

UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
MAESTRIA EN PROCESAMIENTO DE ALIMENTOS



**Desarrollo de polímeros biodegradables a partir de almidón de
papa y yuca como material de protección para la conservación de
queso seco**

Para optar al título de

Máster en Procesamiento de Alimentos

Autor:

ING. JAVIER ANTONIO PAVON GAITÁN

Tutor:

MEng. Martha Elizabeth Benavente Silva.

Managua, agosto 25 de 2023

AGRADECIMIENTO

Al Creador Todopoderoso, única razón de la existencia, por quién todo es posible en esta vida.

A mi madre y mi padre, a través de los cuáles recibí el don de la vida.

A María Auxiliadora, que, sin conocerme, me brindó su ayuda en los momentos más turbulentos de mi vida.

A mis hijos: Guadalupe, Ángel, Ximena y Santiago.

A Kenia por soportarme y ser mi ayuda.

A la profesora Martha Benavente, por ser guía y tutor.

Y a todos aquellos que me han apoyado e impulsado en cualquier momento de mi vida.

DEDICATORIA

Al Dios Eterno en primera instancia y a mi Familia.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	1
I. INTRODUCCIÓN.....	2
II. ANTECEDENTES	3
III. JUSTIFICACIÓN	4
IV. OBJETIVOS	5
4.1 Objetivo General	5
4.2 Objetivos Específicos.....	5
V. MARCO TEÓRICO.....	6
5.1 Generalidades.....	6
5.2 Almidón	6
5.2.1 Amilosa.....	6
5.2.2 Amilopectina.....	7
5.2.3 Propiedades del Almidón.....	8
5.2.4 Fuentes de obtención.....	9
5.2.5 Usos	9
5.3 Papa.....	10
5.3.1 Composición nutricional de la papa	11
5.4 Yuca.....	11
5.4.1 Composición nutricional de la Yuca	12
5.5 Modificación del Almidón	12
5.5.1 Modificación química	13
5.5.2 Plastificantes	14
5.6 Proteínas.....	14
5.6.1 Colágeno	15

5.7	Polímeros Biodegradables	15
5.8	Parámetros de importancia	15
5.9	Microbiología.....	15
5.9.1	Aerobios Mesófilos	16
5.9.2	Coliformes	16
VI.	MATERIAL Y MÉTODO	17
6.1	Ubicación	17
6.2	Tipo de estudio	17
6.3	Materiales	17
6.4	Metodología	18
6.4.1	Extracción del almidón	18
6.4.2	Modificación Química	19
6.4.3	Obtención del polímero biodegradable.....	20
6.4.4	Estimación de parámetros de importancia	20
6.4.5	Efecto microbiológico del Polímero en un producto alimenticio.....	25
6.5	Diseño Experimental.....	26
6.5.1	Hipótesis.....	26
6.5.2	Variables y Factores.....	26
VII.	ANÁLISIS Y PRESENTACIÓN DE RESULTADOS	28
7.1	Extracción del almidón	28
7.2	Modificación y obtención del polímero biodegradable	28
7.3	Determinación de los parámetros del polímero biodegradable	31
7.4	Variables respuestas.....	33
7.4.1	Porcentaje de humedad	33
7.4.2	Grosor del polímero.....	34

7.4.3	Densidad	36
7.4.4	Opacidad	37
7.4.5	Permeabilidad al vapor de agua.....	38
7.4.6	Esfuerzo de Tensión.....	41
7.4.7	Tiempo de degradación en diferentes ambientes.....	42
7.5	Efecto microbiológico del Polímero Biodegradable en el Queso.....	44
7.5.1	Conteo de Aerobios Mesófilos.....	45
7.5.2	Detección y enumeración de Coliformes	46
VIII.	CONCLUSIONES.....	48
IX.	RECOMENDACIONES	49
X.	BIBLIOGRAFÍA.....	50
	ANEXOS	54
	Anexo A.1. Variedades de papa cultivadas en Nicaragua	55
	Anexo A.2. Variedades de la yuca cultivadas en Nicaragua.....	56
	Anexo A.3. Materiales y equipos utilizados en la extracción del almidón	57
	Anexo A.4. Materiales y equipos a utilizados para la obtención del polímero y estimación de sus parámetros de calidad.....	58
	Anexo A.5. Materiales y equipos empleados en análisis microbiológico	59
	Anexo A.6. Método ISI 25-2e: Obtención de Almidón de tubérculos.	60
	Anexo A.7. Diagrama de Flujo del proceso de extracción del almidón de papa .	63
	Anexo A.8. Diagrama de Flujo del proceso de extracción del almidón de yuca..	64
	Anexo A.9. Análisis Microbiológico	65
	Anexo A.10. Resultados de las variables respuestas	73
	Anexo A.11. NTON 33 022-99	75

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de distintos almidones	10
Tabla 2. Valor nutricional de la papa	11
Tabla 3. Variedades de yuca que se cultivan en las principales zonas de Nicaragua	12
Tabla 4. Composición nutricional de la yuca	13
Tabla 5. Factores y niveles del diseño experimental factorial	26
Tabla 6 Diseño experimental.....	27
Tabla 7. Variable de respuesta	27
Tabla 8. Resumen de los resultados experimentales del polímero.....	32
Tabla 9. Tiempos de biodegradabilidad del polímero a diferentes entornos	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de la amilosa.	7
Figura 2. Estructura de la amilopectina.	7
Figura 3. Mecanismo de reacción por oxidación del almidón con hipoclorito de sodio.	13
Figura 4. Mecanismo de reacción por acetilación del almidón con anhídrido acético.	14
Figura 5. Etapas para obtención del almidón, análisis físico del biopolímero y análisis microbiológico del producto alimenticio.	18
Figura 6. Analizador de humedad Sartorius MA150.....	21
Figura 7. Puntos de medición en la película biodegradable.	21
Figura 8. Estimación del volumen de la película.	22
Figura 9. Estimación de la opacidad por medio de un espectrofotómetro.	23
Figura 10. Prueba de permeabilidad al vapor de agua.	23
Figura 11. Prueba para el esfuerzo de tensión.	24
Figura 12. Pruebas de biodegradabilidad realizadas al polímero: a) Ambiente soterrado. b) Entorno acuoso. c) Exposición directa a la radiación solar y condición medioambiental.	25
Figura 13. Crecimiento microbiano en las muestras con: (a) 5 g, (b) 4 g, (c) 3 g, (d) 2 g, (e) 1 g y (f) 0.5 g de colágeno.	29
Figura 14. Muestras de películas: (a) mezcla filmogénica de almidón sin modificar, agua y glicerina. (b) Mezcla filmogénica de almidón sin modificar y agua.	30
Figura 15. Polímeros obtenidos con glicerina (a) preliminarmente y (b) posteriormente al período de secado.....	30
Figura 16. Humedad resultante del polímero: a. Análisis de Varianza. b. Diagrama de Pareto. c. Gráfico de Efectos Principales. d. Gráfico de Interacción.	34
Figura 17. Grosor resultante del polímero: a. Análisis de Varianza. b. Diagrama de Pareto. c. Gráfico de Efectos Principales. d. Gráfico de Interacción.....	35
Figura 18. Densidad resultante del polímero: a. Análisis de Varianza. b. Diagrama de Pareto. c. Gráfico de Efectos Principales. d. Gráfico de Interacción.	37

Figura 19. Opacidad resultante del polímero: a. Análisis de Varianza. b. Diagrama de Pareto. c. Gráfico de Efectos Principales. d. Gráfico de Interacción.	38
Figura 20. Permeabilidad de las muestras respecto al tiempo.	39
Figura 21. Comparación de la pérdida de masa en las muestras debido a la permeabilidad del vapor de agua.	39
Figura 22. Permeabilidad resultante del polímero: a. Análisis de Varianza. b. Diagrama de Pareto. c. Gráfico de Efectos Principales. d. Gráfico de Interacción.	40
Figura 23. Esfuerzo de tensión resultante del polímero: a. Análisis de Varianza. b. Diagrama de Pareto. c. Gráfico de Efectos Principales. d. Gráfico de Interacción.	41
Figura 24. Comportamiento de las muestras del polímero en diferentes ambientes: acuoso: a) antes y b) después, soterrado: c) antes y d) después, soleado: e) antes y f) después.	42
Figura 25. Crecimiento del conteo total de aerobios mesófilos: muestra sin recubrimiento (a) antes y (b) después de 1 semana de incubación; muestra con película polimérica A (c) antes y (d) después de una semana de incubación a una dilución de 1×10^2 ; muestra con película polimérica B (e) antes y (f) después de una semana de incubación a una dilución de 1×10^2	45
Figura 26. Crecimiento de coliformes: (a) muestra sin recubrimiento antes y (b) después de 1 semana de incubación; (c) muestra A antes y (d) después de una semana de incubación a una dilución de 1×10^1 ; (e) muestra B antes y (f) después de una semana de incubación a una dilución de 1×10^1	46
Figura 27. Inicio de la degradación en la superficie del polímero en contacto con el alimento.	47

RESUMEN

El propósito del presente estudio fue el desarrollo de polímeros biodegradables a partir de almidones extraídos de tubérculos, y evaluar su comportamiento como material de protección en la conservación del queso seco.

Para el estudio se realizó la extracción de almidones de papa y yuca nacional con un rendimiento de 6.45% y 4.18%, respectivamente. El tipo almidón (yuca y papa), así como, la glicerina y el colágeno, en dosis de 5 – 10 mL y 0.5 – 1.0 g, respectivamente, fueron los factores y niveles en los que se basó el diseño experimental. Para la obtención del polímero, mediante casting, fueron necesarios ensayos preliminares, con el fin de modificar el almidón, establecer las cantidades adecuadas de colágeno y verificar los volúmenes de glicerina. Se estimaron los parámetros de humedad, $27.67 \pm 7.24\%$; grosor, $0.275 \pm 0.070\text{mm}$; densidad, $1.419 \pm 0.155 \text{ g/cm}^3$; opacidad (como absorbancia a 500nm), 303.7 ± 62 ; permeabilidad al vapor de agua a 25°C, $0.053 \pm 0.021 \text{ g} \cdot \text{mm} / \text{h} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{KPa}$; y esfuerzo de tensión, $3.203 \pm 2.598 \times 10^6 \text{ N/m}^2$ en las formulaciones obtenidas. Todas las muestras presentaron comportamiento degradativo uniforme: en ambiente acuoso, 15–17 días; en ambiente soterrado, 7–8 días; y en exposición directa a la radiación solar, 41–50 días. Para la aplicación de los polímeros como recubrimiento en queso seco, y así evaluar su comportamiento como material de protección, se emplearon las formulaciones que presentaron menor permeabilidad al vapor de agua y el mayor esfuerzo de tensión. Estas fueron: la **Película A** (almidón de papa + 5 mL glicerina + 1 g colágeno) y la **Película B** (almidón de papa + 5 mL de glicerina + 0.5 g de colágeno). Los resultados del análisis microbiológico, al término de 1 semana de incubación, indicaron un recuento total de aerobios mesófilos de 200 UFC/cm² (película polimérica A) y de 500 UFC/cm² (película polimérica B) y de coliformes totales de <1 UFC/cm² (película polimérica A) y de 40 UFC/cm² (película polimérica B). Valores muy bajos en comparación con los datos obtenidos para el queso sin recubrir.

El polímero biodegradable que recubrió el queso inhibía el crecimiento de microorganismos presentes en la superficie de contacto, asimismo, actuaba como barrera de protección; sin embargo, su proceso degradativo se vio influenciado por la naturaleza misma del alimento. En lo que respecta al crecimiento microbiano, éste estaba dentro de los límites permitidos por la NTON 03 022-99.

I. INTRODUCCIÓN

Los polímeros de origen natural, por ejemplo: chicle, goma resinosa, seda, caucho o látex, se han usado desde la antigüedad. No obstante, fueron desplazados por polímeros derivados del petróleo, los cuales generan altas afectaciones en el consumo de energía no renovable, producción de gases de efecto invernadero, daño a la capa de ozono y formación de smog fotoquímico. Sin embargo, estos recursos son limitados e insostenibles para el medio ambiente lo que ha provocado su reemplazo, gradualmente, por nuevas alternativas (Othmer, 2015).

Asimismo, la tendencia actual en los polímeros es que sean de materia prima renovable, de origen natural, que minimicen su impacto ambiental y que sean biodegradables. En comparación a un polímero común el polímero biodegradable tiene una duración de descomposición media de 180 días, es fuente de alimento para otros organismos, no contiene aditivos tóxicos, presenta pequeño impacto en el medio ambiente y su producción va en aumento¹ (European Bioplastic, 2021).

Los polímeros a base de almidones y otras sustancias tales como los polihidroxicanoatos y ácido poliláctico, se están empleando en: agricultura, medicina, industria textil, automotriz, aditivos, empaques, coberturas en alimentos (polímeros biodegradables), etc. Este tipo de polímeros biodegradables son una alternativa frente a los materiales sintéticos ya que se derivan de materiales renovables y presentan un mínimo impacto en el medio ambiente pudiendo clasificarse como *materiales verdes* (Next.cc, 2020).

Por sus características biodegradables y bajo costo, los polímeros de origen natural han sido estudiados, tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo, resultando en una variedad de aplicaciones antes descrita. En esta propuesta se pretende el desarrollo de polímeros biodegradables a partir del almidón presente en la yuca (variedad Masaya) y la papa (variedad blanca); así como su aplicación como material de protección o recubrimiento en la conservación de alimentos perecederos como el queso seco.

¹ 2.42 millones de toneladas de biopolímeros (plásticos biodegradables) fueron producidos durante el 2021.

II. ANTECEDENTES

A nivel internacional, hay una amplia variedad de estudios relacionados con los polímeros de origen natural, por mencionar algunos:

En Guatemala, Orellana (2015) elaboró cápsulas para dosificación de vitaminas hidrosolubles, a partir del almidón de maíz gelatinizado.

En el Salvador, Cornejo (2020) evaluó la biodegradación de un polímero termoplástico por agentes microbianos de compostaje, en un rango de tiempo de 3 a 6 meses, los cuales eran dependientes del contenido de humedad y del tipo de suelo.

En Costa Rica, Arias (2022) obtuvo Polihidroxibutirato (PHB), un tipo de plástico natural biodegradable, a partir de un subproducto del procesamiento agroindustrial del banano.

En Nicaragua, el desarrollo de polímeros de origen natural se ha estudiado poco. No obstante, hay algunos referentes relacionados al tema:

Obregón Blandón (2011) sintetizó polímeros a partir del escualeno mediante fotopolimerización. El propósito de este estudio fue sintetizar un polímero a partir de un terpenoide (presente en el hígado de tiburón, germen de trigo, tejidos vivos, etc.) empleando luz ultravioleta para inducir la reacción de polimerización. Como resultado obtuvo polímeros pocos resistentes a la deformación, pero estables térmicamente.

López Díaz (2016) estudió la aplicación de películas, o polímeros, de quitosano en el tiempo de vida útil del tomate. Obtuvo diferentes tipos de polímeros de quitosano previamente tratados con ácidos orgánicos y aditivos. Los polímeros que presentaban mejor flexibilidad, moldeabilidad y maleabilidad fueron aquellos procesados con ácido cítrico y glicerina o goma xantana. No obstante, tales propiedades fueron insuficientes para aislar o inhibir el crecimiento microbiano en el tomate.

Finalmente, Rosales (2016) obtuvo un polímero biodegradable a partir de la *Colocasia esculenta*. En este trabajo se sintetizó un biopolímero a partir de almidón obtenido de la malanga. La dureza² resultante del material fue clasificado como blando. Su exposición a la intemperie y a la radiación solar lo volvió quebradizo en un lapso de 2 meses, mientras que su degradación fue proporcional a las condiciones de humedad.

² Escala Shore

III. JUSTIFICACIÓN

El plástico está en todas partes, ya sea por su mayor disponibilidad, manipulación y precio. Conveniente o no, está relacionado a la problemática de la basura (Díaz & Sacasa, 2019) (González, 2018). Solamente en la capital –Managua– se generan 1500 toneladas de basura diariamente, de las cuales el 12% son plásticos (Manzanares, 2018).

En comparación a un plástico común los polímeros biodegradables tienen una duración de descomposición media menor a 180 días, proceden de materia prima renovable (frutas, tubérculos, proteínas, celulosa, lignina), son fuente de alimento para microorganismos, no contienen aditivos tóxicos, presentan menor impacto ambiental, y su producción ha aumentado considerablemente (European Bioplastic, 2021).

Los polímeros biodegradables son clasificados como materiales verdes (Next.cc, 2020), pueden ser obtenidos de la papa o la yuca, los cuales contienen altas concentraciones de almidones: 18.9% y 34.7% respectivamente (FAO, 1953). Son cultivos de buena adaptación climática, ampliamente cultivados³ en el país principalmente por su facilidad de siembra y su corto ciclo de cultivo. (INATEC, 2018).

En vista a la variedad de aplicaciones, la disponibilidad de esos tubérculos, la necesidad de alternativas sostenibles con el medio ambiente; en la presente propuesta se desarrolló una película polimérica biodegradable a partir del almidón de yuca o papa. Una vez obtenido el polímero, se evaluaron sus propiedades físicas o mecánicas, así como su aplicación como material de protección o de recubrimiento para la conservación de productos alimenticios, en particular, el queso seco (producto perecedero de gran demanda en el entorno nacional, con necesidades notables en el envase y embalaje por parte de pequeños y medianos productores). No obstante, no se descarta su empleo en otros productos con una baja humedad.

Con la aplicación de esta película se espera lograr una reducción del uso del plástico y también un aumento de la vida de anaquel del queso seco, reduciendo la carga microbiana a la que se expone, por más tiempo y lograr una protección adecuada ante vectores, como moscas.

³ Según el último Censo Nacional Agropecuario (2011), se cultivaron 31390Mz de yuca y 1974Mz de papa.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

- Desarrollar polímeros biodegradables a partir del almidón de papa (*Solanum tuberosum*) y yuca (*Manihot Esculenta Crantz*) mediante el método de vaciado en placa o casting para su aplicación como material de protección en la conservación del queso seco.

4.2 Objetivos Específicos

- Obtener un polímero biodegradable a partir de almidones extraídos de la papa y la yuca, mediante el método de vaciado en placa o casting.
- Estimar los parámetros del polímero biodegradable, tales como: grosor, flexibilidad, esfuerzo de tensión, densidad, opacidad, humedad, permeabilidad al vapor de agua y el tiempo de degradación a la intemperie mediante análisis físicos.
- Evaluar el efecto del polímero biodegradable –como material de protección– en el tiempo de vida útil del queso seco a temperatura ambiente, mediante el análisis microbiológico del conteo de aerobios mesófilos y la detección y enumeración de bacterias coliformes.

V. MARCO TEÓRICO

5.1 Generalidades

En la naturaleza existen los polímeros, ya sea de origen animal como la seda, proteína; o vegetal como el algodón, la celulosa, el látex, entre otras.

Una característica particular de estos polímeros, es su biodegradabilidad. En comparación a un polímero común el polímero biodegradable tiene una duración de descomposición media de 180 días, es fuente de alimento para otros organismos, no contiene aditivos tóxicos, presenta pequeño impacto en el medio ambiente y su producción va en aumento (European Bioplastic, 2021).

5.2 Almidón

El almidón es una de las sustancias de reserva en la naturaleza que puede hallarse como pequeños gránulos depositados en semillas, tubérculos o raíces de distintas plantas y solo se encuentran en el reino vegetal.

En el proceso fotosintético se forma glucosa, la cual se une –mediante procesos bioquímicos complejos– para formar las largas cadenas de almidón que pueden llegar a tener hasta 2 000 o 3 000 unidades del sacárido. Jane y colaboradores (1994) mostraron que el almidón puede adoptar varias formas en los gránulos y pueden ser: redondos, elípticos, ovals, lenticulares, poliédricos o poligonales e incluso de forma irregular.

El almidón está formado por dos polímeros⁴: la amilosa y la amilopectina, esta última en una proporción de 3:1 respecto a la anterior. La diferencia entre ellas radica en su estructura: en la amilosa las moléculas se arreglan en forma lineal, en cambio en la amilopectina están ramificadas (García & Salmerón, 2016).

5.2.1 Amilosa

Polímero lineal formado por unidades de α -D-anhidro glucosas unidas en la posición (1,4). Presenta una disposición espacial helicoidal mediante uniones de puente de hidrógeno que pueden debilitarse y romperse fácilmente por acción del pH y la temperatura (Figura 1). Esta característica, llamada retrogradación, puede provocar un reordenamiento de la amilosa con nuevos enlaces intermoleculares (Cubero, Moferre, & Villalta, 2002).

La amilosa en soluciones neutras forma una hélice, la cual presenta de 6 a 8 unidades de glucosa por cada vuelta, y tiene una masa molecular entre 10,000 y 1,000,000 g/mol y un promedio de 500 a 6 000 unidades de D-glucosa, repartidas en un número de cadenas que va de 1 a 20 (Bello, Mendez, & Agama, 2002).

⁴ Según las recomendaciones de la IUPAC (2012) el término polímero se refiere a la sustancia compuesta de un tipo de macromoléculas, las cuales también pueden incluir a las proteínas, ácidos nucleicos y polisacáridos.

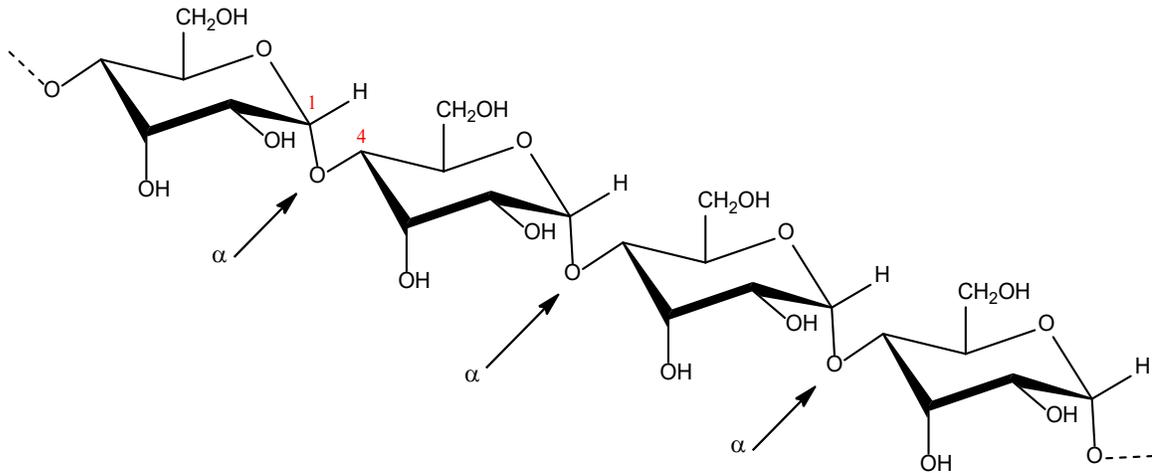


Figura 1. Estructura de la amilosa.
Fuente: Elaboración propia.

5.2.2 Amilopectina

Es el componente mayoritario del almidón, se encuentra en una proporción del 70 – 80%. Forma ramificaciones de unidades α -D-anhidro glucosa unidas mediante enlaces (1,4) en las zonas lineales, y enlace (1,6) en las zonas de ramificación (Figura 2). Debido a su estructura, la molécula se hidrata fácilmente, evitando de esta forma la retrogradación y consiguiendo soluciones más estables (Buleón, Colonna, Planchot, & Ball, 1998).

