosa, dará como resultado películas con una mayor dureza [Domínguez-Courtney y Jiménez-Munguía, 2012], lo cual explicaría porque la biopelícula BACM es más dura que la BAOT, puesto que el almidón de maíz tiene un mayor contenido de amilosa que el almidón de Oxalis tuberosa [Cortés y Salvador, 2017]. Otro estudio realizado por Escamilla-García y col., [2017], reportaron una dureza de 2.30 a 98.77 MPa y de 0.07 a 4.31 GPa de modulo elástico, en películas a base de una mezcla de quitosano y almidones modificados, por lo que BAOT presentan buenas características de elasticidad, por lo tanto, el almidón de papa extranjera es viable para la elaboración de biopelículas. A demás de que el almidon de *Oxalis tuberosa* tiene un 75 % de amilopectina y un 24.66 % de amilosa [Núñez-Bretón y col., 2019], lo que representa mayor porcentaje con lo reportado para almidón comercial de maíz (21.85 % de amilosa). Por lo que el contenido de amilosa y amilopectina presentes en el almidón de *Oxalis tuberosa* permiten que sea una fuente de biopolímero funcional para la ciencia de los alimentos y los materiales [Singh y Kaur, 2009; Pardo y col., 2013].

Tabla 2. Resultados de tensión e indentación instrumental de las biopelículas elaboradas a base de almidón.

Película	Carga (N)	Distancia (mm)	HIT (dureza instrumental) (MPa)	EIT (módulo elástico) (GPa)
BAOT	8.18±0.02[a]	12.38±0.03[a]	35.26±0.05[a]	1.6997±0.0003[a]
BACM	16.41±0.04[b]	9.78±0.02[b]	48.25±0.06[b]	1.7780±0.0020[b]

La media que no comparte una letra es significativamente diferente (p≤0.05).

Microscopia de Fuerza Atómica (AFM)

El análisis de varianza indicó que existen diferencias significativas (p≤0.05) en la rugosidad de las biopelículas, ya que los valores de Rq y Ra aumentan para la biopelícula elaborada a base de almidón comercial. De tal forma que la biopelícula BACM se obtuvo una Rq de 164.0 ± 5.29 nm y un valor Ra de 133.3 ± 5.13 nm, mientras que en la biopelícula BAOT se obtuvieron valores menores, con una Rq de 44.5 nm y 35.1 nm para Ra, lo que nos indica que la biopelícula de almidón de maíz es más rugosa. En la Figura 1 se muestran las imágenes (2D, 3D) y los histogramas de las diferentes biopelículas elaboradas, apreciándose los cambios de la rugosidad y/o textura, observándose que hay una profundidad máxima de pico de 1022.3 nm y una profundidad mínima de 972.09 nm con una distancia entre ellos de 13.2 nm en la biopelícula BACM, mientras que en la biopelícula BAOT se obtuvieron valores menores con una profundidad máxima de 270.5 nm y una profundidad mínima de 342.3 nm con una distancia entre ellos de 7.6 nm, lo cual indica que la superficie de la biopelícula de almidón comercial presenta una superficie porosa. La biopelícula de almidón de *Oxalis tuberosa* al presentar poros de menor tamaño dificultan la pérdida de humedad, lo que permite tener una biopelícula más flexible y más lisa. Villalobos y col., [2005], reportaron una rugosidad de 99 a 251 nm para Ra y 124 a 304 nm para Rq en películas de hidroxipropilmetil celulosa, Gaona-Sánchez y col., [2015], en películas de zeína, obtuvieron valores de 40 a 45 nm para Ra de 46 a 80 nm para Rq, mientras que Arzate-Vázquez y col., [2012], obtuvieron valores de 8.60 a 54.25 nm para Ra y de 11.26 a 68.37 nm para Rq, en películas de quitosano y alginato, cuyos valores concuerdan con los reportados en este trabajo.