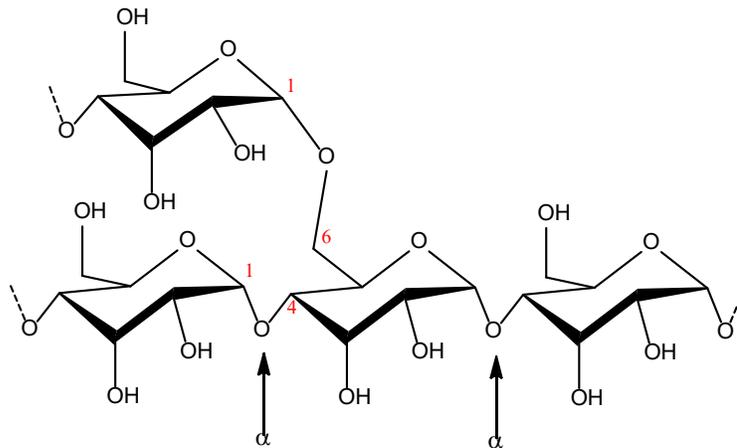


Figura 2. Estructura de la amilopectina.
Fuente: Elaboración propia

El peso molar varía entre 1×10^6 y 1×10^8 g/mol, estas variaciones dependen del origen botánico del almidón, de las condiciones de obtención de los polisacáridos y del método usado para estimar la masa molar (Bello, Mendez, & Agama, 2002).

5.2.3 Propiedades del Almidón

Las propiedades físico-químicas del almidón están determinadas por la proporción relativa amilosa/amilopectina; que presenta variación dependiendo de la fuente de almidón (Bello, Mendez, & Agama, 2002). Estas son: composición proximal, características del grano (tamaño y forma), naturaleza cristalina, peso molecular, poder de hinchamiento, solubilidad, contenido relativo de amilosa y características de pastas que produce.

Las características funcionales de los almidones son: solubilidad, capacidad de retención de agua, poder de hinchamiento, tendencia a retrogradar, propiedades de la pasta (viscosidad, consistencia, estabilidad del gel, claridad y resistencia al corte, formación de película), digestibilidad enzimática y capacidad de emulsificación (Leiva & Obando, 2014).

A temperatura ambiente, los gránulos de almidón no son solubles en agua debido a su estructura semicristalina, pero pueden absorber una pequeña cantidad (30-50% en peso seco) (French, 1972). Atwell (1988) indica que este proceso es reversible siempre y cuando no se alcance la temperatura crítica, de lo contrario los gránulos pierden su orden molecular manifestando cambios irreversibles en las propiedades tales como: la estructura cristalina y birrefringencia⁵. Este proceso es conocido como gelatinización.

La retrogradación afecta la gelatinización durante el almacenamiento prolongado. Las moléculas amorfas, gradualmente se asocian formando cristales, que están compuestos por las dobles hélices del almidón. Las moléculas de amilosa retrogradan más rápido que la amilopectina, siendo la iniciadora de los cambios reológicos de la pasta de almidón (Shrichuwong & Jane, 2007).

La pasta del almidón implica el hinchamiento del gránulo, lixiviación de componentes a partir del gránulo y la desintegración del mismo (Atwell, Hood, Lineback, Varriano-Marrston, & Zobel, 1988). La amilopectina es la responsable del hinchamiento y viscosidad de la pasta. Los enlaces entre las cadenas de almidón se disocian y son reemplazados con puentes de hidrógeno con moléculas de agua, esto incrementa la viscosidad. En cambio, la amilosa ayuda a lixiviar el gránulo (Shrichuwong & Jane, 2007) y su posterior desintegración.

⁵ Conocida también como doble refracción, es una propiedad óptica que consiste en desdoblarse un rayo de luz en dos rayos linealmente polarizados de manera perpendicular entre sí, como si el material tuviera dos índices de refracción distintos.

5.2.4 Fuentes de obtención

Peroni (2003) enlista varias fuentes donde el almidón está frecuentemente presente:

- Semillas de cereales (maíz, trigo, arroz y sorgo),
- Tubérculos⁶ (papa, yuca y batata),
- Semillas de leguminosas (frijoles, lentejas y guisantes),
- Frutas (bananas y manzanas),
- Troncos (palma) y
- Hojas (tabaco).

El maíz presenta mayor porcentaje de almidón que cualquier otro cereal y se pueden obtener, entre otras cosas, harina, almidón, aceite, alcohol, etc. Siendo su principal uso como productos hidrolizados de almidón, particularmente edulcorantes líquidos. La ventaja comparativa del maíz frente a otras fuentes de almidón, es su tendencia a la baja de precios a lo largo de los años.

De todos los almidones comerciales el almidón de papa desarrolla la más alta consistencia en la gelificación, pero su viscosidad decae con la agitación y el calentamiento prolongado. Por su parte, el alto contenido de la yuca y su mayor proporción de amilosa, en comparación con otros, lo posicionan como la segunda fuente de almidón. La Tabla 1 muestra la composición química de las distintas fuentes que se utilizan para la extracción de almidón, con especial interés en la papa y la yuca.

5.2.5 Usos

En general, se puede mencionar que los almidones tienen aplicaciones en diferentes ramas de la industria como: adhesivos en la industria papelera para el encolado interno del papel mejorando las uniones entre fibras, en telas luego de su procesamiento, en las formulaciones de talcos perfumados para el cuerpo o el cutis, en maquillajes, en el campo de materiales para empaque, el almidón mezclado con polietileno da como resultado un material biodegradable y en la elaboración de baterías de celdas secas, el papel que recubre las paredes de la celda es tratado con almidón y otras sustancias (ICAITI⁷). En los alimentos se emplea como agente espesante, encapsulante, agente de relleno, para dar sabor, productos de repostería, pastelería, galletas y más recientemente como películas de recubrimiento (Funglie & Oates, 2001).

⁶ Del latín *tubercŭlum*, diminutivo de tuber que significa “tumor”. Parte de un tallo subterráneo, o de una raíz, que engruesa considerablemente, en cuyas células se acumula una gran cantidad de sustancias de reserva (FAO, 1953).

⁷ Instituto Centroamericano de Investigación y Técnica Industrial.

Tabla 1. Composición química de distintos almidones

Composición porcentual	Fuentes de extracción más comunes			
	Yuca	Papa	Trigo	Maíz
Ceniza	0.29	0.4	0.3	0.06
Humedad	13	19	13	13
Lípidos	0.1	0.1	0.9	0.8
Proteínas	0.1	0.1	0.4	0.35
Fósforo	0.01	0.08	0.06	0.02
Amilosa	16-19	18-23	17-29	24-36
Amilopectina	84-81	82-77	83-71	76-64
Temperatura de gelatinización, °C	54-66	58-75	75-85	70-80
Rango de viscosidad, UB	800-1500	1000-2500	200-500	300-600

UB: Unidades Brabender

Fuente: (Bello, Mendez, & Agama, 2002)

5.3 Papa

La papa (*Solanum tuberosum*), es una planta suculenta, herbácea y anual, perteneciente a la familia *Solanácea*. Posee un tallo aéreo que puede ser ramificado hueco y triangular en su sección transversal; se considera tallo principal, él que crece directamente del tubérculo y a las ramas laterales de éste, se les denomina tallos secundarios. Las hojas son alternas al igual que los estolones; consisten en un pecíolo con folíolo terminal; folíolos laterales secundarios y a veces terciarios intersticiales. El fruto de la papa es una baya, que puede ser de diversos colores: verdes, amarillento, castaño o violeta (Melian, 2010).

Su ciclo de cultivo puede ser: precoz (menor a 120 días), semitardía (entre 120 a 150 días) y tardía (mayor a 150 días). En Nicaragua se siembran en zonas con alturas de 800 a 1,500 msnm en los departamentos de Matagalpa, Jinotega, Madriz, Nueva Segovia y Estelí (MAGFOR, 2012). En la Tabla A.1 de los anexos se presentan diferentes variedades de papa⁸ que se cultivan en el país.

Leiva y Obando (2014) indican que los factores que influyen en el rendimiento y calidad de los tubérculos son: el uso de semilla en condiciones sanas, la siembra de variedades adecuadas a cada condición climática, el manejo moderado de fertilizantes, las semillas resistentes a plagas, el método y manipulación de la cosecha y el almacenamiento. Durante la etapa de la floración, la papa comienza la tuberización. En variedades precoces, esto ocurre a los 30 días después de la siembra; en variedades intermedias, entre los 35 a 45 días; y en las tardías entre 50 a 60 días. Esta etapa dura unos 30 días aproximadamente (Rikolto VECO, 2016).

⁸ La selección de la variedad de yuca con se llevó a cabo el trabajo, se detalla en la sección 6.3.

El almacenamiento de los tubérculos debe realizarse considerando los siguientes aspectos: temperaturas de 8 – 9° C, así el almidón no se desdobra en azúcar y no se daña la calidad de la papa; el curado previo a una temperatura de 15 – 18 °C y humedad relativa entre 90 – 95 % para reducir los daños del tubérculo y evitar ataques de microorganismos, el uso de inhibidores de la brotación como complemento de buenas prácticas de manejo en base al control de la humedad, temperatura y la ventilación (Leiva & Obando, 2014).

5.3.1 Composición nutricional de la papa

La composición de la papa depende de la variedad, grado de madurez, aplicación de químicos, condiciones ambientales, la duración de los ciclos productivos, entre otros factores (Tabla 2). Luego de su cosecha, los tubérculos contienen en promedio 80% de agua y 20% de materia seca, cuyo 60% corresponde al almidón respecto a la materia seca (Badui, 1990).

Tabla 2. Valor nutricional de la papa

Valor nutricional por cada 100g de papa (con cáscara)	
Energía	80 Kcal
Agua	75 g
Carbohidratos	19 g
Almidón	15 g
Proteínas	2 g
Vitamina C	20 mg (33%)
Vitamina B6	0.25 mg (19%)
Hierro	1.8 mg (14%)
Potasio	421 mg (9%)
Fósforo	57 mg (8%)
Niacina (Vit.B3)	1.1 mg (7%)
Magnesio	23 mg (6%)
Tiamina (Vit.B1)	0.08 mg (6%)
Riboflavina (Vit.B2)	0.03 mg (2%)

Fuente: INTA 2018

5.4 Yuca

La yuca (*Manihot esculenta crantz*) es una especie de raíces amiláceas que se cultiva en los trópicos y subtrópicos, originaria de América del Sur (Pallais C., 2004).

En Nicaragua se siembra en todo el país pues se adapta hasta altura de 1800 msnm en los departamentos de Matagalpa, Jinotega, Masaya, León y las Regiones Autónomas. Las variedades mayormente utilizadas por los agricultores se detallan

en la Tabla 3 (MAGFOR, 2012); y las diferentes variedades de yuca⁹ que se cultivan en el país se detalla en el Anexo A.2.

Tabla 3. Variedades de yuca que se cultivan en las principales zonas de Nicaragua

Pacífico Sur	Pacífico Norte	Centro Sur
Pochota	Pochota	Algodón
Ceiba	Valencia	Valencia
Masaya	Masaya	Masaya
	Leonesa	Campeona
		Paloma
		Arbolito

Fuente: (MAGFOR, 2012)

El engrosamiento de las raíces -reserva- empieza después de los primeros seis meses, acelerándose por aproximadamente cinco meses; la acumulación de almidón no se detiene, aunque la actividad vegetativa disminuye. Posteriormente, empieza el engrosamiento de raíces, fase que dura aproximadamente cinco meses. Aparentemente, la capacidad de sintetizar almidones alcanza su máximo en esta última fase. Un mes después que se detiene el engrosamiento de raíces, la planta bota todo el follaje y entra en reposo (Pallais C., 2004).

5.4.1 Composición nutricional de la Yuca

Además de almidón, la yuca presenta un alto contenido de HCN (ácido cianhídrico), el cual es generado por la degradación enzimática de los glucósidos presentes en la misma (Tabla 4). Esta sustancia (HCN) es un inhibidor de la respiración celular de los seres vivos. Para evitar intoxicación es necesario realizar tratamientos previos a la yuca, tales como: lavado, prensado o degradación enzimática del glucósido (Fornos, 1997).

5.5 Modificación del Almidón

Sánchez y colaboradores (2005) observaron que la resistencia al esfuerzo cortante y la retrogradación del almidón pueden ser superadas por medio de una modificación. La estructura del almidón puede modificarse mediante métodos físicos, químicos y/o enzimáticos.

⁹ La selección de la variedad de yuca con se llevó a cabo el trabajo, se detalla en la sección 6.3.

Tabla 4. Composición nutricional de la yuca

Composición nutricional media (100g de base seca)	
Energía	132Kcal
Agua (%)	65.2
Porción no comestible (%)	32
Carbohidratos totales (%)	32.8
Proteínas (%)	1.0
Fibra (%)	1.0
Cenizas (%)	0.6
Grasa (%)	0.4
Calcio (mg)	40.0
Fósforo (mg)	34.0
Ácido Ascórbico (mg)	19.0
Niacina (mg)	0.60

Fuente: FAO

5.5.1 Modificación química

5.5.1.1 Oxidación

La oxidación del almidón, empleando hipoclorito de sodio, produce una pasta clara, fluida y adhesiva, que no forma un gel rígido, y aunque se enfríe mantiene aún su naturaleza adhesiva. Rutenberg y Solarek (1984) indican que las películas formadas son fuertes, rígidas y resistentes (Figura 3):

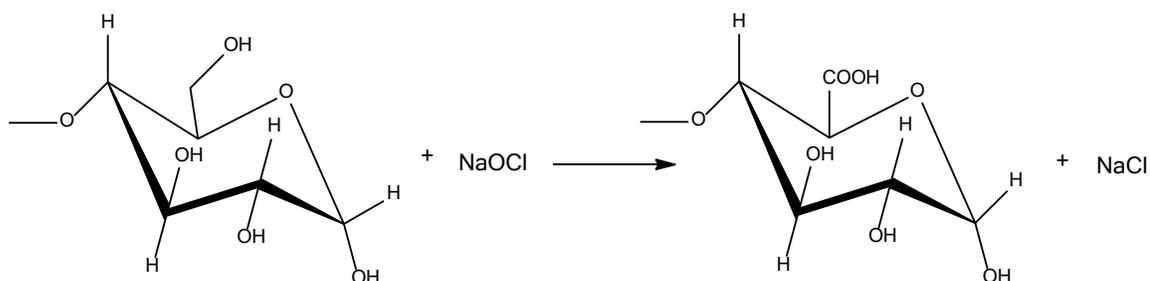


Figura 3. Mecanismo de reacción por oxidación del almidón con hipoclorito de sodio.

Fuente: (Rutenberg & Solarek, 1984).

5.5.1.2 Acetilación

La acetilación del almidón, es una esterificación de los grupos hidroxilos de la unidad anhidroglucosa de la molécula almidón (Figura 4). Los almidones acetilados con baja sustitución tienen muy buena formación de películas, confieren adhesividad, estabilidad y textura a ciertos alimentos (Graaf, Broekroelofs, & Janssen, 1998).

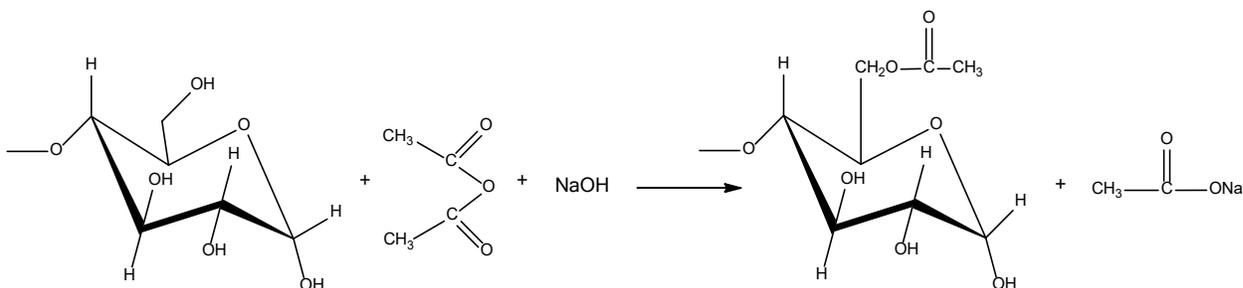


Figura 4. Mecanismo de reacción por acetilación del almidón con anhídrido acético.

Fuente: (Rutenberg & Solarek, 1984).

5.5.2 Plastificantes

El almidón en su estado natural presenta limitaciones respecto a resistencia mecánica, estabilidad térmica y adsorción de humedad (Tang & Alavi, 2011). Las películas elaboradas únicamente con almidón y agua, presentan un comportamiento rígido pero quebradizo, esto es, tienen un alto esfuerzo de tensión a la fractura y un bajo valor de deformación. Para disminuir ese comportamiento se le adiciona plastificantes¹⁰ como los polioles –glicerol, sorbitol, polietilenglicol– urea y sacarosa (Schwach, 2004); aumentando la flexibilidad y la suavidad de la película, necesario para su manejabilidad. Los plastificantes reducen las fuerzas intermoleculares e incrementan la movilidad de las cadenas poliméricas (Mali, M.V.E., García, Martino, & Zaritsky, 2002).

Los grupos OH de la glicerina le permiten ser solubles, reduciendo significativamente la resistencia a la tracción. El resultado es un almidón termoplástico, que se caracteriza por la reestructuración espontánea de la red semi-cristalina del almidón y la formación de puentes de hidrógeno entre éste y el plastificante (Fabunmi, Tabil, & Chang, 2004).

5.6 Proteínas

Compuestas principalmente por carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y; en dependencia de su naturaleza pueden incorporar otros elementos como azufre, hierro, cobre, fósforo y zinc. Formados a partir de 20 aminoácidos primarios unidos por enlaces peptídicos (Ordóñez et al., 2005). Pueden existir muchas conexiones y estructuras posibles, resultando en propiedades complejas y variadas. Las proteínas están presentes en la naturaleza en forma de semillas (soya, girasol, etc), subproducto de semillas (gluten, zeína, etc), o tejido animal (colágeno, queratina) (Rouilly; Rigal, 2002).

¹⁰Un plastificante es una sustancia no volátil con un alto punto de ebullición que cuando se añade a otro material, altera sus propiedades físicas y/o mecánicas (Banker et al., 1996).

5.6.1 Colágeno

El colágeno, es un tipo de proteína, puede formar estructuras tridimensionales estables principalmente por interacciones no covalentes (Swain, 2004).

El colágeno no debe de someterse a ebullición ya que por su naturaleza proteica se desnaturaliza, afectando de este modo los resultados finales del análisis.

5.7 Polímeros Biodegradables

Debido a la presencia de amilosa, el almidón tiene la capacidad de formar recubrimientos (Chandra & Rutsigi, 1998); que en realidad son películas poliméricas.

Gennadlos, y Weller (1990) mencionan que existe una clara distinción entre películas y recubrimientos hechos a partir de polímeros naturales; siendo estos dos términos intercambiables. Sin embargo, las coberturas son formadas y aplicadas directamente sobre la superficie del producto mientras que las películas se forman por separado como láminas delgadas y luego se aplica a los productos.

Estos polímeros, comúnmente se obtienen mediante la técnica casting, que consiste en la deshidratación de una solución filmogénica (SF), –o sea, algo que es capaz de generar una película– aplicada en un soporte (Gontard *et al.*, 1992).

El almidón es fácilmente biodegradable (Huang, 2006). La biodegradación es el proceso de descomposición de un polímero o cualquier material por la acción de microorganismos tales como bacterias, hongos o algas, que en ambientes aeróbicos degradan el polímero en dióxido de carbono y agua, y que, en ambientes anaeróbicos, producen dióxido de carbono y metano, y otros productos naturales producidas por microorganismos.

5.8 Parámetros de importancia

Algunas propiedades o parámetros a tomar en cuenta en el polímero como material de protección son humedad, tiempo de degradación, permeabilidad al vapor de agua y esfuerzo de tensión.

5.9 Microbiología

El número de bacterias que contienen algunos alimentos, como los quesos, naturales o elaborados no suele afectar la salud ni la seguridad de la población (Refai, 1981). Dependiendo del riesgo que implique los microorganismos relacionados con los alimentos se agrupan en tres clases: microorganismos que no implican riesgo para la salud, pero sí para la vida útil del producto; microorganismos de riesgo indirecto bajo; y microorganismos de riesgo directo para la salud (patógenos).

Por razones de estudio y disciplinario, en este trabajo se abordarán solamente los aerobios mesófilos y las bacterias coliformes. Para más detalles vea el Anexo A.9.

5.9.1 Aerobios Mesófilos

Las bacterias aerobias (dependientes del oxígeno) son aquellas afines a temperaturas medias entre 30°C y 37°C y se desarrollan en cualquier medio. Este tipo de microorganismos no siempre son patógenos, ya que reconoce la totalidad de microbios presentes en el alimento. Por ello, se usa como indicador de las características higiénicas del alimento. A mayor presencia de microorganismos aerobios totales, la calidad del alimento se verá perjudicada.

El recuento de placas de bacterias aerobias mesófilas sigue siendo uno de los indicadores más útiles del estado microbiológico de un alimento. Un recuento muy viable indica frecuentemente a contaminación de la materia prima, un estado sanitario poco satisfactorio, condiciones de tiempo y temperatura no idóneas durante la producción o almacenamiento del alimento, o una combinación de ambas.

5.9.2 Coliformes

Pertenece al grupo de las *Enterobacteriaceae* que incluye las bacterias coliformes fermentadoras de lactosa, cepas de *E. coli* no fermentadoras de lactosa, y especies no fermentadoras de lactosa.

Las enterobacterias totales son también microorganismos indicadores, ya que estas bacterias (la mayoría de las veces de origen fecal) son destruidas en los tratamientos de pasteurización. Por ello su presencia en un número considerable es indicador de la mala higiene de los alimentos. Aunque los coliformes diferentes del *E. coli* persisten en el suelo y en las superficies más tiempo, no son –necesariamente– indicador de contaminación por fuente fecal.

Para su recuento total, se utiliza como fuente de carbono la glucosa, en un medio biliar, en el cual pueden desarrollarse todos los miembros de la familia.

VI. MATERIAL Y MÉTODO

6.1 Ubicación

Los ensayos para la extracción del almidón, obtención del polímero y evaluación de sus propiedades se realizaron en el Laboratorio de Físicoquímica; los análisis microbiológicos se realizaron en el Laboratorio de Ingeniería de Alimentos, ambas estancias ubicadas en el Recinto Universitario Simón Bolívar (RUSB). Las pruebas de esfuerzos de tensión se llevaron a cabo en el Laboratorio de Física del Recinto Universitario Pedro Arauz Palacios (RUPAP) de la Universidad Nacional de Ingeniería.

6.2 Tipo de estudio

El presente trabajo: “Desarrollo de polímeros biodegradables a partir de almidón de papa y yuca como material de protección para la conservación de queso seco” es de tipo:

- **Experimental:** ya que se realizaron ensayos para extraer de dos tubérculos, la película biodegradable.
- **Cuantitativo:** el análisis se realizó de acuerdo a técnicas estadísticas, diferencia mínima, desviación estándar, etc.
- **Aplicado:** se evaluó las propiedades de la película resultante como material de recubrimiento en la conservación de un producto alimenticio (queso seco).

6.3 Materiales

En la obtención de almidón se utilizó yuca de la variedad “Masaya” y papa de la variedad “blanca”, por ser esas variedades las más producidas y disponibles localmente (MAGFOR, 2012). Los tubérculos se adquirieron en el mercado municipal “Ernesto Fernández” de la ciudad de Masaya, procurándose conseguir un producto fresco, con buen desarrollo, hidratación y estado. Por su parte, el queso seco utilizado para la aplicación de las películas biodegradables, se adquirió en el centro de abastecimiento comercial Israel Lewites.

Los materiales y equipos de laboratorio que se utilizaron en la extracción del almidón se muestran en el Anexo A.3. Los materiales empleados para la obtención del polímero, así como para la estimación de sus parámetros de calidad están descritos en el Anexo A.4 y finalmente, los reactivos, materiales y equipos utilizados en el análisis microbiológico se enlistan en la Anexo A.5.

6.4 Metodología

En la Figura 5 se muestran las etapas del proceso investigativo: (i) obtención del polímero biodegradable, (ii) las pruebas físicas y (iii) el análisis microbiológico.

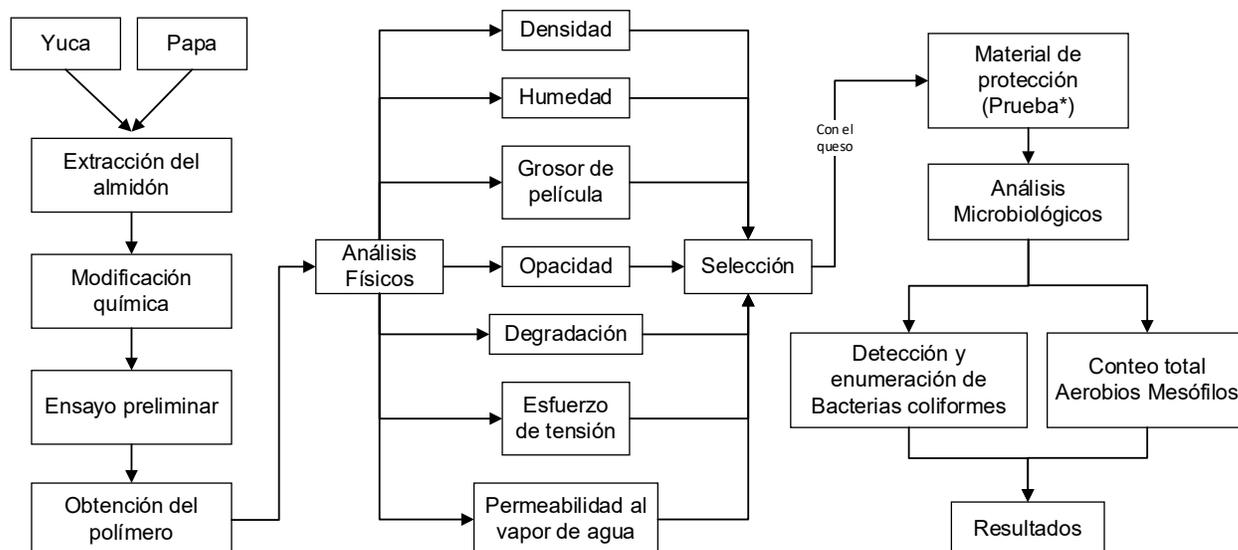


Figura 5. Etapas para obtención del almidón, análisis físico del biopolímero y análisis microbiológico del producto alimenticio.

Fuente: Elaboración propia

6.4.1 Extracción del almidón

Para la extracción del almidón de los tubérculos se adaptó el procedimiento establecido en el Método ISI 25-2e (ISI, 2002) del Instituto Internacional del Almidón, descrito en el Anexo A.6, el cual es adecuado para cualquier tubérculo. Asimismo, se tomó como referencia el proceso de extracción empleado por Leiva & Obando (2014) en la papa, y García & Salmerón (2016) en la yuca, descritos en los diagramas de flujos presentados en los Anexos A.7 y A.8.

A continuación, se detalla el procedimiento de extracción:

–Recepción y Almacenamiento: los tubérculos se almacenaron a 20°C previa a la extracción, siguiendo la misma secuencia de operaciones para cada uno de los tubérculos (papa y yuca) por separado.

–Selección: Se seleccionaron aquellos tubérculos que presentaron las mejores características de color, textura y olor. Se utilizaron 3.17 kg de yuca y 4.43 kg de papa.

–Lavado, pelado y cortado: Los tubérculos se lavaron, pelaron y cortaron en cubos de 3 cm aproximadamente.

–Homogenización: los tubérculos se homogeneizaron, por separado, en un procesador de alimentos Robot Coupé R101 con agua potable, en una proporción de tubérculo y agua de 2 a 1, durante 3 minutos.

–Filtración: La mezcla resultante del paso anterior se filtró con muselina, soportada en un colador plástico, obteniéndose un filtrado — de color blanquecino — y una torta retenida en la muselina. La torta se lavó dos veces con agua para recuperar parte del almidón que pudo haber quedado retenido.

–Reposo y decantación: Todo el filtrado se recolectó en un recipiente plástico, dejando en reposo por 18 horas a 20°C. Se decantó el líquido sobrenadante y se lavó con agua el sedimento obtenido, dejando reposar otras 18 horas a 20°C en bandejas plásticas. Se realizó la última decantación.

–Secado: Se procedió a secar el sedimento de la última decantación en una mufla Barnstead 6000 THERMOLYNE ® a 60°C por 12 horas.

–Determinación de la humedad: Después del secado se procedió a determinar el porcentaje de humedad del almidón en un Analizador de humedad Sartorius MA150; si el porcentaje de humedad era mayor a 12% se mantenía en la mufla hasta que estuviera en el rango deseado.

–Pulverizado: En un mortero se pulverizó el almidón procedente de las bandejas y se hizo pasar en tamices MESH Fritsch GMBH BRD 6580, en el siguiente orden de tamaño de partícula: 0.50 mm, 0.25 mm y 0.125 mm. Los gránulos que no atravesaban los tamices, se pulverizaban nuevamente antes de tamizarlos. Este proceso se repetía hasta que el tamaño de partícula fuera homogéneo. Posteriormente, el almidón pulverizado se almacenó en un lugar fresco y seco.

6.4.2 Modificación Química

De los resultados de la modificación y las pruebas preliminares, se tomaron las cantidades de glicerina y colágeno indicados en el diseño experimental para llevar a cabo las pruebas posteriores.

Se colocaron 10 g de almidón en un beaker de 250 mL. Subsiguiente, se agregaron 100 mL de agua destilada y se mezclaron bien antes de verter 10 mL de glicerina y 15 mL de ácido acético 0.1M. Durante 10 minutos se mantuvo la mezcla en ebullición, agitando continuamente hasta que la mezcla quedara viscosa. Dependiendo de esta viscosidad, se agregó de entre 2 a 8 mL de NaOH 0.1 M a la mezcla, para mejorar la fluidez de su propiedad reológica. Cuidadosamente, se vertió la mezcla en una placa de vidrio procurando formar una capa uniformemente delgada en toda la superficie de la placa (casting). Luego se sometió a secado en una mufla a 40°C durante dos horas. Si después de ese tiempo la humedad era mayor a 10 – 25%, se continuaba con el secado hasta alcanzar el rango deseado.

6.4.2.1 Ensayos Preliminares

Se colocaron 10 g de almidón en un beaker de 250 mL y se agregaron 100 mL de agua destilada y se mezclaron bien antes de verter 5 mL de glicerina. Durante 10 minutos se mantuvo la mezcla en ebullición, agitando continuamente hasta que la mezcla estuviera viscosa. Se vertió la mezcla en una placa de vidrio procurando formar una capa uniformemente delgada en toda la superficie de la placa (casting). Luego se sometió a secado en una mufla a 40°C durante dos horas, si no se alcanzaban los 10% de humedad, se continuaba hasta lograr el valor deseado. Este procedimiento se repitió con 10 mL de glicerina, así como con 5 g, 4 g, 3 g, 2 g, 1 g y 0.5 g de colágeno.

6.4.3 Obtención del polímero biodegradable

El siguiente procedimiento se realizó para cada tipo de almidón obtenido. Para observar las características del polímero se realizó una prueba preliminar. Posteriormente, se repitió el mismo procedimiento incorporando colágeno a las formulaciones para comparar los resultados con los obtenidos previamente.

En un beaker de 250mL se colocó el almidón y se agregó agua destilada, mezclándose bien antes de verter la glicerina y ácido acético al 5% en peso. Esta mezcla se agitaba en una plancha de calentamiento durante 5 minutos, llevando la temperatura gradualmente hasta 90°C. Cuando la mezcla se tornaba viscosa, se dejaba en ebullición (105°C) por un lapso de 5 minutos en continua agitación. En otro beaker se calentaba la disolución de colágeno por 5 minutos, sin exceder los 90°C, en agitación continua. Ambos contenidos se dejaban enfriar por 2 minutos antes de realizar una sola mezcla; ésta se vertía cuidadosamente en una placa de vidrio, procurando formar una capa uniformemente delgada en toda la superficie de la misma. La placa se dejaba en la mufla a 65°C por 2 horas y después se ubicaba en el desecador por 3 días.

6.4.4 Estimación de parámetros de importancia

6.4.4.1 Porcentaje de Humedad

El porcentaje de humedad se rige mediante la siguiente expresión:

$$\%Humedad = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100 \quad (1)$$

Dónde:

- m_1 : muestra húmeda
- m_2 : muestra seca

Para este análisis, se empleó un lector de humedad Sartorius MA150 (Figura 6). Previa calibración del equipo, se ubicó una muestra de aproximadamente 2 g del polímero en la bandeja de muestra, obteniéndose la lectura en pocos minutos.

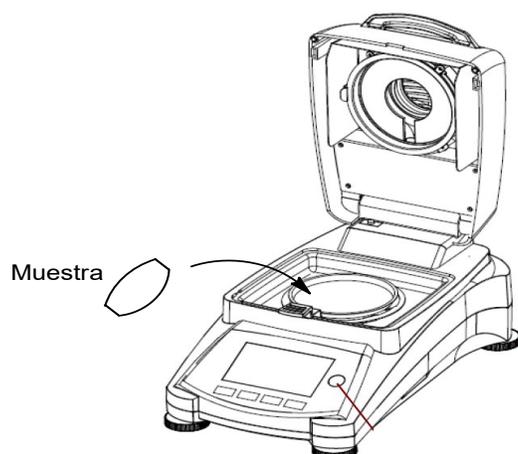


Figura 6. Analizador de humedad Sartorius MA150.
Fuente: Manual Sartorius MA150

6.4.4.2 Grosor del polímero

Se utilizó un micrómetro digital STANLEY® para estimar el grosor de los diferentes tipos de polímeros biodegradables. Se ubicó tres puntos en la muestra para estimar el grosor medio del polímero, tal como se muestra en la Figura 7.



Figura 7. Puntos de medición en la película biodegradable.
Fuente: Elaboración propia

6.4.4.3 Densidad

Para estimar la densidad, se pesó una muestra del polímero en una balanza analítica y se sumergió en una probeta que contenía 8 mL de agua destilada (Figura 8) evitando cualquier rastro de burbujas de aire. La variación de volumen después de la sumersión, es el volumen equivalente del polímero testeado.

Se utilizó la siguiente expresión para el cálculo de la densidad:

$$\text{Densidad del polímero} = \frac{\text{masa del polímero}}{\text{volumen del líquido desalojado}} \quad (2)$$

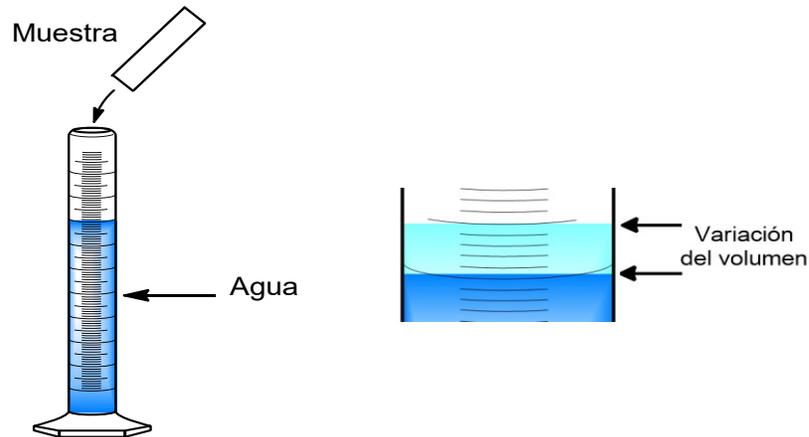


Figura 8. Estimación del volumen de la película.
Fuente: Elaboración propia

6.4.4.4 Opacidad

En dependencia del objeto a ser recubierto con el polímero, puede ser deseable que este quede oculto o expuesto a la evaluación sensorial del observador; es decir, que el polímero sea translúcido u opaco.

Se realizó el procedimiento propuesto por Choo (2004), que consiste en estimar la absorbancia del polímero a una longitud de onda de 500 nm en un espectrofotómetro UV-Visible, tomando como referente el aire a 25°C. Para ello, se cortó una tira con las dimensiones internas de las celdas del espectrofotómetro (Figura 9). Se utilizó la siguiente expresión para el cálculo de la opacidad:

$$\text{Opacidad} = A_{500} \frac{500}{T} \quad (3)$$

Dónde:

- A_{500} : absorbancia a 500nm
- T : espesor del polímero en mm.

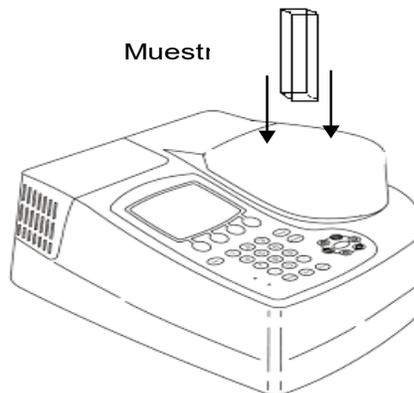


Figura 9. Estimación de la opacidad por medio de un espectrofotómetro.
Fuente: *Elaboración propia*

6.4.4.5 Permeabilidad al vapor de agua

Se llevó a cabo el método empleado por Trujillo (2014), ver Figura 10. El método consiste en llenar un contenedor de vidrio o metal con un volumen de agua destilada; preferiblemente celdas, tubos de ensayos medianos o copas. Estos deben de estar sellados con el material a evaluar, evitando cualquier fuga o abertura, y ser ubicados en un desecador con sílica gel por un período de 9 días. Se debe tomar las variaciones de peso del contenedor en intervalos de 4 horas.

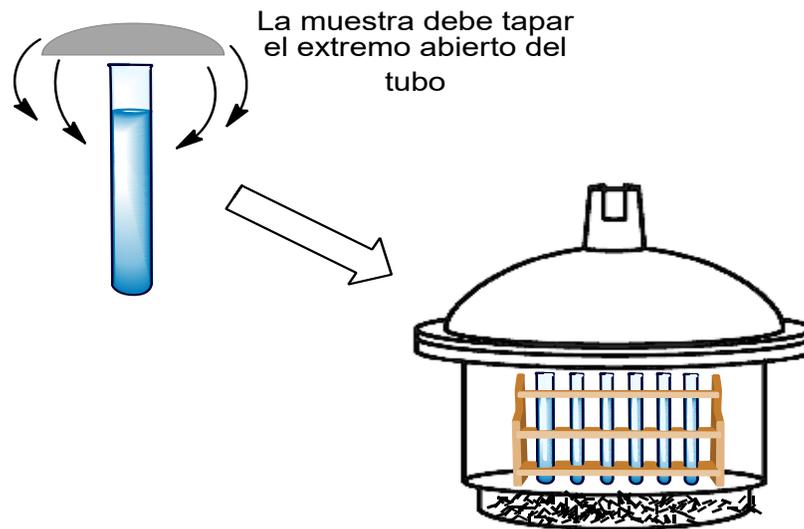


Figura 10. Prueba de permeabilidad al vapor de agua.
(Adaptado de Trujillo, 2014)

Para estimar la permeabilidad al vapor de agua PVA, se empleó la siguiente expresión:

$$PVA = \left(\frac{g}{t \cdot A} \right) \times \left(\frac{X}{\Delta P} \right) \quad (4)$$

Dónde:

- A: es el área de permeación.
- g: es la ganancia¹¹ de peso total en tiempo total en horas.
- g/t: se calcula por regresión lineal entre los puntos de ganancia de peso y el tiempo en el estado estacionario.
- X: es el espesor medio de los polímeros.
- ΔP : es la diferencia de presión de vapor del medio ambiente que contiene gel de sílice (0kPa, 25°C) y agua pura (3.167kPa, 25°C).
- PVA: $\frac{g \cdot mm}{h \cdot m^2 \cdot KPa}$

¹¹ O pérdida según sea, por ganancia de masa o pérdida de masa.

- El término $\left(\frac{g}{t \cdot A}\right)$ es el flujo de permeabilidad al vapor de agua (F_{VA})

6.4.4.6 Esfuerzo de tensión

Se empleó un dinamómetro de 10 N y 20 N para la prueba de tracción¹² (ver Figura 11). Las muestras se cortaron en rectángulos con medidas de 0.7 cm de ancho y 5 cm de largo.

Para calcular el área de sección transversal sobre la cual se ejerció la fuerza de tensión, se siguió el mismo procedimiento realizado en la sección 4.3.2.3. Para determinar el esfuerzo de tensión se empleó la siguiente expresión:

$$\text{Esfuerzo de tensión} = \frac{\text{fuerza max. en el polímero durante la fractura}}{\text{área de sección transversal}} \quad (5)$$

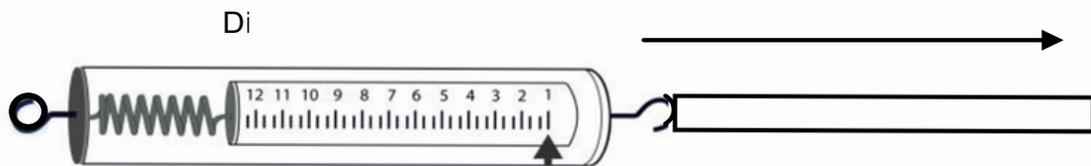


Figura 11. Prueba para el esfuerzo de tensión.
Fuente: Elaboración propia

6.4.4.7 Tiempo de degradación en diferentes ambientes

Al polímero se le realizaron tres pruebas de biodegradabilidad, respecto al tiempo (Figura 12):

- En ambiente soterrado: se cubrió la muestra con tierra a temperatura ambiente.
- En un entorno acuoso: se ubicaron muestras en un Erlenmeyer de 100 mL con agua potable, cubiertas con Parafilm, a 25°C.
- Exposición directa a la radiación solar y condición medioambiental:

¹² Esfuerzo al que está sometido un cuerpo por la aplicación de dos fuerzas (tensión) opuestas

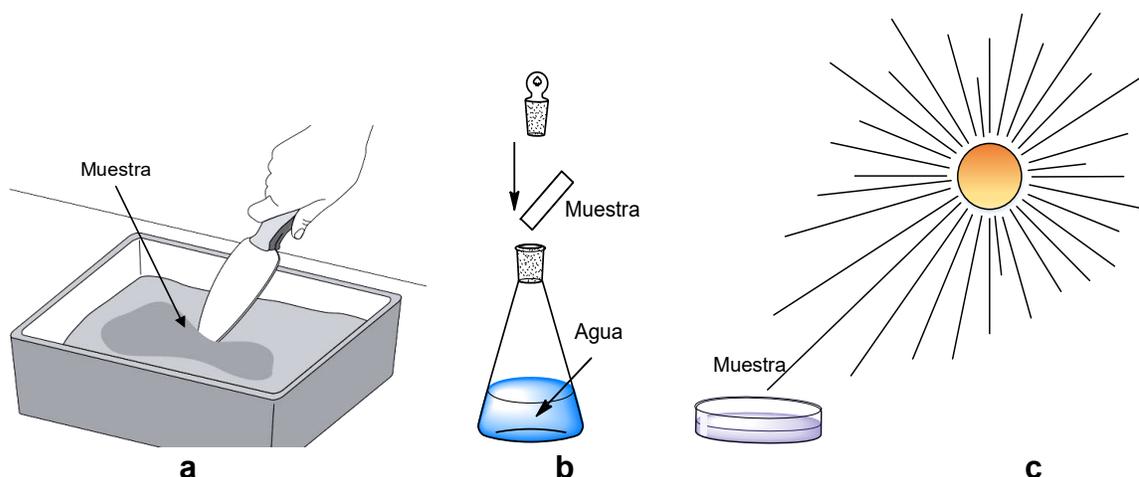


Figura 12. Pruebas de biodegradabilidad realizadas al polímero: **a)** Ambiente soterrado. **b)** Entorno acuoso. **c)** Exposición directa a la radiación solar y condición medioambiental.

Fuente: Elaboración propia

Se observó la degradación del polímero en los distintos entornos, observando su apariencia según los períodos de tiempo del estudio: 1 día, 1 semana, 1 mes, 3 meses; hasta su completa degradación.

6.4.5 Efecto microbiológico del Polímero en un producto alimenticio

En esta etapa, se observó el comportamiento del polímero biodegradable como barrera frente a los microorganismos. Para ello, se tomaron aquellas películas poliméricas (dos muestras: A y B) que presentaron mejores resultados en cuanto a flexibilidad, menor fragilidad (mayor resistencia al esfuerzo de tensión), buena adherencia y menor permeabilidad al vapor de agua. Las pruebas experimentales se llevaron a cabo con queso seco, con y sin recubrimiento de la película, con el propósito de comparar el efecto de protección contra los microorganismos.

Las muestras de queso seco fueron recubiertas con el polímero biodegradable y evaluadas en un intervalo de 1 semana. Durante ese período de tiempo, se determinó el comportamiento de los microorganismos (conteo de bacterias aeróbicas mesófilas, detección y enumeración de bacterias coliformes) en la muestra. En el Anexo A.9 se detalla el procedimiento que se llevó a cabo para los ensayos microbiológicos (1981).

6.5 Diseño Experimental

6.5.1 Hipótesis

Para este estudio se consideraron dos hipótesis (la hipótesis nula y la hipótesis alternativa) para el diseño experimental propuesto:

Hipótesis nula: La adición del colágeno al plastificante glicerina, mejora las propiedades mecánicas y el comportamiento microbiológico del polímero biodegradable.

Hipótesis alternativa: No existe correlación entre el colágeno y el plastificante.

6.5.2 Variables y Factores

Para determinar el número de tratamiento del diseño experimental se utilizó el software STAGRAFICS Centurion y Microsoft Excel para el procesamiento de los datos.

La Tabla 5 y la Tabla 6 muestran el arreglo experimental que se llevó a cabo para la obtención del polímero biodegradable y el diseño de experimento, respectivamente. Se establecieron dos niveles para cada factor: almidón modificado y plastificante–glicerina y colágeno– con sus respectivas réplicas, con la finalidad de observar el efecto en las propiedades mecánicas, resultando en un diseño multifactorial 2^k .