 ISSN 2007-8102

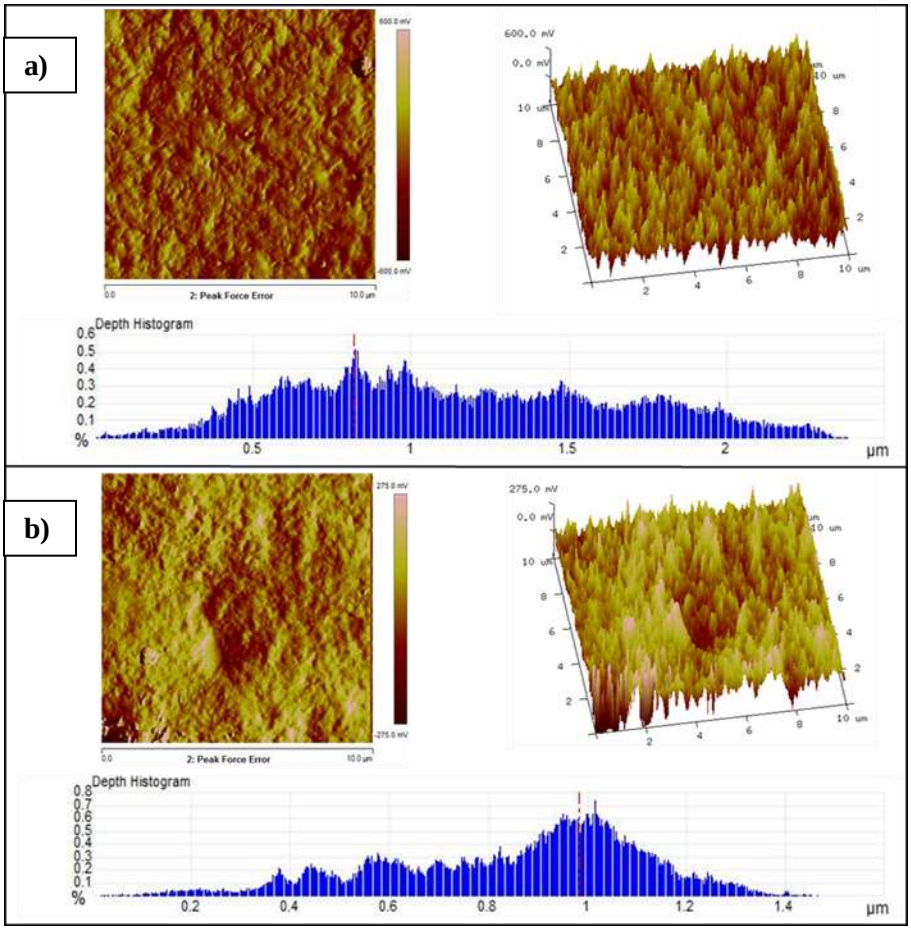


Figura 1. Biopelículas en microscopia de fuerza atómica en 2D y 3D e histogramas de profundidad. a) AP; b) AC

Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)

En la Fig. 2 se presentan las micrografías a 2000X y 5000X para las diferentes biopelículas, observándose diferencias apreciables entre ellas. La biopelícula a base de almidón comercial de maíz es más rugosa que la biopelícula elaborada con almidón de *Oxalis tuberosa*, lo cual coincide con lo observado en AFM. Los polímeros del almidón de la papa extranjera, presentaron mejor solubilidad y una adecuada incorporación del plastificante, lo que proporcionó un mayor contenido de humedad. Esto se ve reflejado en las propiedades mecánicas para BAOT, obteniendo una biopelícula de superficie más lisa, elástica y mayor luminosidad, parámetros relacionados con la rugosidad; Jaramillo y col., [2015], mencionan que cuanto menor sea la rugosidad de la superficie mayor será el brillo. Cabe mencionar que también se logran observar pequeñas hendiduras o poros en la biopelícula de almidón maíz comercial, tal como se presentó en AFM, con las diferencias entre las distancias y profundidades entre los picos (superficie porosa para BACM), lo que determinó que los valores de PVA fueran mayores para BACM.

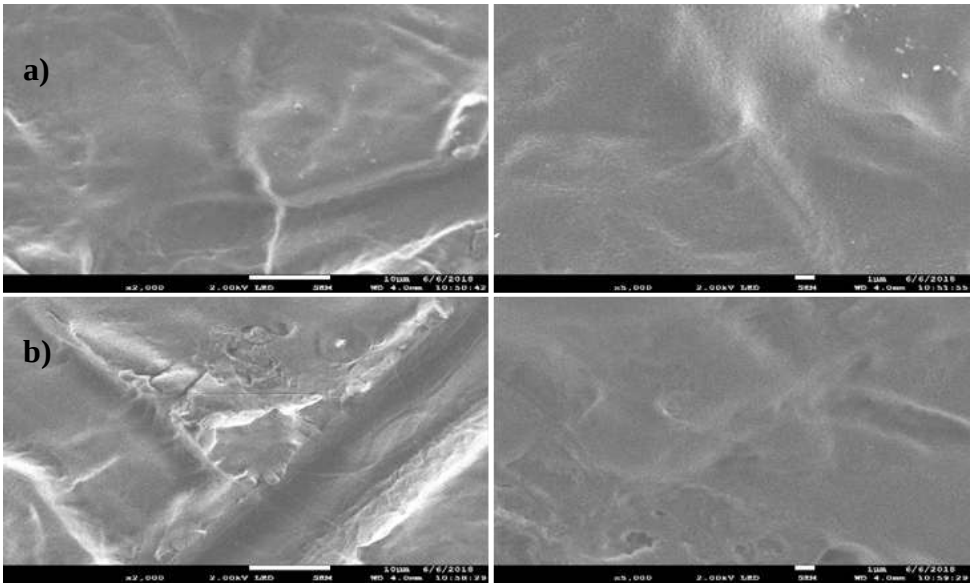


Figura 2. Imágenes de las biopelículas tomadas por microscopia electrónica de barrido a 2000X y 5000X. a) AP; b) AC.

Conclusiones

La elaboración de biopelículas a base de almidón proveniente de *Oxalis tuberosa,* mediante la técnica de vaciado en placa, presenta mejores características fisicoquímicas en comparación a una biopelícula elaborada con almidón de maíz comercial. Las biopelículas elaboradas solo con almidón de *Oxalis tuberosa*, presentan una mayor flexibilidad y elasticidad.

Las características de textura fueron favorecidas por el almidón de *Oxalis tuberosa*, obteniendo diferencias significativas en todos los parámetros. De igual manera la biopelícula BAOT presenta una superficie más lisa y uniforme, lo cual provoca una mayor transparencia y luminosidad, lo que hace viable la utilización de almidón de *Oxalis tuberosa* en la obtención de empaques biocomestibles y/o biodegradables.

Referencias

1. Ahumada, G. P., 2016. Desarrollo y caracterización de películas comestibles a base de almidón de malanga y aislado de proteína de soya con jugo de xoconostle como antioxidante, México, D.F.: Instituto Politécnico Nacional. Tesis
2. Alanís-López, P., Flores-Huicochea, E., Ruiz-Martínez, I. G. y Solorza-Feria, J., 2018. Structural And Physical Properties Of Films From Native And Modified Banana Starch With Two Plasticizers. American Journal of Engineering Research (AJER), **(7)** 131-139.
3. Alarcón, C. H. A. y Arroyo, B. E., 2016. Evaluación de las Propiedades Químicas y Mecánicas de Biopolímeros a Partir del Almidón Modificado de la Papa. Rev Soc Quím Perú.
4. Arzate-Vázquez, I. y otros, 2012. Microstructural characterization of chitosan and alginate films by microscopy techniques and texture image analysis, México D.F: Elsevier.
5. Barrera, V. H. T. C. G. y. M. A. R., 2004. Raíces y tubérculos andinos: alternativas para la conservación y uso sostenible en el Ecuador. En: I. P. Center, ed. s.l.: Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo, **(174)** 1993-2003.
6. Cortés, B. G. y Salvador, J. P. R., 2017. Extracción y caracterización fisicoquímica y funcional de almidón de papa extranjera (Oxalis tuberosa) y su aplicación como aditivo en el desarrollo de alimentos, Orizaba, Veracruz: Facultad de Ciencias Químicas-Universidad Veracruzana
7. Domínguez-Courtney, M. F. y Jiménez-Munguía, M. T., 2012. Películas comestibles formuladas con polisacáridos: propiedades y aplicaciones. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos, **(6)** 110-121.
8. Enríquez, M. C., Velasco, R. V. M. y Ortiz, V. G., 2012. Composición y procesamiento de películas biodegradables basadas en almidón. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, **(10)** 182 - 192.