Tabla 5. Factores y niveles del diseño experimental factorial

Factores	Niveles
Factor 1: Tipo de Almidón modificado	• -1.0: Papa
	• 1.0: Yuca
Factor 2: Contenido de Glicerina	• -1.0: 5 ml
	• 1.0: 10 ml
Factor 3: Contenido de Colágeno	• -1.0: 0.5 g
	• 1.0: 1.0 g

Fuente: Elaboración propia

Tabla 6 Diseño experimental

No.	Factor 1	Factor 2	Factor 3
1	-1.0	10	1
2	-1.0	10	0.5
3	1.0	10	0.5
4	1.0	10	1
5	1.0	5	1
6	-1.0	5	0.5
7	1.0	5	0.5
8	-1.0	5	1
9	-1.0	10	1
10	-1.0	10	0.5
11	1.0	10	0.5
12	1.0	10	1
13	1.0	5	1
14	-1.0	5	0.5
15	1.0	5	0.5
16	-1.0	5	1

Las variables dependientes¹³, o variables respuestas, del polímero biodegradable obtenido se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Variable de respuesta

Variable respuesta	Unidades
Humedad	%
Grosor	mm
Densidad	g/cm ³
Opacidad	(Absorbancia 500 nm)
Tiempo de biodegradación	días
Permeabilidad al Vapor de agua	$\frac{g^{\circ}mm}{h^{\circ}m^2^{\circ}KPa}$
Esfuerzo de Tensión	N/m ²

Fuente: Elaboración propia

¹³ Estas reflejan los parámetros de la muestra final, es decir el polímero biodegradable.

VII. ANÁLISIS Y PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

7.1 Extracción del almidón

Siguiendo los procedimientos detallados en la bibliografía (ISI, 2002), se obtuvo almidón a partir de yuca y papa, con un rendimiento del 6.45% y 4.18% respectivamente; estos datos obtenidos son ligeramente superiores a los reportados por Leiva (2014), pero menores que otros autores (Melian, 2010; Scott, 2000). Los rendimientos obtenidos pudieron verse afectados por la potencia del equipo, el mecanismo de reducción de tamaño o la adición de enzimas, las cuales degradan la pared celular y facilitan la liberación de los gránulos antes de la reducción de tamaño.

El porcentaje de humedad promedio obtenido para ambos almidones, de yuca y de papa, fue de 12.05%. Una mayor humedad en el almidón podría provocar la formación de grumos, debido a la formación de puentes de hidrógeno, entre las ramificaciones de la amilopectina, propio del carácter hidrofílico de los almidones (Adebowale et al, 2002). Así también, según Aristizabal y Sanchez (2007), se favorecen la formación de hongos y levaduras, y se potencian las reacciones indeseables de fermentación.

7.2 Modificación y obtención del polímero biodegradable

7.2.1 Pruebas Preliminares con colágeno

Varios ensayos preliminares fueron realizados para estimar la cantidad adecuada de colágeno en la formulación, ya que cuando ésta superaba el 2% de la mezcla filmogénica, se observaba crecimiento microbiano en la muestra (Figura 13).

Primeramente, se trabajaron cantidades de 5 g, 4 g, 3 g, 2 g de colágeno hasta llegar a los 1 g y 0.5 g; siendo estos últimos los que presentaron los mejores comportamientos en cuanto al crecimiento de microorganismos. De acuerdo a los resultados, se observó que a medida que se bajaba la cantidad de colágeno también el desarrollo de microorganismo disminuía; esto debido a que el colágeno es una fuente de proteína y actúa como nutriente para estos agentes. Asimismo, se debe considerar, la humedad natural propia de la estación climatológica que propició el entorno para su crecimiento.

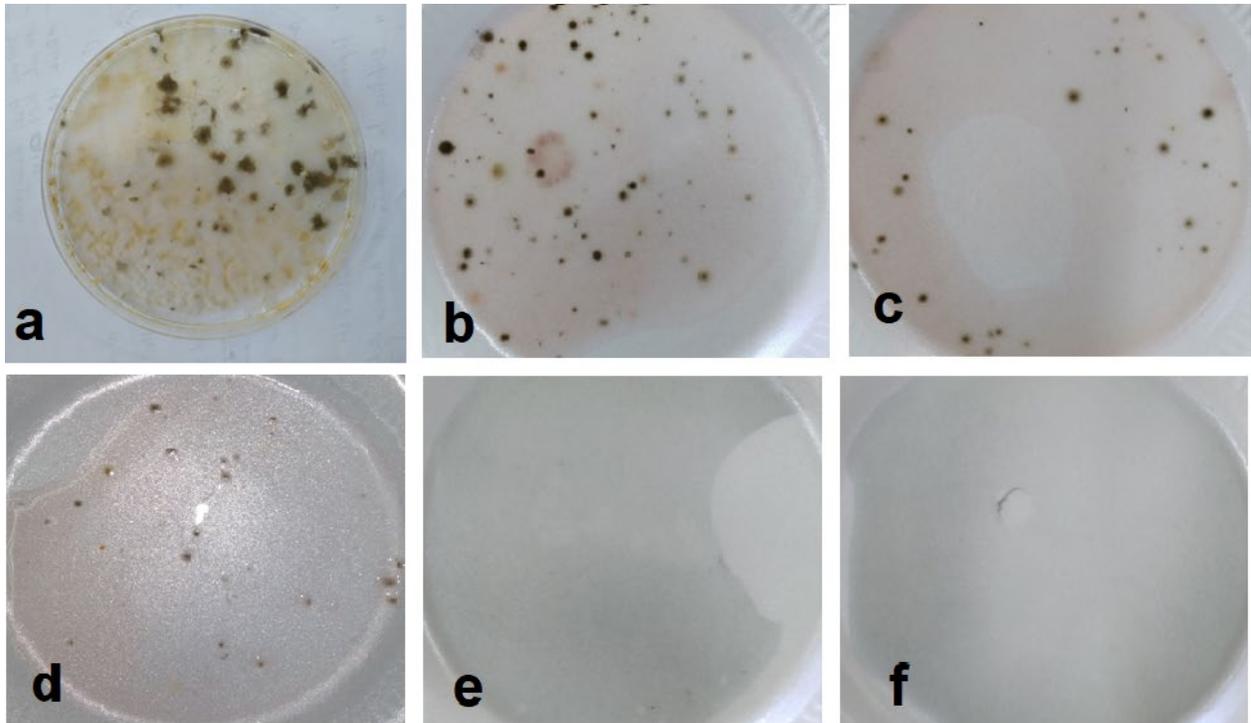


Figura 13. Crecimiento microbiano en las muestras con: (a) 5 g, (b) 4 g, (c) 3 g, (d) 2 g, (e) 1 g y (f) 0.5 g de colágeno.

7.2.2 Efecto de la glicerina en la mezcla filmogénica

Para evaluar el efecto de la glicerina como coadyuvante en la mezcla filmogénica, se llevaron experimentos con y sin glicerina durante la preparación de la mezcla. Los resultados indicaron que la ausencia de un coadyuvante en la mezcla filmogénica original, empleando solamente agua y almidón sin modificar en la formulación inicial, resultaba en un polímero con poca resistencia al esfuerzo de tensión, poca adhesividad, de mayor grosor y una estructura que se tornaba rígida e inflexible a medida que disminuía la humedad (Figura 14).

Es decir, cuando no se modificaba el almidón, la muestra trabajada mostraba un resultado vítreo o cristalizado por lo que se hizo necesario realizar esta etapa. De acuerdo a Rutenberg y Solarek (1984), la modificación del almidón en medio ácido mejora la formación de pastas, aumenta la resistencia mecánica al esfuerzo de tracción, disminuye la tendencia a la retrogradación y se mejora las propiedades de adhesión y de formación de películas.

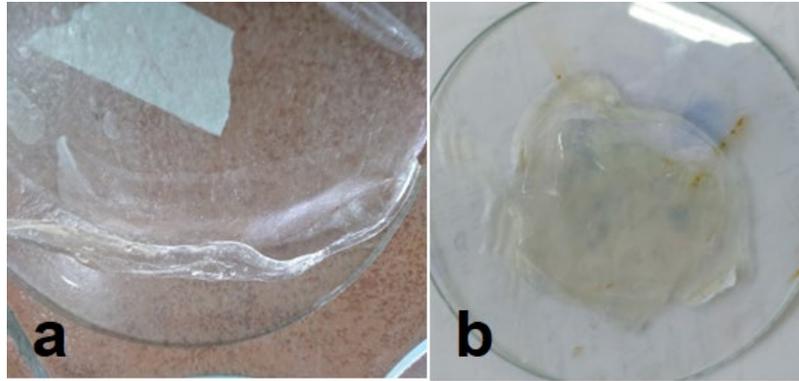


Figura 14. Muestras de películas: (a) mezcla filmogénica de almidón sin modificar, agua y glicerina. (b) Mezcla filmogénica de almidón sin modificar y agua.

Por su parte, en la Figura 15 se muestra el polímero final obtenido usando glicerina como coadyuvante. Se observó que la película presentaba buena resistencia a la elongación, adhesividad, fácil manipulación, flexible, inodoro y translúcido. Debido a la estructura del almidón, la amilosa puede reordenarse y formar nuevos enlaces moleculares, asimismo la amilopectina reemplaza los enlaces existentes entre los aditivos a su alrededor con puentes de hidrógeno (Shrichuwong & Jane, 2007).

La presencia de la glicerina en la mezcla mejora las propiedades deseables en el polímero: adhesión, manipulación, resistencia a la tracción, flexibilidad y porcentaje de humedad (Chandra & Rutsgi, 1998). Los grupos OH^- presentes en la cadena de la glicerina le permiten ser solubles, disminuyendo significativamente la resistencia a la tracción, asimismo, le imparten un carácter hidrofílico a la misma (Fabunmi, Tabil, & Chang, 2004). De acuerdo a Rosales (2016) los mejores resultados para la obtención de la mezcla filmogénica se producen con 5 y 10 ml de glicerina, los cuales fueron usados en el diseño de experimento (Tabla 5). Los mejores resultados para la obtención de la película filmogénica y el polímero en

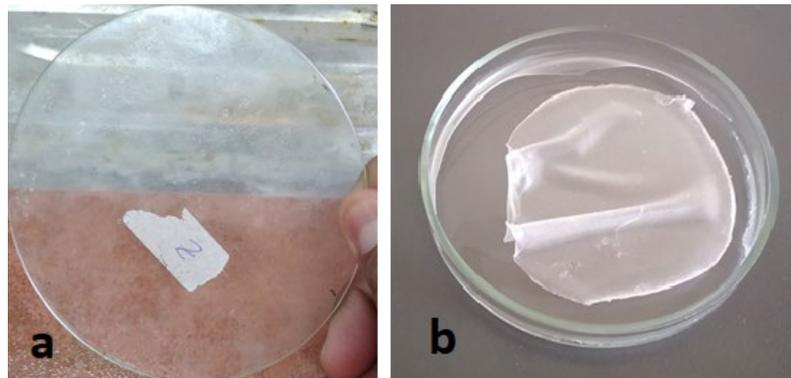


Figura 15. Polímeros obtenidos con glicerina (a) preliminarmente y (b) posteriormente al período de secado.

7.3 Determinación de los parámetros del polímero biodegradable

La Tabla 8 muestra un resumen de los parámetros estudiados de porcentaje de humedad, grosor, densidad, opacidad, permeabilidad al vapor de agua y tensión¹⁴, presentando las medias (o promedios) obtenidos de las réplicas para cada variable del diseño experimental, según los tratamientos. En el caso de la degradación en diferentes ambientes, su comportamiento se aborda –para cada entorno al que fue sometido– en la sección 7.4.7.

Los resultados indican que el %Humedad, para los diferentes polímeros, está en un rango de 22.8% al 34.9%; observándose que, para el caso del uso de colágeno, el % Humedad disminuye al aumentar la cantidad del coadyuvante. (Slade & Levine, 1993), reportan que el contenido de humedad es importante debido al efecto antiplastificante de los polímeros que influye en las interacciones polímero-polímero y consecuentemente en las propiedades fisicoquímicas y funcionales de las películas durante el procesamiento y almacenamiento.

En el caso del grosor de las películas de los polímeros, este está en un rango de 0.205 y 0.345 mm; observando que, en la mayoría de los casos, el grosor de las películas provenientes del almidón de papa era menor que aquellos obtenidos a partir del almidón de yuca. Por su parte, la densidad de las películas de los polímeros está en un rango de 1.264 y 1.574 g/cm³. Las densidades de las muestras fueron ligeramente superiores a lo reportado por Rosales (2016) y Holguín (2019); similares a lo obtenido por Trujillo (2014) y más altas que las obtenidas por la combinación almidón– alcohol polivinílico reportado por Lacourse & Altieri (1991).

Los resultados también indican que la opacidad a 500 nm de las películas de los polímeros se encuentra en un rango de 241.7 y 365.8; observándose que, para todos los casos, con el aumento de la cantidad de glicerina incrementa la opacidad. Paschoalick et al (2003) mencionan que este comportamiento se debe al efecto de dilución. Estos resultados difieren con los encontrados por Sobral et al. (2004) quienes observaron que la opacidad de las películas disminuyó con el aumento de la concentración de glicerina. Por su parte, Oliveria (2009) menciona que la interacción almidón y proteína (colágeno) reduce el porcentaje de opacidad.

En el caso de la permeabilidad de las películas de los polímeros, los rangos encontrados fueron entre 0.033 y 0.074 $\frac{g \cdot mm}{h \cdot m^2 \cdot KPa}$. Los resultados obtenidos fueron muy inferiores a los reportados por Bastioli y Facco (2001), quienes obtuvieron valores entre 0.3125 y 1.75 $\frac{g \cdot mm}{h \cdot m^2 \cdot KPa}$.

¹⁴La flexibilidad se menciona en la sección anterior.

Tabla 8. Resumen de los resultados experimentales del polímero

Película Polimérica (Muestra)	Tipo almidón	Plastificante	Coadyuvante	Humedad (%)	Grosor (mm)	Densidad (g/cm ³)	Opacidad A 500nm	Permeabilidad $\frac{g \cdot mm}{h \cdot m^2 \cdot KPa}$	E. tensión (MPa)
		Glicerina (mL)	Colágeno (g)						
A	papa	5	1.0	20.430	0.205	1.356	301.9	0.033	5.801
B	papa	5	0.5	22.825	0.210	1.574	241.7	0.036	3.437
C	papa	10	1.0	23.873	0.325	1.264	306.9	0.072	1.352
D	papa	10	0.5	34.901	0.235	1.371	296.5	0.065	1.233
E	yuca	5	1.0	25.648	0.335	1.372	251.2	0.047	3.459
F	yuca	5	0.5	27.409	0.345	1.438	259.1	0.052	3.339
G	yuca	10	1.0	23.027	0.290	1.439	351.0	0.074	1.096
H	yuca	10	0.5	29.526	0.255	1.414	365.8	0.070	0.605

Por su parte, los rangos encontrados para el Esfuerzo a la tensión fueron de 0.605 y 5.801 MPa. Estos resultados fueron similares a los reportados por Trujillo (2014), los cuales estuvieron en el rango entre 0.171 y 7.761 MPa, y menores que lo observado por Trimnel (1996), de 20 a 30 MPa.

7.4 Variables respuestas

En esta sección se presentan el ANOVA y los gráficos de Pareto, interacción y efectos principales de los resultados obtenidos para cada uno de los parámetros abordados en la sección 6.4.4.

7.4.1 Porcentaje de humedad

En el análisis de varianza realizado para el porcentaje de humedad de las muestras, (Figura 16a), existen 4 efectos significativos con valor-p menores que 0.05: glicerina (factor B), colágeno (factor C), relación almidón-glicerina (AB), y la relación glicerina-colágeno (BC). Siendo el colágeno y la glicerina los factores que más relevancia significativa presentan en el porcentaje de humedad, a diferencia del almidón, el cual no tiene relevancia significativa al igual que la relación almidón-colágeno y la relación almidón-glicerina-colágeno.

De acuerdo a lo presentado en la Figura 16b, la glicerina (factor B) es uno de los factores que inciden en la respuesta; es decir, se presenta más humedad a mayor cantidad de plastificante, caso contrario al efecto del colágeno (factor C). Este último factor tiene un efecto similar a las interacciones almidón-glicerina (AB) y glicerina-colágeno (BC), aunque el efecto es más significativo.

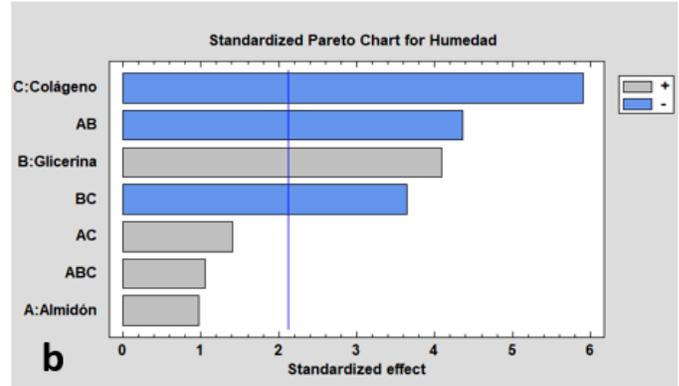
Los principales efectos en el porcentaje de humedad son verificados en la Figura 16c. El tipo de almidón tiene poca incidencia (la papa muestra un desempeño ligeramente mayor); mayores dosis de glicerina (10 mL) inciden en el aumento de la humedad final. Sin embargo, 0.5 g de colágeno tienen mayor efecto que 1.0 g.

Los gráficos de interacción (Figura 16d) muestran que no existe interacción entre los otros factores, excepto y levemente, entre el almidón y la glicerina. El comportamiento de estos factores depende uno del otro: tanto para el almidón de papa como para el almidón de yuca (excepto cuando se usa 1 g de colágeno), la variable respuesta (porcentaje de humedad) disminuye su valor cuando la glicerina está en su nivel inferior (5 mL) pero aumenta cuando está en su nivel superior (10 mL).

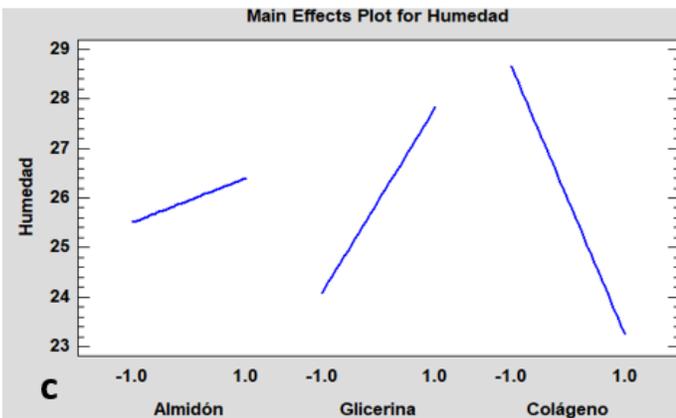
Analysis of Variance for Humedad

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
A:Almidón	4.80794	1	4.80794	0.95	0.3443
B:Glicerina	84.5551	1	84.5551	16.70	0.0009
C:Colágeno	176.302	1	176.302	34.83	0.0000
AB	96.2642	1	96.2642	19.02	0.0005
AC	9.9975	1	9.9975	1.97	0.1791
BC	67.0405	1	67.0405	13.24	0.0022
ABC	5.68621	1	5.68621	1.12	0.3050
Total error	80.9996	16	5.06247		
Total (corr.)	525.653	23			

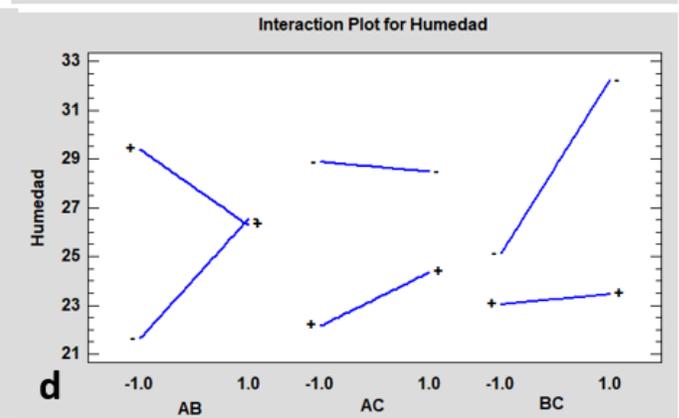
a



b



c



d

Figura 16. Humedad resultante del polímero: a. Análisis de Varianza. b. Diagrama de Pareto. c. Gráfico de Efectos Principales. d. Gráfico de Interacción.

7.4.2 Grosor del polímero

En el análisis de varianza del grosor de las muestras (Figura 17a) revela 4 efectos significativos con valor-p menores que 0.05: el almidón (factor A), el colágeno (factor C), la relación almidón-glicerina (AB), glicerina-colágeno (BC). La glicerina no tiene relevancia significativa, caso contrario al tipo de almidón y al colágeno, que sí contribuyen al grosor del polímero.

De manera similar, según el diagrama de Pareto (Figura 17b), el factor A (almidón) y C (colágeno) son los que inciden positivamente en la respuesta; es decir, a mayores cantidades de plastificantes mayor grosor. La relación glicerina-colágeno (BC) también tiene una incidencia, levemente mayor que el factor C, en el parámetro. Por otro lado, la relación almidón-glicerina (AB) presenta un comportamiento antagónico: hay una tendencia de menor grosor en la muestra mientras mayor sea esta relación.

Los principales efectos en el grosor son verificados en la Figura 17c: el tipo de almidón (factor A) tiene la mayor incidencia positiva, particularmente el que procede de la papa; de igual forma, 1.0 g de colágeno (factor C) tienen mayor efecto que 0.5

g. Sin embargo, las dosis de glicerina no inciden prácticamente en el aumento o disminución de este parámetro.

Los gráficos de interacción (Figura 17d) muestran que si hay interacciones entre el almidón-glicerina (AB) y glicerina-colágeno (BC). En el primer caso, la mayor incidencia se presenta a menores cantidades de glicerina (nivel bajo, 5 mL) y se vuelve opuesta a un nivel mayor (10 mL) cuando es almidón procedente de la papa y yuca, respectivamente. En el segundo caso, existe una incidencia negativa en el nivel menor del colágeno (0.5 g) y una incidencia positiva en el nivel mayor (1.0 g.) para los almidones de papa y yuca, respectivamente.

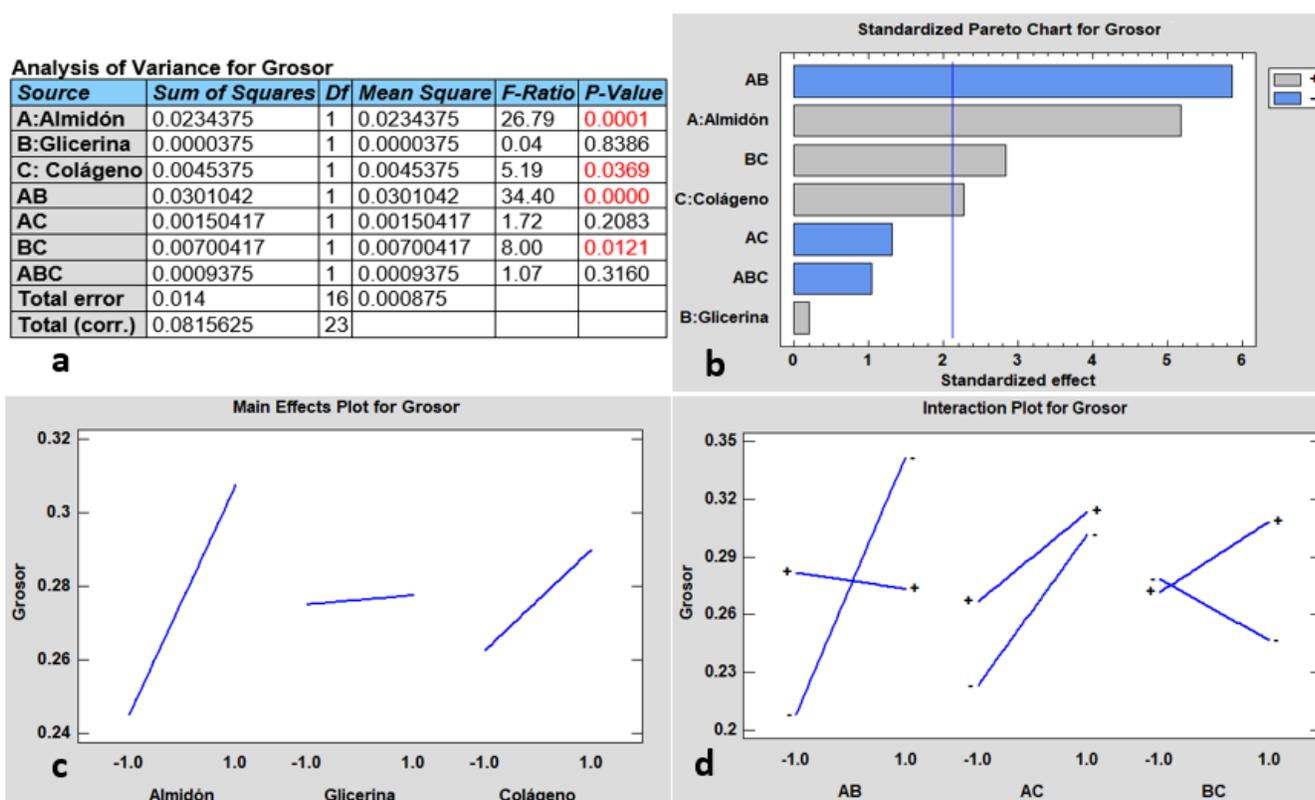


Figura 17. Grosor resultante del polímero: **a.** Análisis de Varianza. **b.** Diagrama de Pareto. **c.** Gráfico de Efectos Principales. **d.** Gráfico de Interacción.

7.4.3 Densidad

El análisis de varianza de la densidad (Figura 18a) muestra que no existen efectos significativos a considerar, siendo el colágeno (factor C) el factor que más se acerca al nivel de significancia en comparación con la glicerina (factor B) y el almidón (factor C). No obstante, la relación de ambas (AB) es próxima al margen de aceptación; por lo que no hay que descartar su incidencia.

Este comportamiento de las variables, es complementado por el diagrama de Pareto (Figura 18b) donde no es observable ninguna incidencia de los factores ni sus relaciones. Aun así, el colágeno (factor C) y la glicerina (factor B) presentan una incidencia negativa en cuanto a la densidad, tampoco hay que descartar la importancia de la relación AB (almidón–glicerina) y AC (almidón–colágeno) en el aumento de la densidad del polímero.

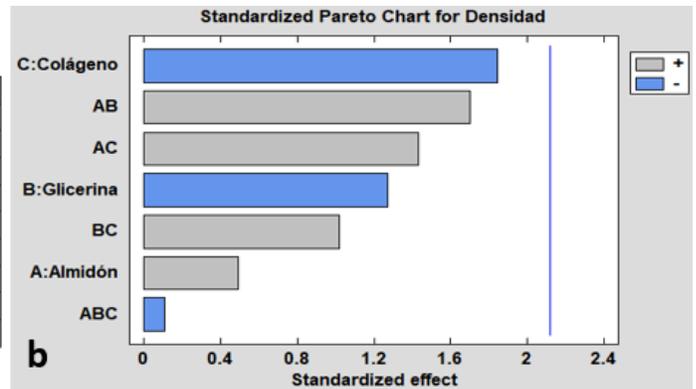
Los principales efectos de la Figura 18c confirman que la densidad se ve mayormente afectada por los factores B (glicerina) y C (colágeno): a mayores cantidades, menores densidades. En el caso del factor A (almidón), el efecto en la variable respuesta es positivo, pero sin variaciones considerables.

Asimismo, los gráficos de interacción de la Figura 18d muestran una sola interacción con dependencia una de la otra entre los factores: la variable respuesta (densidad) aumenta su valor cuando la glicerina está en su nivel mayor (10 mL) pero disminuye cuando está en su nivel menor (5 mL), para el almidón de papa y el almidón de yuca respectivamente. Adicionalmente, el efecto del colágeno en la densidad, se hace más evidente (de forma negativa) en su menor nivel (0.5 g) cuando interactúa con la glicerina y en su mayor nivel (1.0 g) con el almidón.

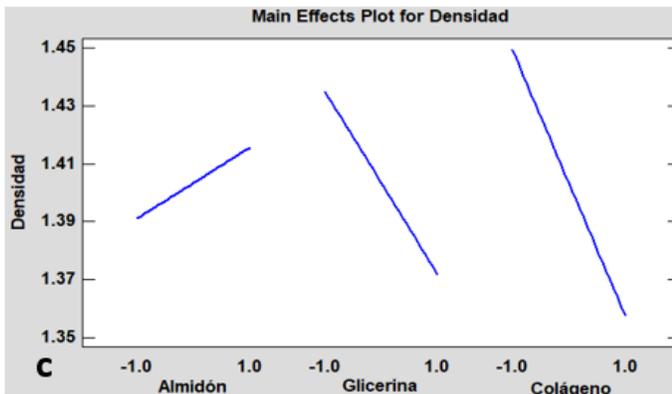
Analysis of Variance for Densidad

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
A:Almidón	0.0036015	1	0.0036015	0.24	0.6284
B:Glicerina	0.0239402	1	0.0239402	1.62	0.2214
C:Colágeno	0.0504167	1	0.0504167	3.41	0.0834
AB	0.0428415	1	0.0428415	2.90	0.1081
AC	0.030246	1	0.030246	2.05	0.1719
BC	0.0154027	1	0.0154027	1.04	0.3226
ABC	0.000170667	1	0.000170667	0.01	0.9158
Total error	0.236609	16	0.014788		
Total (corr.)	0.403228	23			

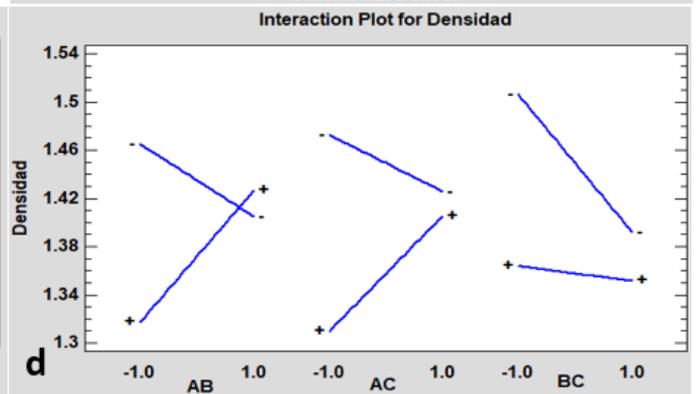
a



b



c



d

Figura 18. Densidad resultante del polímero: a. Análisis de Varianza. b. Diagrama de Pareto. c. Gráfico de Efectos Principales. d. Gráfico de Interacción.

7.4.4 Opacidad

Se observa en el análisis de varianza realizado para la opacidad de la muestra (Figura 19a) que existen un solo efecto significativo con valor p menor que 0.05: la glicerina (factor B); caso contrario al almidón (factor A) y colágeno (factor C). Por su parte, el diagrama de Pareto (Figura 19b) verifica al factor B (glicerina) como el de incidencia (positiva) significativa en la muestra final. Cabe mencionar que el segundo efecto más cercano, pero no significativo, proviene de la relación AB (almidón–glicerina).

Los principales efectos en el grosor son verificados en la Figura 19c: siendo la glicerina (factor B) la de mayor efecto: mayores dosis inciden en un aumento de la opacidad final; análogamente, 0.5g de colágeno (factor C) tienen mayor efecto que 1.0g., aunque es mucho menor. El almidón (factor A) de yuca aumenta más la opacidad, en comparación a la papa.

Los gráficos de interacción (Figura 19d) muestran que existen dos interacciones importantes entre los factores almidón–colágeno (AB) y glicerina–colágeno (BC). El comportamiento AC es antagónico: la variable respuesta (opacidad) aumenta su valor cuando el colágeno está en su nivel menor (0.5 g) pero disminuye lentamente cuando está en su nivel mayor (1.0 g) para el almidón de papa y

el almidón de yuca, respectivamente. Independientemente de los niveles del colágeno, para el caso de la interacción BC, la opacidad se verá mayormente influenciada mayoritariamente por el contenido de la glicerina.

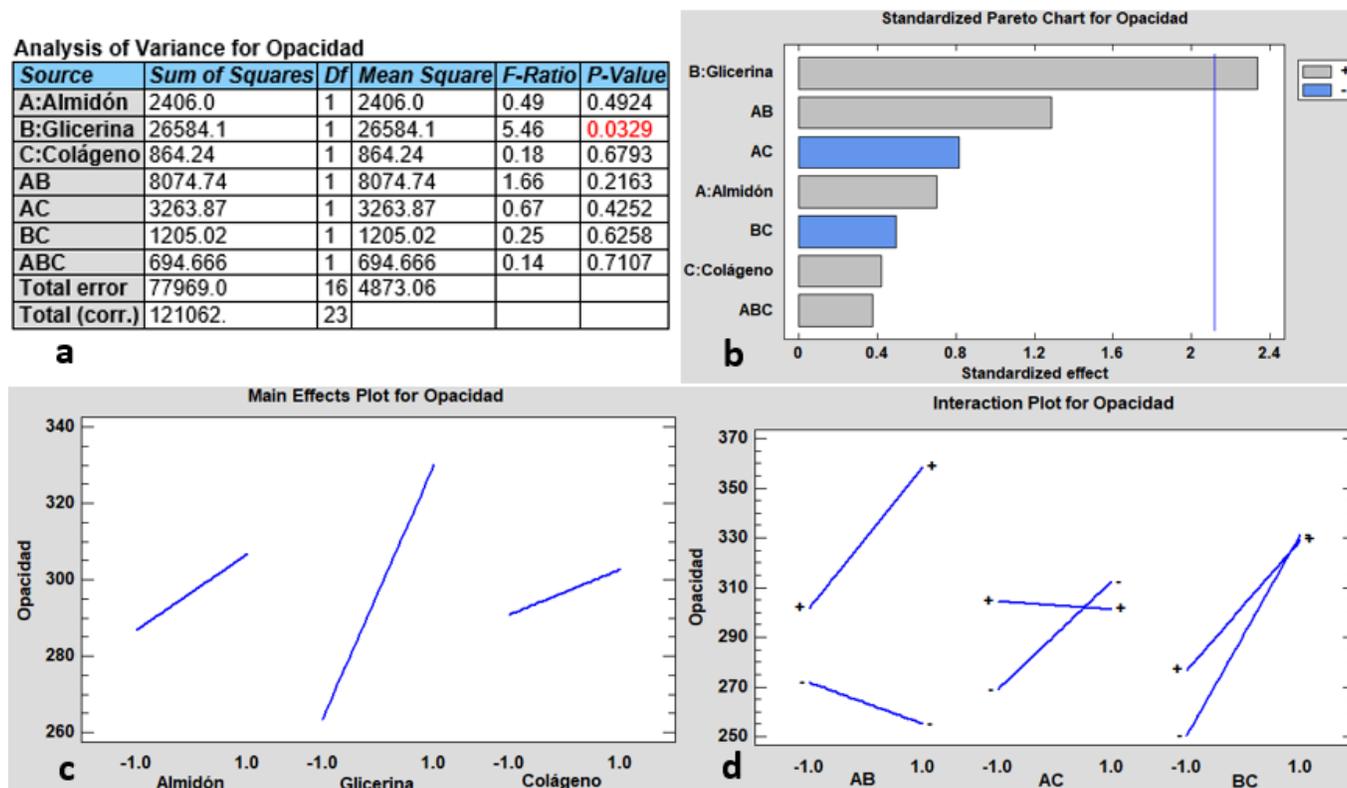


Figura 19. Opacidad resultante del polímero: **a.** Análisis de Varianza. **b.** Diagrama de Pareto. **c.** Gráfico de Efectos Principales. **d.** Gráfico de Interacción.

7.4.5 Permeabilidad al vapor de agua

Según los datos registrados en la Tabla 6, la Película Polimérica **A** (almidón de papa + 5 mL glicerina + 1 g colágeno) fue la que obtuvo el mejor desempeño con respecto a la permeabilidad al vapor de agua, seguida de la Película Polimérica **B** (almidón de papa + 5 mL de glicerina + 0.5 g de colágeno) (Figura 20).

En un lapso de 10 días, se observó menor pérdida de masa del recipiente que contenía la Película Polimérica **A** (pendiente más suave), en comparación con las demás. Esto indica que la Película Polimérica presentó mayor resistencia a ser permeada por el vapor de agua. Al contrario, la Película Polimérica **H** (almidón de yuca + 10 mL glicerina + 0.5 g de colágeno) mostró la mayor permeación; esto es, presentó la mayor variación de peso.

En la Figura 21 se muestra la comparación de la pérdida de masa en las muestras debido a la permeabilidad del vapor de agua. Estos resultados indican que las

mayores variaciones de masa (pérdida de peso) de los recipientes con las muestras, fueron las Películas Poliméricas C, D, G y H. Caso contrario sucedió con las menores dosis de glicerina en la formulación de las Películas Poliméricas A, B, E y F, donde se presentaron las menores variaciones de masa. Esto hace indicar el efecto directo de la dosificación de glicerina con la permeación, ya que al aumentar la dosis de glicerina hay mayor pérdida de peso.

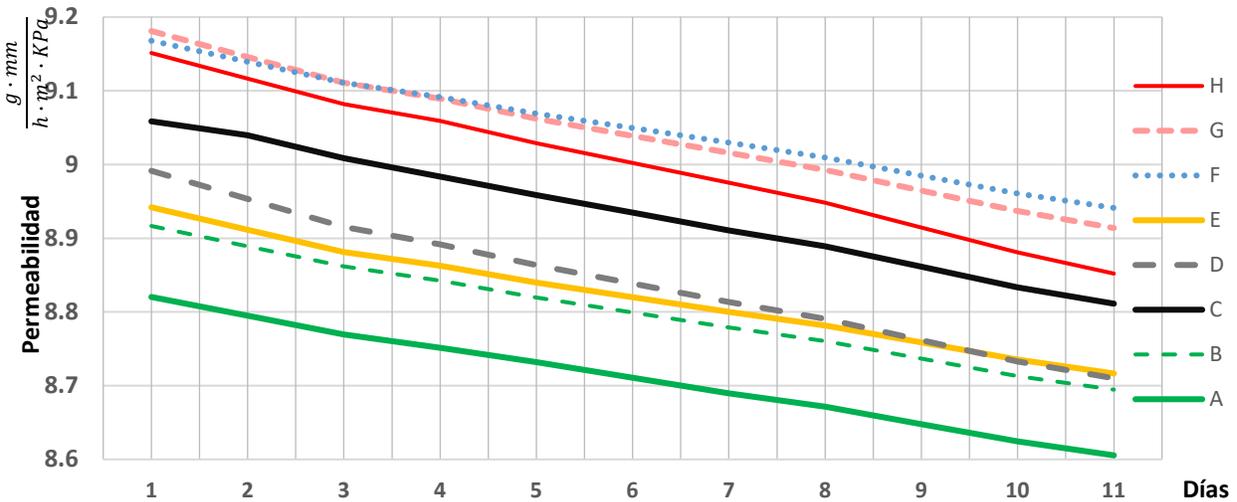


Figura 20. Permeabilidad de las muestras respecto al tiempo.

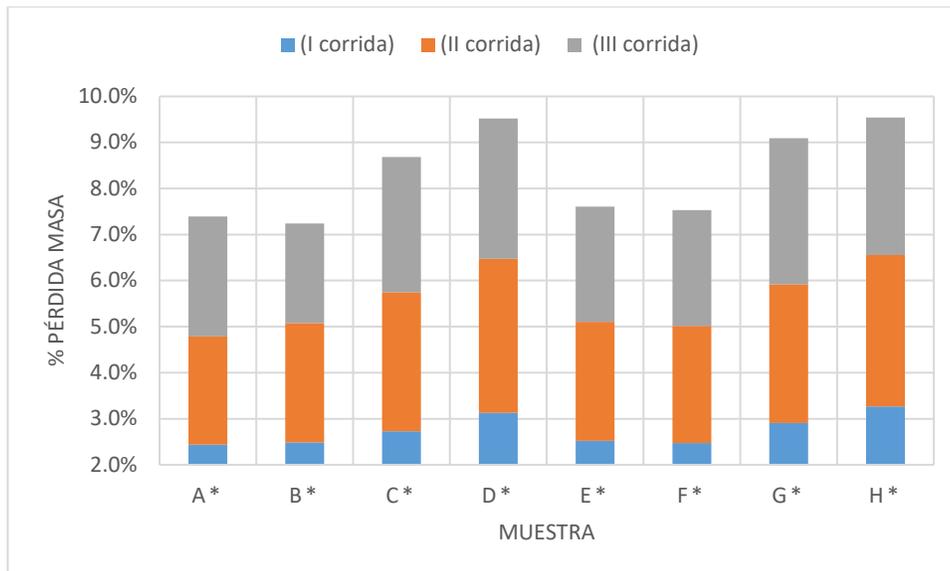


Figura 21. Comparación de la pérdida de masa en las muestras debido a la permeabilidad del vapor de agua.

El análisis de varianza (Figura 22a) indica que dos factores presentan un valor-p menor que 0.05: la glicerina (factor B) y el almidón (factor A); y por lo tanto, son los

que tienen efecto significativo en la permeabilidad al vapor de agua. Particularmente, la relación (AB) también tiene un efecto en el resultado. Por otro lado, El diagrama de Pareto (Figura 22b) muestra el efecto importante y de forma holgada del factor B (glicerina) en la variable en mención: mayores dosis implican una mayor permeabilidad al vapor de agua. Similar comportamiento tiene el almidón. Por su parte, la relación AB, en conjunto, tiene un efecto adverso a la permeación (próximo al umbral de aceptación).

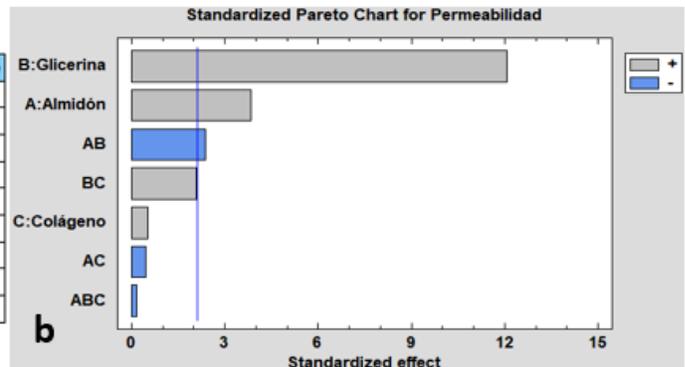
Todos los factores presentan efectos positivos en la permeabilidad (Figura 22c) siendo la glicerina (factor B) el de mayor influencia, el almidón (factor A) de yuca comportándose mejor que el de papa, y el colágeno (factor C) con un menor impacto en el parámetro en mención. De acuerdo a Cuq et al. (2007), la interacción que la glicerina logra con la proteína, provoca mayor migración del vapor de agua.

Los gráficos de la Figura 22d indican interacciones entre AC y BC, siendo este último más relevante para la muestra. La primera interacción tiene un comportamiento muy similar: aumentar o disminuir la cantidad de glicerina y colágeno no cambian mucho el efecto esperado. 1.0 g del factor C (colágeno) tiende a que el polímero sea más permeable en comparación a 0.5 g del mismo, ya sea el almidón de papa o el almidón de yuca. En resumidas cuentas, sin importar los niveles, los factores tendrán un comportamiento similar en la permeabilidad de la muestra.

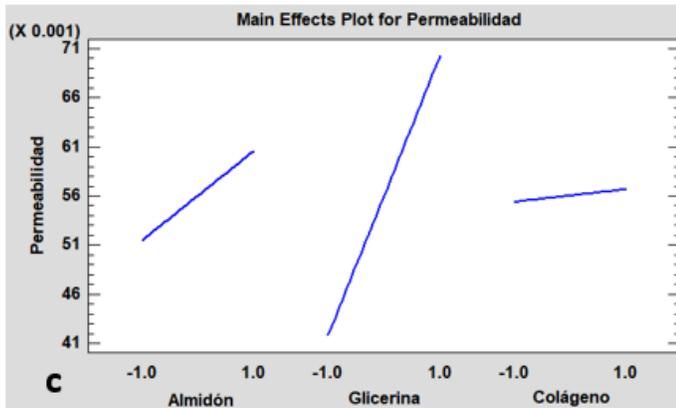
Analysis of Variance for Permeabilidad

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
A:Almidón	0.000495042	1	0.000495042	14.85	0.0014
B:Glicerina	0.00484504	1	0.00484504	145.35	0.0000
C:Colágeno	0.000009375	1	0.000009375	0.28	0.6032
AB	0.000187042	1	0.000187042	5.61	0.0308
AC	0.00000704167	1	0.00000704167	0.21	0.6520
BC	0.000145042	1	0.000145042	4.35	0.0534
ABC	0.00000104167	1	0.00000104167	0.03	0.8619
Total error	0.000533333	16	0.0000333333		
Total (corr.)	0.00622296	23			

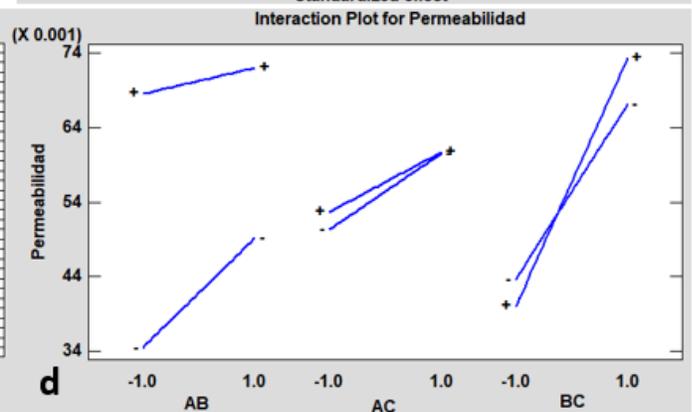
a



b



c



d

Figura 22. Permeabilidad resultante del polímero: a. Análisis de Varianza. b. Diagrama de Pareto. c. Gráfico de Efectos Principales. d. Gráfico de Interacción.

7.4.6 Esfuerzo de Tensión

El esfuerzo de tensión se ve significativamente influenciado por la glicerina (factor B), como lo muestra la Figura 23a del análisis de varianza; caso contrario al almidón (factor A) y colágeno (factor C). Esto es verificable en el diagrama de Pareto (Figura 23b) donde el factor B incide de manera negativamente en la muestra final: menor esfuerzo de tensión a mayor cantidad de plastificante. Es de mencionar, que el segundo efecto más cercano, pero no significativo, proviene del almidón.

Los principales efectos en la variable de respuesta se presentan en la Figura 23c: verifican sobradamente el efecto marcado de la glicerina (factor B) en la muestra; cuando el almidón es de yuca (factor A), incide de forma negativa en el esfuerzo de tensión; pero ocurre lo contrario cuando hay mayores dosis de colágeno (factor C) presentes (es un comportamiento ligeramente positivo).

El gráfico de interacción (Figura 23d) muestran que no existen interacción importante que pudiera incidir en las muestras; el esfuerzo de tensión se comportará de manera similar tanto en los niveles inferiores (almidón de papa, 5 mL glicerina y 0.5 g de colágeno) como en los superiores (almidón de yuca, 10 mL glicerina y 1.0 g de colágeno).