9. Escamilla-García, M. y otros, 2013. Physical and structural characterisation of zein and chitosan edible films using nanotechnology tools, México D.F., México: Elsevier.
10. Escamilla-García, M. y otros, 2017. Modified Starch-Chitosan Edible Films: Physicochemical and Mechanical Characterization, s.l.: Coatings.
11. Escobar, D. y otros, 2009. Películas biodegradables y comestibles desarrolladas en base a aislado de proteínas de suero lácteo: estudio de dos métodos de elaboración y del uso de sorbato de potasio como conservador. Revista del Laboratorio Tecnológico de Uruguay, **(4)**.
12. Galus, S. y Kadzińska, J., 2016. Moisture Sensitivity, Optical, Mechanical and Structural Properties of Whey Protein-Based Edible Films Incorporated with Rapeseed Oil. Food Technol. Biotechnol, **(54)** 78–89.
13. Gaona-Sanchez, V. y otros, 2015. Preparation and characterization of zein films obtained by electrospraying, Mexico D.F., Mexico: Elsevier.
14. Jaramillo, C. M. y otros, 2015. Biofilms based on cassava starch containing extract of yerba mate as antioxidant and plasticizer, Buenos Aires, Argentina: Instituto de Tecnología en Polímeros y Nanotecnología ITPN.
15. López, O. V. y otros, 2018. Película biodegradable de almidón de maíz termoplástico y quitosano con actividad antimicrobiana empleada como envase activo. Revista Matéria, **(23)**.
16. Núñez-Breton, L.C., Cruz-Rodríguez, L.C., Tzompole-Colohua, M.L., Jiménez-Guzmán, J., Perea-Flores, M.J., Rosas-Flores, W., González-Jiménez, F.E., 2019. Physicochemical, functional and structural characterization of Mexican Oxalis tuberosa starch modified by cross‐linking. Journal of Food Measurement and Characterization, **(7)**.
17. Pardo Cuervo O.H., Castañeda Mancipe J.C., Ortiz C.A. 2013. Caracterización estructural y térmica de almidones provenientes de diferentes variedades de papa. Acta Agronómica, **(62)** 289-295.
18. Quintero, C. J., Falguera, V. y Muñoz, H. A., 2010. Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. Tumbaga, **(5)**, 93-118.
19. Rhim, J. W. y otros, 2000. Solubility, Tensile, and Color Properties of Modified Soy Protein Isolate Films. J. Agric. Food Chem., **(48)** 4937–4941.
20. Saavedra, N. H. y Algecira, N. A. E., 2010. Evaluación de películas comestibles de almidón de yuca y proteína aislada de soya en la conservación de fresas. NOVA, **(14)** 171 - 182.
21. Sánchez, A. D., Contreras-Esquivel, G., Nevárez-Moorillón & Aguilar, C., 2015. Caracterización de películas comestibles a base de extractos pécticos y aceite esencial de limón Mexicano. Journal of Food, **(13)** 17–25.
22. Sánchez, T., García, O. y Pinzón, M., 2012. Elaboración y caracterización de películas de almidón de yuca (Manihot esculenta) Variedad ica cultivada en el departamento de quindío. Vitae, **(19)** 426-429.
23. Singh J., y Kaur L. 2009. Advances in potato chemistry and techonology. Academic Press, First edition, Elsevier Inc. 92–107.
24. Souza, A. y otros, 2012. Cassava starch biodegradable films: Influence of glycerol and clay nanoparticles content on tensile and barrier properties and glass transition temperature, s.l.: Elsevier,
25. Vázquez-Briones, M. C. y Guerrero-Beltrán, J. A., 2013. Recubrimientos de frutas con biopelículas. Temas selectos de ingeniería de alimentos, **(7)** 5-14.
26. Villalobos, R. y otros, 2005. Gloss and transparency of hydroxypropyl methylcellulose films containing surfactants as affected by their microstructure, México, DF: Elsevier,
27. Zamudio-Flores, P. B. y otros, 2007. Caracterización parcial de películas preparadas con almidón oxidado de plátano. Agrociencia, **(41)** 837-844.
28. Zamudio, P. B. F., 2005. Elaboración de películas degradables de almidón de plátano: evaluación de sus propiedades mecánicas y de barrera, Yautepec, Mor.: Instituto Politécnico Nacional.