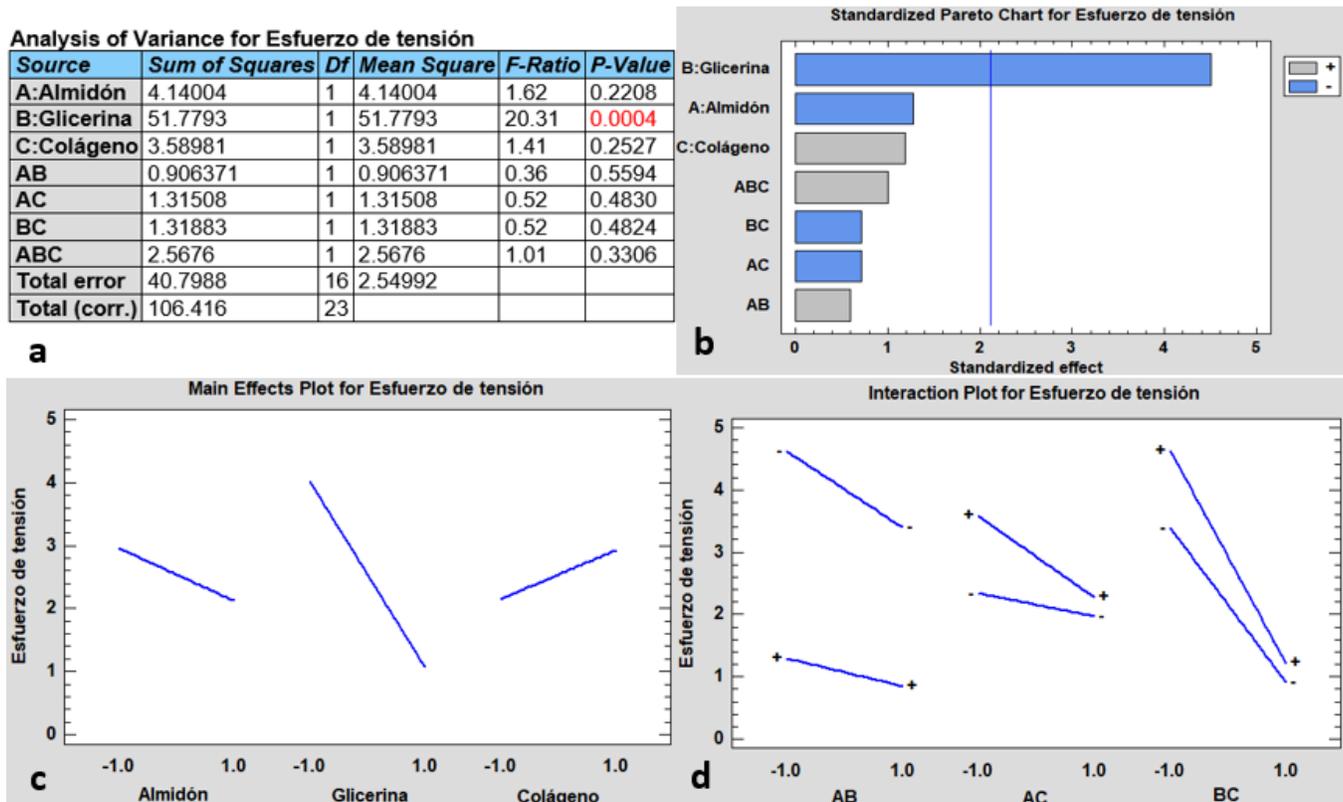


Figura 23. Esfuerzo de tensión resultante del polímero: **a.** Análisis de Varianza. **b.** Diagrama de Pareto. **c.** Gráfico de Efectos Principales. **d.** Gráfico de Interacción.

7.4.7 Tiempo de degradación en diferentes ambientes

La degradación del polímero mostró el mismo comportamiento en los entornos en que se encontraban, sin diferencias estadística significativas que pudieran ser abordadas en esta parte (Anexo A.10). La Figura 24 muestra un resultado general del polímero en los 3 ambientes distintos: acuoso, soleado y soterrado. La Tabla 9 resume el tiempo que le tomó a cada muestra degradarse. Se debe observar que los intervalos de tiempo son similares en cuanto a los comportamientos degradativos de cada una de las muestras.

En medio acuoso, al polímero le tomó de 15 a 17 días degradarse completamente. El medio le proporciona mayor interacción solvente-muestra. La muestra lentamente se fragmenta en partes más pequeñas en la disolución acuosa.

La actividad de los microorganismos está estrechamente relacionada con la presencia de agua. El suministro de nutrientes a los microorganismos y el transporte de enzimas y metabolitos excretados se realizan por difusión en un medio acuoso que rodea a las células (Calmon-Decriaud et al., 1998). Según Tsuji (2002) la temperatura tiene un efecto significativo en la degradación, en la mayoría de los casos las mayores pérdidas de peso se obtienen a 30°C, excepto en agua dulce con máxima degradación a 40°C (solo superado por los lodos de desechos residuales, debido a un entorno de alta actividad microbiana). Manna & Paul (2000) reportaron desintegración total de un polímero biodegradable a 200 días de incubación.

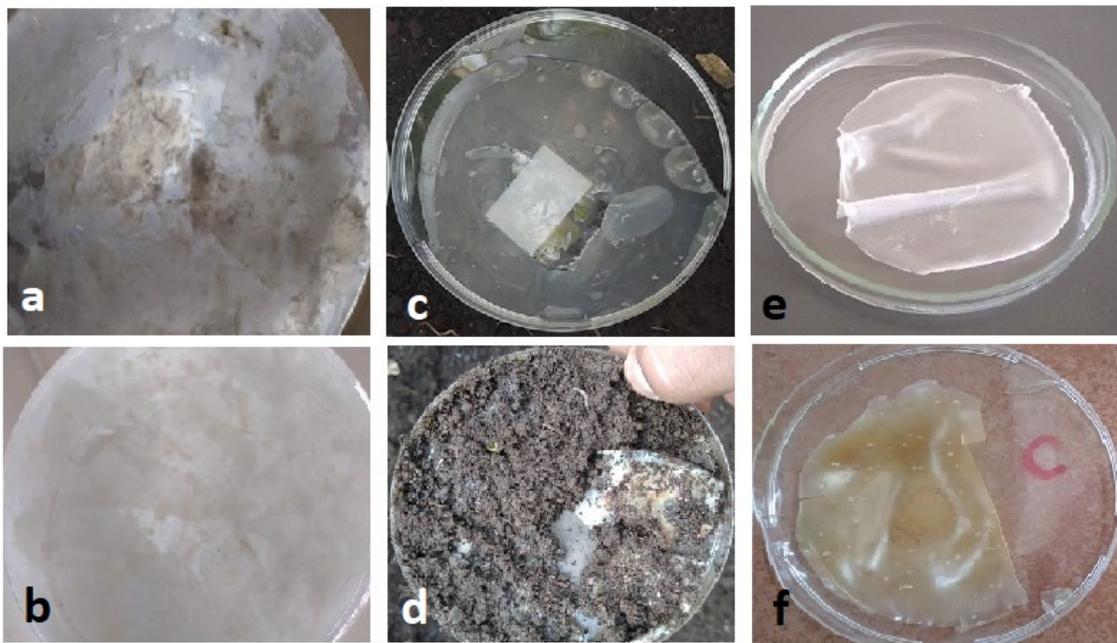


Figura 24. Comportamiento de las muestras del polímero en diferentes ambientes: acuoso: a) antes y b) después, soterrado: c) antes y d) después, soleado: e) antes y f) después.

Tabla 9. Tiempos de biodegradabilidad del polímero a diferentes entornos

Película Polimérica Muestra	Tiempo promedio degradación (días) en distintos ambientes		
	Acuoso	Soterrado	Soleado
A	15 – 17	7 – 8	41 – 50
B	15 – 17	7 – 8	41 – 50
C	15 – 17	7 – 8	41 – 50
D	15 – 17	7 – 8	41 – 50
E	15 – 17	7 – 8	41 – 50
F	16 – 18	7 – 8	41 – 50
G	15 – 17	7 – 8	41 – 50
H	15 – 17	7 – 8	41 – 50

No obstante, en un entorno mucho mayor, como un lago, por ejemplo, la biodegradación diferirá significativamente a los reportado, relacionado principalmente con las diferencias en el tipo y la concentración de la población microbiana; pero también con las características de difusión de las enzimas que biodegradan (Imam et al., 1999).

Las investigaciones de bioplásticos (no solubles) en ambientes acuosos son limitadas. Esto se debe a la aplicación preferencial de plásticos biodegradables como materiales de embalaje (que se degradan en el compost) o en la agricultura (donde la degradación se produce en el suelo).

Cuando la muestra es soterrada, *la humedad del medio y los microorganismos aceleran el proceso de descomposición*, tomándole a la muestra un máximo de 8 días, esto es confirmado por AATC (1999), que después de 24h, 28°C comenzaron a observar la rápida degradación del polímero. Al ser un carbohidrato de origen natural, la flora bacteriana e insectos del suelo, comienzan a alimentarse y degradar el polímero (European Bioplastic, 2021). La literatura indica una gran variabilidad que tiempo que van desde 6 días (Dalev et al., 2002) hasta 360 días (Okada, 1999).

De acuerdo a varios estudios, los factores que propician la degradación en el suelo son las propiedades de éste (textura, estructura), fisicoquímica (minerales, intercambio catiónico, materia orgánica, agua, pH, contenido de gas) y las propiedades biológicas (Mergaerth, 1993; Müller, 2001; Signh, 2000). Anderson (1989) y Wesnigk (2000) mencionan que almacenar suelos húmedos dentro de un laboratorio a temperatura ambiente, causa pérdida de la biomasa microbiana y baja considerablemente el potencial degradativo del suelo para la biodegradabilidad. Además, los procesos de degradación abiótica también pueden ser estimulados por la temperatura, lo que conduce a una disminución del peso molecular y provoca fragilidad. Esto puede causar un aumento local de la biodegradabilidad.

La exposición directa a la radiación solar hace que la muestra experimente una especie de transición vítrea, propia de los almidones, entre los 41 a 50 días, como

resultado de la fotodegradabilidad polimérica. Se rompen los enlaces moleculares del almidón, los grupos –C– y los grupos –O– presentes en la estructura. Comportamiento análogo a los plásticos comunes, cuando sufren el proceso oxidativo al estar expuestos al directamente al sol (Shrichuwong & Jane, 2007). El efecto típico de la radiación UV es promover reacciones fotoquímicas que causan oxidación y disminuyen el peso molecular (MW) del polímero (Scott, 1997). Esto, a su vez, provoca una disminución de las propiedades mecánicas y posiblemente un aumento de la biodegradabilidad. Yabannavar y Bartha (1995) expusieron el polímero hasta por un período de 6 y 12 semanas.

Se requiere que la muestra tenga una baja humedad, un grosor que permita su fácil manipulación (delgado o bajo grosor), con buena transparencia (baja opacidad), baja permeabilidad y resistente a la ruptura (alto esfuerzo de tensión). La formulación que mejor desempeño presentó fue el polímero obtenido a partir de almidón de papa, con 5.0mL de glicerina y 1.0g de colágeno.

En términos generales, el suelo contiene la mayor carga microbiana, responsable directa de los efectos degradativos; el entorno acuoso presenta menor cantidad de estos agentes. Finalmente, la radiación solar destruye los enlaces moleculares del almidón en un tiempo mayor a los otros dos entornos.

Los tres entornos en los que se dejó reposar la muestra, propician y evidencian la degradación natural de la misma, siendo el suelo el que más favorece este proceso.

7.5 Efecto microbiológico del Polímero Biodegradable en el Queso

Para llevar a cabo este estudio se consideraron los parámetros de baja permeabilidad y mayor valor en el esfuerzo de tensión de dos Películas Poliméricas. Donde el parámetro más importante es la permeabilidad, ya que si esta es baja indica una porosidad importante y por lo tanto, una ausencia de barrera. Por otro lado, si la permeabilidad es alta hay un aumento de la microporosidad en el material, provocando contaminación microbiana e ingreso de agua (aumento de la actividad del agua) haciendo inutilizable el material. Con respecto al Esfuerzo a la tensión, bajos valores indican un rápido agrietamiento de la estructura.

De acuerdo a las consideraciones descritas en el párrafo anterior, las Películas Poliméricas que presentaron mejores valores en el Esfuerzo de Tensión y menores valores en la Permeabilidad fueron la **Película A** (almidón de papa + 5 mL glicerina + 1 g colágeno) y la **Película B** (almidón de papa + 5 mL de glicerina + 0.5 g de colágeno). Las otras películas no se consideraron debido a que presentaban una mayor permeabilidad y menor resistencia a la tensión.

7.5.1 Conteo de Aerobios Mesófilos

Los resultados del conteo de aerobios mesófilos antes y después de 1 semana de incubación de tres muestras de queso seco (una muestra de queso sin recubrir, una segunda muestra de queso recubierta con la Película Polimérica A y una tercera muestra de queso recubierta con la Película Polimérica B) se presentan en la Figura 25.

En la figura 25 se observó que el crecimiento microbiano presente en la superficie del alimento recubierto con las películas poliméricas A (imagen c y d) y B (imagen e y f) es significativamente menor a la superficie expuesta del queso sin recubrir (imagen a y b).

En el caso de las muestras de queso sin recubrimiento se observan que las unidades formadoras de colonias exceden el conteo (incontables); mientras que en el caso de las muestras de queso recubiertas se observa un bajo recuento de 200 UFC/cm², cuando se usa la película polimérica A y de 500 UFC/cm², cuando se usa la película polimérica B.

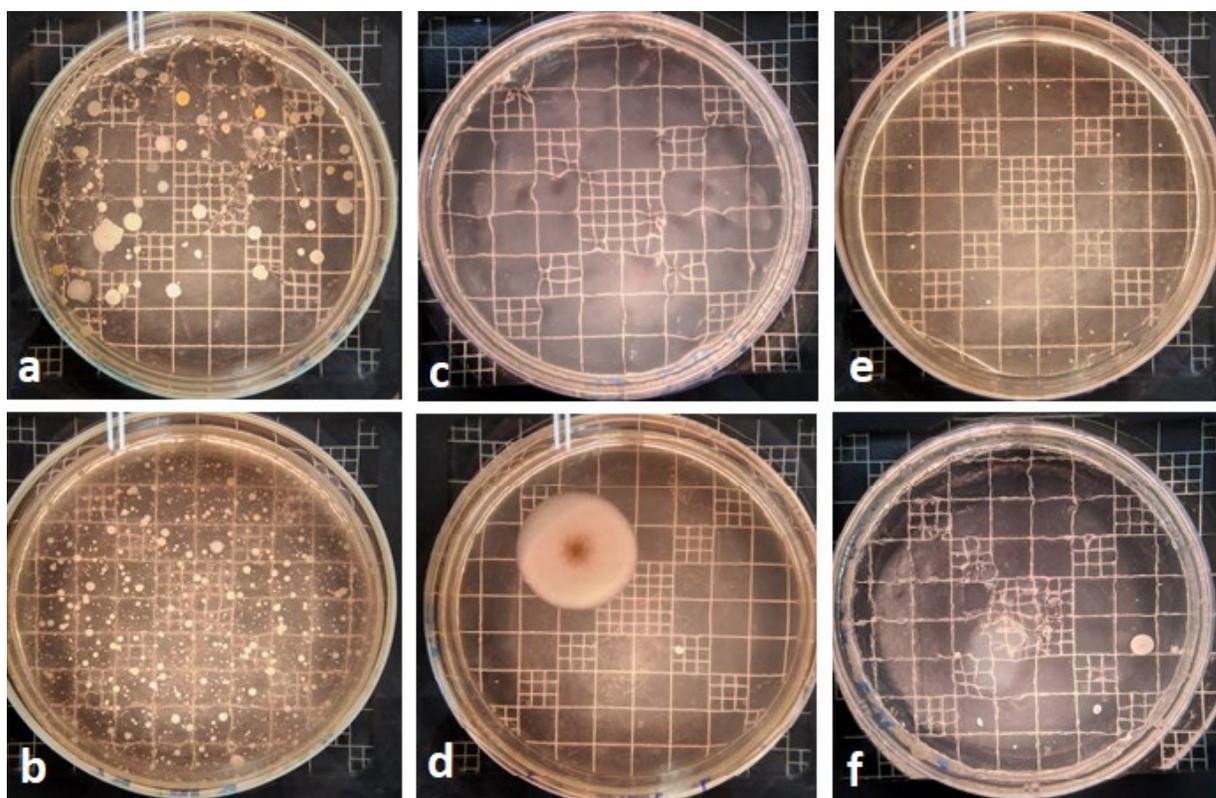


Figura 25. Crecimiento del conteo total de aerobios mesófilos: muestra sin recubrimiento (a) antes y (b) después de 1 semana de incubación; muestra con película polimérica A (c) antes y (d) después de una semana de incubación a una dilución de 1×10^2 ; muestra con película polimérica B (e) antes y (f) después de una semana de incubación a una dilución de 1×10^2 .

7.5.2 Detección y enumeración de Coliformes

Los resultados del conteo de coliformes totales antes y después de 1 semana de incubación se indican en la Figura 26. En el primer caso (a y b) se observan muchas unidades formadoras de colonias, >100 UFC/cm², correspondientes a las muestras de queso que no fueron recubiertas con el polímero biodegradable, repercutiendo en el vida útil del producto.

En el segundo caso, donde las muestras de queso fueron recubiertas con los polímeros biodegradables A y B, se observa que el crecimiento microbiano presente en la superficie del alimento recubierto (c, d, e y f) es significativamente menor a la superficie expuesta. Para la muestra de queso recubierta con la película polimérica A (Figura 26d), el conteo de coliformes totales fue de <1 UFC/cm², menor al límite detectable. Mientras que, para la muestra de queso recubierta con la película polimérica B (Figura 26f), el conteo de coliformes totales fue de 40 UFC/cm². Estos resultados están en el límite del recuento permisibles por la NTON¹⁵ 03 022-99 y la NTON 03 065-06, que establece un máximo permitido de 500 UFC/cm².

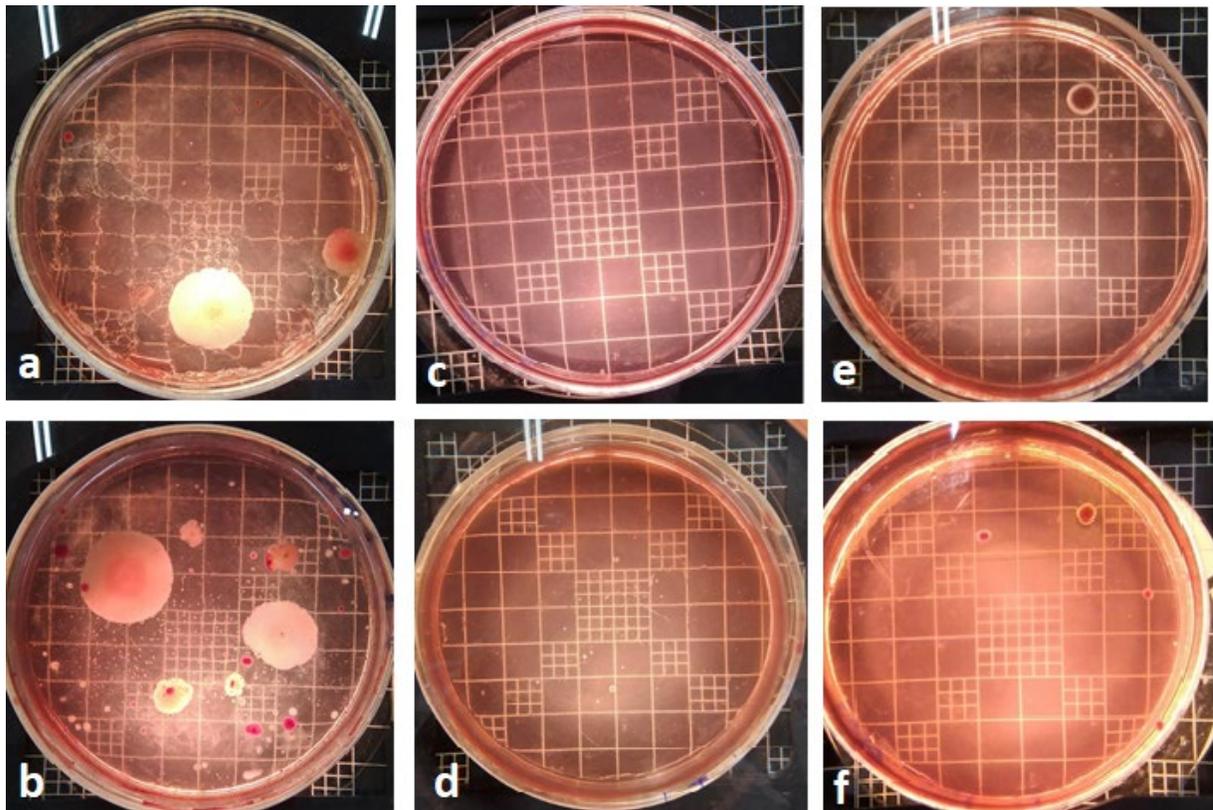


Figura 26. Crecimiento de coliformes: (a) muestra sin recubrimiento antes y (b) después de 1 semana de incubación; (c) muestra A antes y (d) después de una semana de incubación a una dilución de 1×10^1 ; (e) muestra B antes y (f) después de una semana de incubación a una dilución de 1×10^1 .

¹⁵ Normas establecidas por el Instituto de Sanidad Agropecuaria IPSA

El polímero que recubre el queso inhibe el crecimiento de las colonias de microorganismos presentes en la superficie de contacto, asimismo, actúa como barrera de protección. Sin embargo, al término de una semana, comienzan a aparecer pequeñas rupturas desde la parte interna del alimento (Figura 27), iniciando de este modo el proceso degradativo del polímero. Un factor a tomar en cuenta es la humedad, que, debido a la naturaleza misma del queso, no evita que los microorganismos presentes en la muestra inicien la degradación del recubrimiento.



Figura 27. Inicio de la degradación en la superficie del polímero en contacto con el alimento.

El recubrimiento, aísla temporalmente a las bacterias aerobias mesófilas del oxígeno (no así las anaerobias aerotolerantes y facultativas anaerobias), provocando que su crecimiento se detenga. En este caso, la presencia de enzimas catalasa y superóxido dismutasa SOD neutralizan las formas tóxicas del oxígeno en su metabolismo (Tortora, Funke, & Case, 2010). Las otras bacterias, anaerobias aerotolerantes y facultativas anaerobias inician un crecimiento lento en condiciones anaerobias (superficie de la muestra) que, probablemente, tengan un efecto en las fisuras y microporos en el polímero mostradas en la figura 27¹⁶.

¹⁶ Existen otros microorganismos presentes en el queso que requieren de análisis microbiológicos específicos para su detección, sin embargo no forma parte del objeto de este estudio.

VIII. CONCLUSIONES

Las muestras de películas biodegradables de recubrimiento obtenidas a partir de almidón de yuca y papa, glicerina (en dosis de 5 y 10mL) y colágeno (en dosis de 0.5g y 1.0g), mediante el método de vaciado en placa o casting, presentaron buena adhesión, manipulación, resistencia a la tracción y flexibilidad. No obstante, la formulación que consistía en almidón de papa, 5 mL glicerina y 1 g de colágeno, presentó los valores deseables como material de protección para la conservación de alimentos: menor permeabilidad al vapor de agua y mayor esfuerzo de tensión, así como facilidad de manipulación, buena adhesión y flexibilidad.

Los parámetros de importancia determinados de los polímeros obtenidos presentaron un rango de Porcentaje de humedad de 20.43 – 34.90%; un grosor entre 0.210 y 0.345mm; una densidad entre 1.264 y 1.574 g/cm^3 ; una opacidad (como absorbancia a 500nm) entre 241.7 - 365.8; una permeabilidad al vapor de agua a 25°C, entre 0.033 y 0.074 $g \cdot mm / h \cdot m^2 \cdot KPa$; un esfuerzo de tensión entre 0.605 y $5.801 \times 10^6 N/m^2$; un tiempo de degradación en ambiente acuoso de 15 y 17 días; un tiempo de degradación en ambiente soterrado de 7 y 8 días; y un tiempo de degradación a la exposición solar, de 41 a 50 días.

Para el diseño de experimento de este estudio, se rechaza la hipótesis nula ya que la adición del colágeno al plastificante glicerina, no mejora las propiedades mecánicas y el comportamiento microbiológico del polímero biodegradable; y, por tanto, se acepta la hipótesis alternativa, ya que no existe correlación ente el colágeno y el plastificante. Asimismo, el análisis estadístico determinó que el almidón, particularmente almidón de papa, incide directamente en el grosor de la película y la permeabilidad al vapor de agua. Así también, que la glicerina presenta un efecto positivo en el aumento de la humedad, densidad y permeabilidad del agua, pero incide negativamente en el esfuerzo de tensión; un aumento en la dosis de este plastificante aumenta los valores de los parámetros mencionados.

El polímero biodegradable que recubre el queso inhibe el crecimiento microbiano presente en la superficie de contacto, asimismo, actúa como barrera de protección hasta que su proceso degradativo se ve influenciado por la naturaleza misma del alimento, esto es, una semana. El crecimiento microbiano después de 1 semana de incubación, en el caso de los aerobios mesófilos fue mayor a 200UFC/cm²; y de 40UFC/cm² en el caso de coliformes totales; estando dentro de los límites establecidos por la NTON 03 022-99 y la NTON 03 065-06.

IX. RECOMENDACIONES

A partir de los resultados de este trabajo, se recomienda:

Estudiar el comportamiento de películas poliméricas a partir de otras fuentes de almidón, del género *Ipomoea* o *Xanthosoma*.

Realizar otros análisis mecánicos como deformación, porcentaje de elongación de la película polimérica, por ejemplo.

Incorporar otros tipos de coadyuvantes que mejoren la plastificación de la película polimérica resultante; como, por ejemplo, extracto de soja, quitosano, etc.

Ensayar la adición de agentes naturales a la formulación inicial, que inhabiliten o retarden el crecimiento de microorganismos en la superficie de la película polimérica.

Llevar a cabo otros análisis microbiológicos, relacionados con la calidad del alimento que se desee recubrir, que permitan detectar y cuantificar la carga microbiana

X. BIBLIOGRAFÍA

- Ahmed, J., & Rahman, M. (2012). *Handbook of Food Process Design*. UK: Wiley–Blackwell Publishing.
- Arias, M. (2022). *Aprovechamiento de un subproducto del procesamiento del banano para la producción de polihidroxibutirato (PH) mediante fermentación sumergida*. Universidad de Costa Rica. San José: UCR. Obtenido de <https://www.kerwa.ucr.ac.cr/bitstream/handle/10669/86784/Tesis%20Maestr%c3%ada%20%20final%20M%c3%b3nica%20Arias%20Roblero.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Atwell, W., Hood, L., Lineback, D., Varriano-Marrston, E., & Zobel, H. (1988). The terminology and methodology associated with basic starch phenomena. *Cereals Foods World*(33), 306-311.
- Bello, L., Mendez, M., & Agama, E. (2002). Estructura Molecular de almidones. En F. Lajolo, & E. Menezes, *Carbohidratos en alimentos regionales iberoamericanos* (pág. 635). Sao Paulo: Editorial USP. Obtenido de <https://books.google.com.ni/books?id=JfGTwqKTdRMC&pg=PA17&dq=Bello+Perez+Almidon+Bello+Perez&hl=es&sa=X&ei=NiUSU8PdM83LkQet5YD4Bg&ved=0CFwQ6AEwCQ#v=onepage&q=Bello%20Perez%20Almidon%20Bello%20Perez&f=false>
- Buleón, A., Colonna, P., Planchot, V., & Ball, S. (1998). Starch granules: structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules*(23), 85-112.
- Chandra, R., & Rutsgi, R. (1998). Biodegradable polymers. *Progress in Polymer Science*, 23(7), 1273-1335.
- Cornejo Reyes, G. V., Marinero-Orantes, E. A., Funes-Guadrón, C. R., & Toruño, P. J. (2020). Biopolímeros para uso agro industrial: Alternativa sostenible. (C. A. Zúniga-González, Ed.) *Revista Iberoamericana de Bioeconomía y Cambio Climático*, 11, 1359-1387. doi:<https://doi.org/10.5377/ribcc.v6i11.9824>
- Cubero, N., Moferre, A., & Villalta, J. (2002). *Aditivos Alimentarios*. Madrid: Mundi-prensa.
- Díaz, J., & Sacasa, K. (Jul-Dic. de 2019). Microplásticos en las costas del Pacífico de Nicaragua. *Compromiso Social*, 1(2), 51-60.
- European Bioplastic. (2021). *Biopolymers and bioplastics. Plastics aligned with nature*. Ljubljana: NOVA Institute.
- Ezra Martín, M. P. (06 de Marzo de 2013). Estudio de la fermentacion lactica para la recuperacion de Quitina a partir de desecho de camaron y langostino. Managua, Nicaragua.
- Fabunmi, P., Tabil, L. P., & Chang, P. (2004). Developing Biodegradable Plastics from. *ASABE/CSBE North Central Intersectional Conference*.
- FAO. (1953). *Food composition tables for international use*. Obtenido de <http://www.fao.org/3/x5557e/x5557e00.htm#Contents>
- Fornos, E. (1997). Toxicología Alimentaria: peligrosidad de alimentos y bebidas. Managua: MINSA.

- French, D. (1972). Fine structure of starch and its relationship to the organization of starch granules. *Denpun Kagaku*(19), 8-25.
- Funglie, K., & Oates, C. (November de 2001). Starch markets in Asia: in sweet potato post-harvest research and development in china. Chengdu, China.
- García González, M. (Octubre de 2018). Estudio de la fermentacion acido lactica de desechos de camaron para la obtencion de quitina y material proteico. Managua, Nicaragua.
- García, C., & Salmerón, L. (2016). *Estudio comparativo de la producción a escala de laboratorio de jarabe de glucosa por medio de la hidrólisis acida de almidón de yuca y almidón de papa*. Managua: Universidad Nacional de Ingeniería.
- González Arnesto, C., Abdalah Llanes, G., Cornejo Moreno, M., Soza López, P., & Argüello Belli, D. (2014). *Resoluciones*. Managua: Universidad Americana. Obtenido de <http://biblioteca.uam.edu.ni/xmlui/bitstream/handle/721007/2118/2014014.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- González, M. (19 de Febrero de 2018). Bolsas plásticas afectan entornos urbanos y rurales. *El Nuevo Diario*, pág. 3.
- Graaf, R., Broekroelofs, A., & Janssen, L. (1998). *The acetylation of starch by reactive extrusion* (Vol. 50).
- Huang, J. (2006). *Function-Structure Relationships of Acetylated Pea Starches*. PhD. Thesis, Wageningen University, The Netherlands.
- INATEC. (2018). *Raíces y Tubérculos*. Instituto Nacional Tecnológico. Managua: Tecnológico Nacional.
- ISI. (2002). *International Starch Institute*. Recuperado el 1 de febrero de 2021, de <http://www.starch.dk/isi/profile/home.asp>
- Jane, J., Kasemsuwan, T., Leas, S., Zobel, H., & Robyt, J. (1994). Anthology of starch granule morphology by scanning electron microscopy. (46), 121-129.
- Jenkins, W., & Harrington, J. (1991). *Packaging foods with plastics*. Lancaster: Technomic Publishing Co., Inc.
- Leiva, C., & Obando, R. (2014). *Extracción de almidón a partir de variedades de papas cultivadas en Nicaragua*. Managua: Universidad Nacional de Ingeniería.
- López D., B. E. (Junio de 2016). *Efecto de la aplicación de películas de quitosano en el tiempo de vida útil del tomate*. Managua: Universidad Nacional de Ingeniería.
- MAGFOR. (2012). *IV Censo Nacional Agropecuario*. Managua: INIDE-MAGFOR.
- Mali, S., M.V.E., G., García, M., Martino, M., & Zaritsky, N. (2002). Microstructural characterization of yam starch films. *Carbohydrates Polymers*(50), 379-386.
- Manzanares, R. (22 de Agosto de 2018). 1,500 toneladas de basura genera Managua. (G. Chávez, Entrevistador) Obtenido de <https://www.vostv.com.ni/nacionales/8218-1-500-toneladas-de-basura-genera-managua-a-diario/>
- Melian, D. (2010). *Ensayo comparativo de dos metodologías de extracción de almidón de papa usando muestras de diez variedades nativas de Chiloé y dos variedades comerciales*. Valdivia: Universidad Austral de Chile.

- Miltz, J. (1992). Food packaging. En D. Heldman, & D. Lund (Edits.), *Handbook of food engineering*. New York: Marcel Dekker.
- Next.cc. (12 de 2020). *Green materials*. Obtenido de <https://www.next.cc/journey/discovery/green-materials>
- Obregón B, E. A. (2011). *Síntesis de polímeros a partir de materias primas naturales como el escualeno utilizando la técnica de fotopolimerización*. Managua: Universidad Nacional de Ingeniería.
- Orellana, R. G. (2015). *Uso de polímero a base de almidón de maíz y su utilización en la fabricación de cápsulas para vitaminas hidrosolubles*. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. Obtenido de http://www.repositorio.usac.edu.gt/583/1/06_3754.pdf
- Othmer, K. (2015). *Encyclopedia of Chemical Technology*. John Wiley and Sons Inc.
- Pallais C., N. (2004). *Guía de Cultivo de la Yuca*. Instituto Nacional de Tecnología agropecuaria. Managua: Impresión Comercial La Prensa. Obtenido de <https://cenida.una.edu.ni/relectronicos/RENH10N583.pdf>
- Peroni, F. (2003). Mestrado em Engenharia e Ciencia de Alimentos). *Características estruturais e físico-químicas de amidas obtidos de deferentes fontes botánicas*. Sao José do Rio Preto: Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho".
- Refai, M. (1981). *Manual para el control de calidad de los alimentos*. Roma: Food and Agriculture Organization.
- Rikolto VECO. (2016). *Producción de papa con Buenas Prácticas Agrícolas*. Managua: Rikolto.
- Rivera, A., Porta, C., Cordero, M., Baltodano, O., & Marquéz, A. (2011). *Ecoplastic*. Managua: Universidad Americana. Obtenido de <http://biblioteca.uam.edu.ni/xmlui/bitstream/handle/721007/1991/2011051.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Rosales, A. d. (2016). *Obtención de biopolímero plástico a partir del almidón de malanga (Colocasia esculenta), por el método de polimerización por condensación en el laboratorio 110 de la UNAN-Managua, Mayo-Abril 2016*. Managua: UNAN-Managua.
- Rutenberg, M., & Solarek, D. (1984). *Starch derivatives: Production and uses*. In: *Starch Chemistry and Technology* (2 ed.). New York: Academic Press.
- Sánchez-Rivera, M., García-Suárez, F., Velázquez, M., Gutierrez-Meraz, F., & Bello-Pérez, L. (2005). Partial characterization of banana starches oxidized by different levels of sodium hypochlorite. *Carbohydrate Polymers*(62), 50-56.
- Schwach, E. (2004). Starch-based biodegradable blends: morphology and interface properties. *Polymer International (Society of Chemical Industry)*, 53(12), 2115-2124.
- Shrichuwong, S., & Jane, J. (2007). Physicochemical properties of starch affected by molecular composition and structures: a review. *Food Science and Biotechnology*(16), 000-000.
- Slade, L., & Levine, H. (1993). *The Glassy State in Foods*. Nottingham, UK: Nottingham University Press.

- Tang, X., & Alavi, S. (2011). Recent advances in starch, polyvinyl alcohol based polymer blends, nanocomposites. *Carbohydrate Polymers*, 85(1), 7-16.
- Tortora, G., Funke, B., & Case, C. L. (2010). *Microbiology: An Introduction* (10th ed.). San Francisco: Pearson.
- Trujillo, C. (2014). *Obtención de películas biodegradables a partir de almidón de yuca (Manihot Esculenta Crantz) doblemente modificado para uso en empaque de alimentos*. Puerto Maldonado: Universidad Nacional Amazónica Madre de Dios.
- Vert, Michel; Doi, Yoshiharu; Hellwich, Karl-Heinz; Hess, Michael; Hodge, Philip; Kubisa, Przemyslaw; Rinaudo, Marguerite; Schué, Francois. (2012). Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). *Pure Applied Chemistry*, 84(2), 377-410. doi:<http://dx.doi.org/10.1351/PAC-REC-10-12-04>
- Villalta, A. A. (2018). *Evaluación de la biodegradabilidad de diferentes formulaciones de un bioplástico sintetizado, a partir del almidón obtenido de la cáscara de mango (Mangifera Indica L) a escala laboratorio*. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala: Universidad Can Carlos de Guatemala. Obtenido de <http://www.repositorio.usac.edu.gt/10915/1/Antonio%20Adolfo%20Villalta%20Estrada.pdf>

ANEXOS

Anexo A.1. Variedades de papa cultivadas en Nicaragua

Variedad	Características
La Atzimba	Flor blanca, tallo erecto, forma del tubérculo redondo – alargado, moderadamente susceptible al tizón. Fase vegetativa: 90 – 150 días.
Sante	Desarrollo rápido, tallos: suculentos y robustos. Las flores son de color lila, tubérculos: forma redonda, piel de color morado. Fase vegetativa: 90 – 120 días.
Desiree	Cáscara roja, forma del tubérculo: Oval-alargado. Fases vegetativa: 90 - 130 días.
Floresta	Tubérculo grande, forma oval-alargado, piel lisa blanca clara, pulpa clara cremosa y ojos superficiales. Fase vegetativa: 90 – 150 días.
Patrona	Tubérculo grande, forma redondeada, color blanco crema. Fase vegetativa: 85 – 10 días.
INTA KARÚ	Color de la piel rojo, forma del tubérculo ovalado y alargado. Color de la pulpa amarillo claro. Fase vegetativa: 110 días.
INTA ONA	Color de la piel crema, forma del tubérculo ovalado aplanado. Color de la pulpa rosado intermedio. Duración del ciclo de 90 días.
Arnova	Variedad con dormancia corta, tubérculos grandes de forma ovalada, piel amarilla y lisa, carne amarilla clara, ojos superficiales, rendimiento muy alto, materia seca muy baja, susceptible a tizón tardío, resistente al virus del enrollamiento de la hoja, sensible al virus A, sarna común, medianamente resistente a PVX y PVYN. Fase vegetativa: (120 - 150 días).
Picasso	Variedad con dormancia larga, tubérculos de grandes a muy grandes de forma ovalado, piel amarilla, ojos rojos y superficiales, rendimiento alto, materia seca baja, susceptible a Tizón tardío, resistente a PVX, PVYN y sarna común. Fase vegetativa: (120 - 150 días).
Granola	Variedad con dormancia muy larga, tubérculos medianos de forma ovalada, piel amarilla clara y áspera, carne amarilla clara, ojos superficiales, rendimiento alto, materia seca mediano, resistente a tizon tardío y a enrollamiento de la hoja, PVX y PVY. Fase vegetativa: (120 - 150 días).
Monte Carlo	Tubérculos rojo claro de forma oval , grandes, ojos superficiales, carne blanca, resistente a los virus PLRV, PVX, PVY y sarna común. Fase vegetativa: (90 - 120 días).
Silvana	Variedad con dormancia larga, tubérculos color de piel amarilla, carne amarilla, forma ovalada, ojos superficiales, tubérculos grandes, rendimiento alto, materia seca alto, resistente para PVYN, sarna verrugosa y medianamente resistente para sarna común. Fase vegetativa: (120 - 150 días).
Faluka	Variedad con dormancia semilarga, tubérculos grandes de forma ovalada uniformes, piel amarilla y lisa, carne amarilla clara y ojos superficiales, sensible a tizón tardío, resistencia a PVX y PVYN, medianamente resistente a sarna común. Fase vegetativa: (120 - 150 días).
INTA Pampeana	Tubérculos redondos, medianos de forma ovalada, piel blanca casposa, carne blanca, ojos superficiales, rendimiento alto, Muy alta materia seca. Fase vegetativa: (90 - 120 días).

Tomado de (INATEC, 2018)

Anexo A.2. Variedades de la yuca cultivadas en Nicaragua

Variedad	Características								
	Altura (m)	Hábito de ramificación	Forma de la raíz	Corteza de la raíz	Color brotes tiernos	Raíces / planta	Fase vegetativa (meses)	Tolerancia	Cosecha estimada (ton/mz)
Dorada	1.83	No ramifica	Cónica cilíndrica	Amarillo	Verde claro	7 - 10	10	Intermedia: Bacteriosis, Cercospora y Antracnosis	22
Amarilla	2.8	Dicotómico	Cónica	Amarillo y textura lisa	Morado	7 - 14	10	Resistente: Trips y cuero de sapo. Tolerante: Cercospora, Bacteriosis y Antracnósis	22.4
Perla	2.68	Dicotómico	Cilíndrica	Rosado, textura lisa	Verde claro	8 - 10	6 - 8	Resistente: cuero de sapo. Tolerante: Cercospora, Bacteriosis y Antracnósis	40
Reyna	2.24	No ramifica	Cónica cilíndrica	Marrón oscuro, textura rugosa	Verde	8 - 10	10 - 11	Resistente: cuero de sapo. Intermedia: Bacteriosis, cercospora y antracnosis	57.3
Yuca Masaya	2.4	Dicotómica	Irregular	Blanco	Verde	4-5	10 - 12	Tolerancia intermedia: Bacteriosis	12.24
Arbolito	2.94	Tricotómica	Cónica cilíndrica	Rosado, textura lisa	Verde claro	4.13	10 - 11	Trips y ácaros	27

Nota: en Nicaragua también se cultivan variedades acriolladas como pochota, algodón y valencia.

Tomado de (INATEC, 2018)

Anexo A.3. Materiales y equipos utilizados en la extracción del almidón

Materia Prima	Material y equipo de laboratorio	Equipos de laboratorio
Papa Yuca	Bandejas de plástico Cepillo limpiador Colador plástico Cuchillo Espátula Mortero de porcelana Muselina Pelador de papa Recipientes plásticos 5L Recipientes plásticos 10L Tamiz MESH Fritsch GMBH BRD 6580 de 0.125mm Tamiz MESH Fritsch GMBH BRD 6580 de 0.45mm Tamiz MESH Fritsch GMBH BRD 6580 de 0.50mm Vidrio reloj 16cm	Balanza Scout OHAUS® Desecador Fisherbrand™ Mufla Barnstead 6000 THERMOLYNE® Procesador de alimentos Robot Coupé R101

Anexo A.4. Materiales y equipos a utilizados para la obtención del polímero y estimación de sus parámetros de calidad

Reactivos	Cristalería	Equipos
<ul style="list-style-type: none"> • Ácido acético CH₃COOH 0.1M • Agua destilada • Almidón de papa • Almidón de yuca • Colágeno Imperial® • Glicerina 	<ul style="list-style-type: none"> • Beaker de 500mL • Beaker 100mL • Beaker de 1000mL • Espátula • Erlenmeyer 500mL • Gradilla • Parafilm • Placas de vidrio 20x45cm • Placa de vidrio 12x15 cm • Placas redondas de vidrio 12.5cm • Placa Petri PET FISHERBRAND® • Probeta 10mL • Termómetro • Tubos de ensayos de 7.5cm • Tubos de ensayos 10cm • Varilla de vidrio 	<ul style="list-style-type: none"> • Analizador de humedad Sartorius MA150 • Agitador magnético con calentamiento Cimarec THOMAS SCIENTIFIC® • Balanza analítica Mettler Toledo ML® • Balanza Scout OHAUS® • Dinamómetro genérico 20N • Dinamómetro genérico 50N • Desecador Fisherbrand™ • Espectrofotómetro Genesys 20 THERMO SPECTRONIC® • Micrómetro digital STANLEY® • Mufla Barnstead 6000 THERMOLYNE® • Plancha de calentamiento con agitador THERMO SCIENTIFIC®

Anexo A.5. Materiales y equipos empleados en análisis microbiológico

Materia Prima y Reactivos	Materiales	Equipos
<ul style="list-style-type: none"> • Polímero de almidón • Queso seco • Agua destilada • Agar Bilis Rojo Violeta EMD® • Agar Plate Count MERCK® • Agua peptonada tamponada MERCK® • Alcohol isopropílico 80% 	<ul style="list-style-type: none"> • Algodón • Aplicadores con algodón estéril Puritan • Brocha 3plg PRETUL® • Cuchillo • Erlenmeyer 500mL • Espátula • Gradillas • Guantes de goma grado médico • Molde para toma de muestra 25cm² • Placa Petri vidrio • Placa Petri PET FISHERBRAND® • Papel aluminio • Papel toalla • Pesa sustancias • Pipetas de 5mL • Pipetas de 1mL • Placa de vidrio 20x45 cm • Placa de vidrio 12x15 cm • Tapones p/tubos de ensayo • Tubo de ensayo 12.5cm 	<ul style="list-style-type: none"> • Agitador Vortex Corning LSE® • Balanza analítica Mettler Toledo ML® • Contador de colonias REICHERT QUEBEC DARKFIELD® • Esterilizador a vapor ALL AMERICAN 25X® • Horno termostático M710 Galli® • Incubadora BINDER® • Mechero bunsen • Plancha de calentamiento Corning PCD-420D®

Anexo A.6. Método ISI 25-2e: Obtención de Almidón de tubérculos.

1. Ámbito de aplicación	El método es aplicable a las patatas. El método se puede adaptar a otros tubérculos.	<i>Ref.: LT March 1994 Rev. LT Oct. 1998</i>
2. Principio	Principio Los tubérculos se limpian y rallan. El rallado (raspado) se tamiza y la leche cruda de almidón se lava y tamiza.	
3. Aparato	3.1 Pesaje de la balanza con una precisión de 1 g. 3.2 Pantalla de extracción aberturas de 250 micras 3.3 Tamices de refinado con aberturas de 125 micras y 75 micras 3.4 Cono de precipitación Imhoff 1000 ml, graduado 3.5 Rallador con bordes afilados 3.6 Embudo Büchner con succión y papel filtro.	
4. Reactivos	4.1 Agua de alta calidad sanitaria libre de olor y partículas en suspensión. pH: 6,5 – 8,0; Hierro: máx. 0,05 ppm Fe; Manganeso: máx. 0,02 ppm Mn; Dureza alemana: máx. 2DH; Temperatura: máx. 30°C. 4.2 Solución de bisulfito de sodio al 1%	<i>DH = El grado de Dureza Alemana se calcula como $0.14 \cdot Ca + 0.23 \cdot Mg$ donde Ca y Mg están expresados en ppm.</i>
5. Procedimiento	Pesar ½ kg de tubérculo fresco.	
6. Limpieza	Retire los tubérculos inmaduros y cualquier tubérculo dañado por heladas, calor o brotes. Corta cualquier parte dañada de los tubérculos. Frote o cepille los tubérculos en agua hasta que quede libre de suciedad adherida y piel infectada.	<i>La limpieza cuidadosa es esencial; pélela correctamente con un cuchillo si es necesario.</i>
7. Rallado/raspado	Los tubérculos limpios se desintegran con una rallaor.	<i>Cuanto más fino, mejor.</i>
8. Extraction	Recoja el raspado en un tamiz de 250 micras y enjuague el almidón a través del tamiz con agua hasta que el flujo de almidón disminuya. La decoloración del jugo se puede evitar agregando inmediatamente 20 ml de bisulfito (4.2) a la raspa o a la leche cruda de almidón.	<i>Un "extractor de jugo" puede hacer el raspado y la extracción en una sola operación. one operation.</i>
9. Concentration	ecoger la leche cruda de almidón en un cono Imhoff (3.4) y dejar reposar hasta que cese la precipitación del almidón. Se decanta el sobrenadante dejando sólo el almidón precipitado en el cono. Mantenga y marque el sobrenadante como A/O ₀ .	<i>Es esencial eliminar las partículas que flotan en el limite entre el líquido y la torta de almidón.</i>
10. Etapa de Refinado I	Agregar agua equivalente a tres veces el volumen del sedimento y agitar hasta que se suspenda todo el almidón. Dejar reposar hasta que cese la precipitación del almidón. Se decanta el sobrenadante dejando solo el almidón precipitado en el cono. Mantenga y marque el sobrenadante como A/O ₁	<i>La mitad del volumen del sedimento es fluido el factor de dilución I es siete o mayor</i>
11. Etapa de Refinado II	Agregar agua al cono con el sedimento equivalente al volumen del sedimento y agitar hasta que todo el almidón esté en suspensión	<i>El factor de dilución A-II. 49 -All es de 49 min.</i>
12. Filtración	Vierta la suspensión de almidón en un tamiz de 125 micras y enjuague con agua. Recoja el filtrado en el cono Imhoff. Deje reposar durante 3-5 minutos. Se decanta el sobrenadante	<i>La filtración gruesa elimina una cantidad sustancial de pulpa (fibras). La filtración</i>

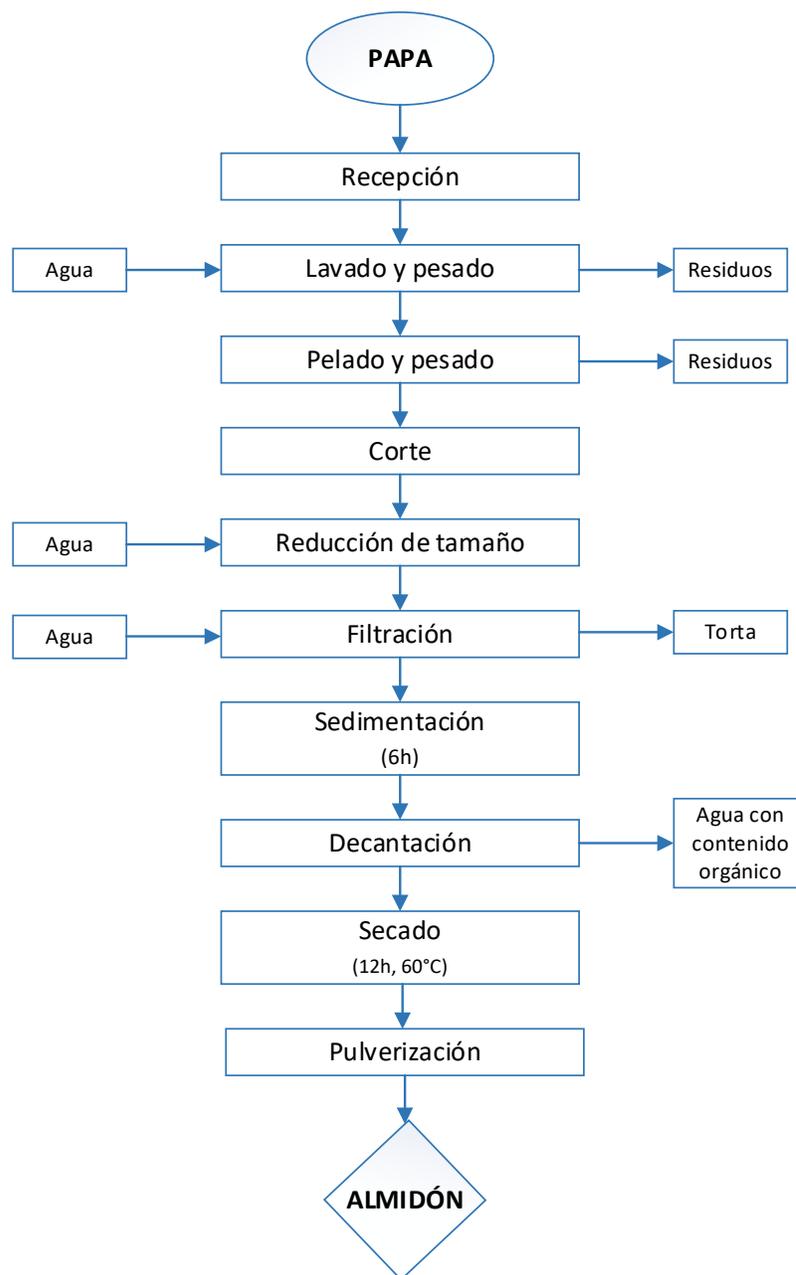
Obtención de Polímeros Biodegradables a partir de Almidón de Papa y Yuca como Material de Empaque para la Conservación de Productos Alimenticios

	dejando un 5-10% del almidón en el cono. El sobrenadante se filtra a través de un tamiz de 75 micras.	<i> fina elimina muy poco.</i>
	Combine el filtrado con el sedimento residual en el cono. Dejar reposar hasta que cese la precipitación del almidón. Se decanta el sobrenadante y se voltea el cono durante una fracción de segundo dejando sólo el almidón precipitado en el cono. Conservar y marcar el sobrenadante como A/O _{II} .	<i> Cuando el tercio superior del volumen de la fase líquida aparece claro y transparente es el momento de la decantación.</i>
13.Etapa de Refinado III y IV	Agregar agua al cono con el sedimento equivalente al volumen del sedimento y agitar hasta que se suspenda todo el almidón. El sobrenadante se decanta y el cono se voltea boca abajo durante una fracción de segundo dejando sólo la torta de almidón precipitada firme en el cono. Repita el procedimiento y conserve y marque el sobrenadante como A/O _{III} , A/O _{IV} , A/O _V y A/O _{VI} .	<i> El factor de dilución A-VI es 117,000</i>
14.Control de calidad	La calidad se puede controlar en este punto antes de la deshidratación. Se raspa una cucharadita de muestra de la parte superior del sedimento. Añadir agua hasta 15 ml y dejar reposar en un tubo de ensayo o mejor centrifugado. (1) El límite entre el líquido y el sedimento se examina cuidadosamente a simple vista. Ninguna o solo partículas insignificantes de color o que no sean de almidón deben ser visibles. Si no es aceptable, agregue más etapas de refinado antes de deshidratar y mejore la técnica de decantación. (2) Se extrae una pequeña muestra del límite entre el líquido y el sedimento para examinarla al microscopio. No se debe observar ninguna o solo partículas insignificantes que se originen en la superficie de la piel de la patata. Si no es aceptable, mejore el lavado de las papas o pélelas adecuadamente con el uso de un cuchillo para pelar	<i> Si es necesario, lleve a cabo una Determinación de Fibra en Almidón como Número de Fibra - método ISI-08. El número de fibra debe ser 1 o mejor.</i>
15.Deshidratación	Vuelva a mezclar el sedimento con la misma cantidad de agua. Vierta en un embudo Büchner. Aplique vacío y enjuague el vaso de precipitados/cono con la misma cantidad de agua.	
16.Secado	La torta de almidón se distribuye en una capa delgada y se seca a temperatura ambiente hasta un mínimo del 80% de materia seca.	
17.Cribado	El almidón seco se criba en un tamiz de 125 micras. El almidón tamizado se considera como el producto final.	
Un segundo ciclo B	Con una muestra grande se puede repetir el ciclo descrito anteriormente.	
Ahorro de agua	Se puede ahorrar agua en el segundo ciclo utilizando el sobrenadante disponible de una etapa posterior en un ciclo anterior como reemplazo del agua. Introducir una etapa extra antes de la deshidratación y utilizar agua en esta última etapa de refinado. Mantenga y marque el sobrenadante como B/O ₀ hasta B/O _{VII}	<i> Los sobrenadantes marcados con /O₀ no se utilizan. Los sobrenadantes marcados con /O_I se utilizan únicamente para la extracción.</i>
Ciclos adicionales C, D, E ... X	El ciclo se puede repetir y cada vez se introduce una etapa adicional que usa agua para la dilución antes del paso de deshidratación. Un total de doce etapas son adecuadas.	<i> Las etapas adicionales compensan el factor</i>

		<i>de dilución más pequeño.</i>
6. Notas	No se utiliza más de un total de dos litros de agua para la extracción, refinación y deshidratación durante cada ciclo. Se pueden lograr ahorros de agua reduciendo el factor de dilución anterior de seis a cinco, cuatro o un mínimo de tres, aumentando simultáneamente el número de etapas a siete, ocho y nueve dentro del ciclo A y, en consecuencia, con más etapas en los ciclos posteriores. La dilución calculada en la última etapa antes de la deshidratación será como mínimo de 1:60.000.	<i>Los sedimentos combinados recuperados del reposo prolongado de los sobrenadantes pueden ingresarse como muestra en uno y solo un ciclo separado equivalente al ciclo A en caso de decantación manual.</i>
	Si se utiliza un exceso de agua para refinar el almidón de patata, el agua adicional debe desmineralizarse o la dureza del agua reducirá la viscosidad máxima.	<i>La fécula de patata es un intercambiador de iones.</i>
	Si la leche de almidón refinado por cualquier razón es ligeramente ácida (como es el caso de usar agua desmineralizada en todo momento), debe neutralizarse a pH 7 antes del secado	<i>Incluso una ligera acidez reduce la vida útil (descomposición de la viscosidad)</i>
	La preparación se puede adaptar a otros tubérculos, incluida la yuca, extendiendo el tiempo de precipitación del almidón. El sobrenadante se puede eliminar alternativamente con succión en los casos en que el almidón no forma un sedimento firme que quede en el vaso de precipitados, cuando se voltea. Dependiendo de la distribución del tamaño de los gránulos de almidón, se pueden usar tamices de refinado (3.3) con aberturas más pequeñas. Para la yuca y otros posibles tubérculos, la especificación de dureza del agua se puede relajar.	
	En lugar de aumentar el número de ciclos, las cantidades anteriores se pueden escalar en el caso de una muestra grande.	
7. Referencia	ISI Technical Memorandum TM 5 on Potato Starch	

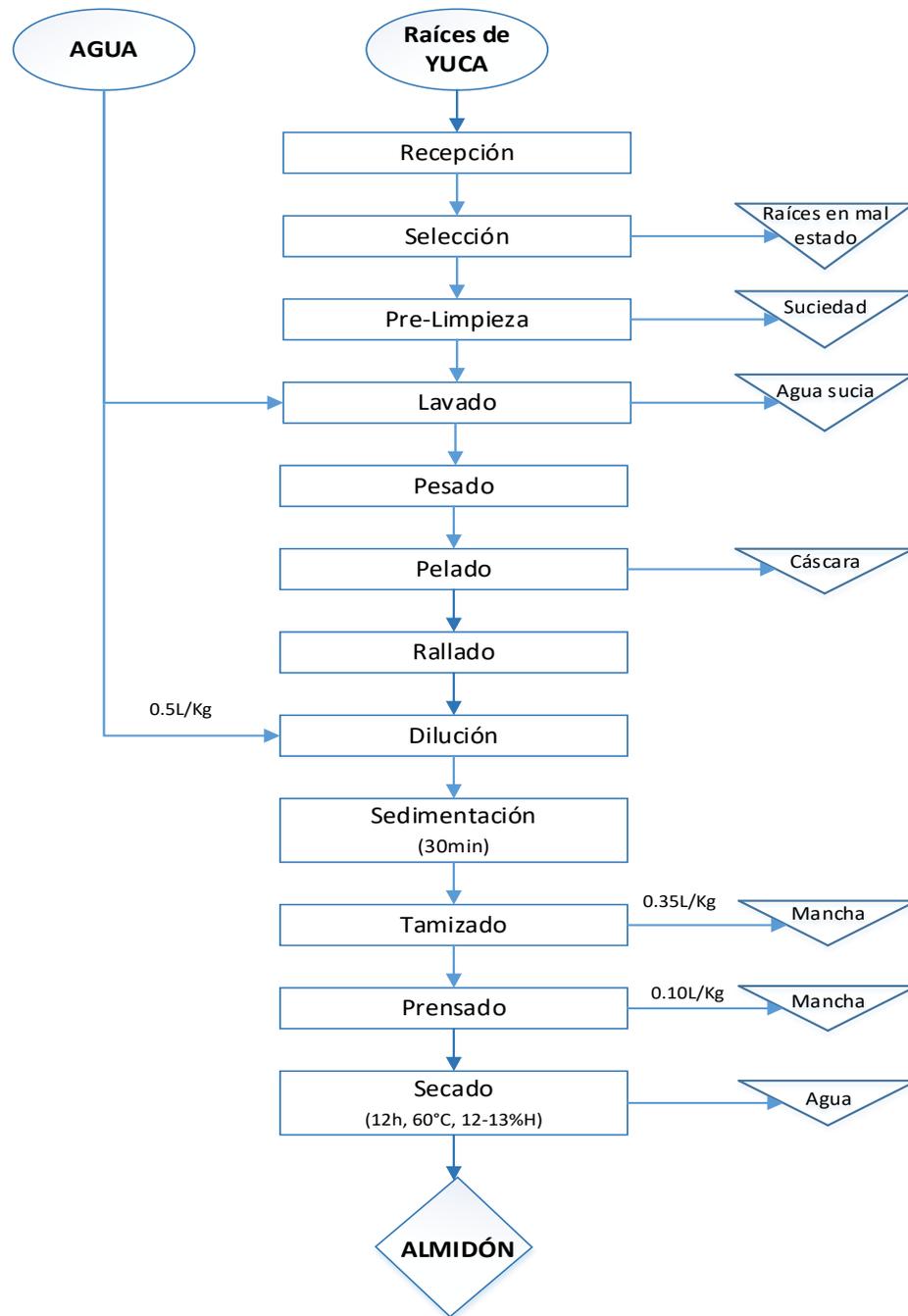
Tomado y adaptado de (ISI, 2002)

Anexo A.7. Diagrama de Flujo del proceso de extracción del almidón de papa



Tomado y adaptado de: (Leiva & Obando, 2014)

Anexo A.8. Diagrama de Flujo del proceso de extracción del almidón de yuca



Tomado de: (García & Salmerón, 2016)

Anexo A.9. Análisis Microbiológico

Enumeración de Aerobios Mesófilos (recuento aeróbico de placas)¹⁷

a) Principio

Este método se basa en la hipótesis de que las células microbianas que contiene una muestra mezclada con un medio de agar forman, cada una, colonias visibles y separadas. Para ello se mezclan diluciones decimales de la muestra del alimento homogeneizado con el medio. Después de incubar las placas a 30°C durante 72 horas, se calcula el número de bacterias aeróbicas mesófilas por gramo de la muestra (o por área de muestreo según el caso) de alimento, basándose en el número de colonias obtenidas en cápsulas Petri elegidas con diluciones que den resultados significativos.

Las células microbianas se presentan a menudo en los alimentos agrupadas, o en racimos, cadenas o parejas, que pueden no estar bien distribuidos, cualquiera que sea la mezcla y la dilución de la muestra. Por consiguiente, cada colonia que se forme en la placa de agar, puede proceder de una sola célula o de grupos de células, por lo que el cómputo puede no reflejar el número real de bacterias viables contenidas en el alimento. Además, algunos microorganismos pueden no desarrollarse ni formar colonias visibles en el medio de agar si las condiciones de temperatura, oxígeno o nutrición no son favorables, o por la debilidad de la célula.

b) Material, medios de cultivos y reactivos

- Placas Petri
- Pipetas
- Baño de agua
- Incubadora
- Contador de colonias
- Solución reguladora de peptona:
 - Peptona 10g
 - Cloruro de sodio 5g
 - Fosfato disódico hidrogenado 9g
 - Fosfato potásico bihidrogenado 1.5g
 - Agua destilada 1000mL

Se ajusta el pH a 7, se vierte en botellas de 500 mL, en volúmenes de 225mL y en tubos, en volúmenes de 9 mL. Se esteriliza durante 20min. a 121°C.

- Agar para el cómputo bacteriano en placa (PCA)

¹⁷ Tomado del Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 1967, APHA.

- Extracto de levadura deshidratada 2.5 g
- Triptona 5.0 g
- Glucosa 1.0g
- Agar 15–18.0 g
- Agua destilada 1000.0 mL

Se ajusta el pH a 7.0, se vierte tubos, en volúmenes de 15mL, y se esteriliza durante 20 minutos a 121°C. Antes de utilizarlo, se disuelve completamente el medio en agua hirviendo, y se dejan los tubos en un baño de agua a la temperatura de 45–48°C.

c) Procedimiento:

i. Homogeneización del alimento

Se pesan 25g de la muestra (en este caso, también se puede hacer el muestreo de un área), mezclada asépticamente, en una mezcladora esterilizada o en una bolsa de Stomacher, y se añaden 225mL de una solución reguladora de peptona. Se agita a la velocidad de 15,000-20,000rpm durante 2.5min como máximo, se mezcla en la bolsa Stomacher durante 20 segundos.

ii. Dilución

- Se mezcla el alimento homogeneizado, agitándolo; se toma 1mL con una pipeta y se vierte en un tubo que contenga 9mL de solución reguladora de peptona; se mezcla cuidadosamente, aspirando 10 veces con una pipeta.
- Con la misma pipeta, se toma 1mL de la primera dilución y se vierte en el tubo de la segunda dilución, que contiene 9mL de solución reguladora de peptona; se mezcla esta con una pipeta nueva.
- Se repite la operación con un tercero, cuarto o más tubos hasta hacer el número requerido de diluciones.
- Se agitan cuidadosamente todas las diluciones.

iii. Vertido en las placas

Utilizando una pipeta, se vierte 1 mL –de cada dilución homogeneizada– en cada una de las placas Petri debidamente marcadas y duplicadas. Posteriormente, se vierten en cada placa Petri 15-20mL de agar para el cómputo bacteriano, el cual se ha mantenido en un baño de agua calentado a 45°C en los 15 minutos siguientes al momento que se hizo la primera

dilución. Se mezcla bien, de manera uniforme, la muestra diluida con el medio de agar, y se deja solidificar.

iv. *Incubación*

Se invierten de posición las placas y se incuban durante 72 horas a 30 – 31°C: si se produce desarrollo excesivo, se cuentan las colonias, primero a los 3 días y después de nuevo dentro de 5 días.

v. *Cómputo de las colonias*

Después de la incubación se cuentan todas las colonias de las placas Petri que contiene de 30– 300 de ellas. Ver figura A.9.1.

vi. *Cálculo*

Cuando las placas Petri examinadas no contienen ninguna colonia, el resultado se expresa en la forma siguiente: menos de 10×10^1 bacterias por gramo, mililitro o cm^2 (según el caso).

Cuando las placas Petri (dilución 1:10) contiene menos de 30 colonias, el resultado se expresa en la forma siguiente: menos de 3×10^2 bacterias por gramo, mililitro o cm^2 .

Cuando hay más de 30 colonias, se cuentan las colonias de las dos placas de una dilución y se calcula la media, con dos cifras significativas solamente, y se multiplica por el inverso de la dilución correspondiente, a fin de obtener el número de bacterias por gramo, mililitro o área.

Ejemplo: Dilución 1:100 placa Petri 1: 175 colonias

Placa Petri 2: 208 colonias

Cálculo: $175 + 208 = 383$; $383/2 = 191 \sim 190$; 190×100

Resultado: 1.9×10^4 bacterias por gramo, mililitro o cm^2 de alimento.

Enumeración de Coliformes.

a) Principio

Este método consiste en un ensayo de presunción con un caldo de agar bilis rojo violeta, seguido de otro de confirmación de los tubos que han producido gases, para el cual se utiliza un caldo de verde brillante, bilis y lactosa, incubando cada tubo cada tubo durante 24-48 horas a 37°C.

b) Material, medios de cultivos y reactivos

- Placas Petri, de vidrio o plástico
- Pipetas de 1, 5 y 10 mL
- Baño de agua
- Incubadora
- Contador de colonias
- Solución reguladora de peptona:
 - Peptona 10.0 g
 - Cloruro de sodio 5.0 g
 - Fosfato disódico hidrogenado 9.0 g
 - Fosfato potásico bihidrogenado 1.5 g
 - Agua destilada 1000.0 mL

Se ajusta el pH a 7, se vierte en botellas de 500mL, en volúmenes de 225mL y en tubos, en volúmenes de 9mL. Se esteriliza durante 20min. a 121°C.

- Agar bilis Rojo violeta:
 - Extracto de levadura 3.0g
 - Peptona 7.0g
 - Cloruro de sodio 5.0g
 - Sal de bilis 1.5g
 - Lactosa 10.0g
 - Rojo neutro 0.03g
 - Violeta–cristal 0.002g
 - Agar 15.0g
 - Agua destilada 1000mL

Se ajusta el pH a 7.0, se calienta, removiéndolo, y se deja hervir durante 2 minutos. No hay que esterilizarlo.

c) Procedimiento

i. Homogeneización del alimento

Se pesan 25g de la muestra (en este caso, también se puede hacer el muestreo de un área), mezclada asépticamente, en una mezcladora esterilizada o en una bolsa de Stomacher, y se añaden 225mL de una solución reguladora de peptona. Se agita a la velocidad de 15,000-20,000rpm durante 2.5min como máximo, se mezcla en la bolsa Stomacher durante 20 segundos.

ii. Dilución

- Se mezcla el alimento homogeneizado, agitándolo; se toma 1mL con una pipeta y se vierte en un tubo que contenga 9mL de solución reguladora de peptona; se mezcla cuidadosamente, aspirando 10 veces con una pipeta.
- Con la misma pipeta, se toma 1mL de la primera dilución y se vierte en el tubo de la segunda dilución, que contiene 9mL de solución reguladora de peptona; se mezcla esta con una pipeta nueva, y
- Se repite la operación con un tercero, cuarto o más tubos hasta hacer el número requerido de diluciones
- Se agitan cuidadosamente todas las diluciones.

iii. Versión en placas

- Se vierte, con una pipeta, 1mL del alimento homogeneizado y de cada una de sus disoluciones en cada una de las cápsulas adecuadamente marcadas y duplicadas.
- Se vierten, en cada placa Petri, 15mL de agar para el computo bacteriano (que se ha mantenido en un baño de agua a $45\pm 1^{\circ}\text{C}$) en los 15 minutos siguientes al momento en que se hizo la dilución.
- Se mezcla bien, y uniformemente, la muestra diluida con el medio de agar, y se deja solidificar.

iv. Incubación

Las cápsulas preparadas se incuban, invertidas, durante 72 ± 3 horas a $30\pm 1^{\circ}\text{C}$

v. Cómputo de las colonias

Después de la incubación, se cuentan todas las colonias de las placas Petri que contienen de 30 a 300 de ellas, y se anotan los resultados por cada dilución contada.

El procedimiento tanto para el conteo de aerobios mesófilos y bacterias coliformes se muestra en la figura A.9.

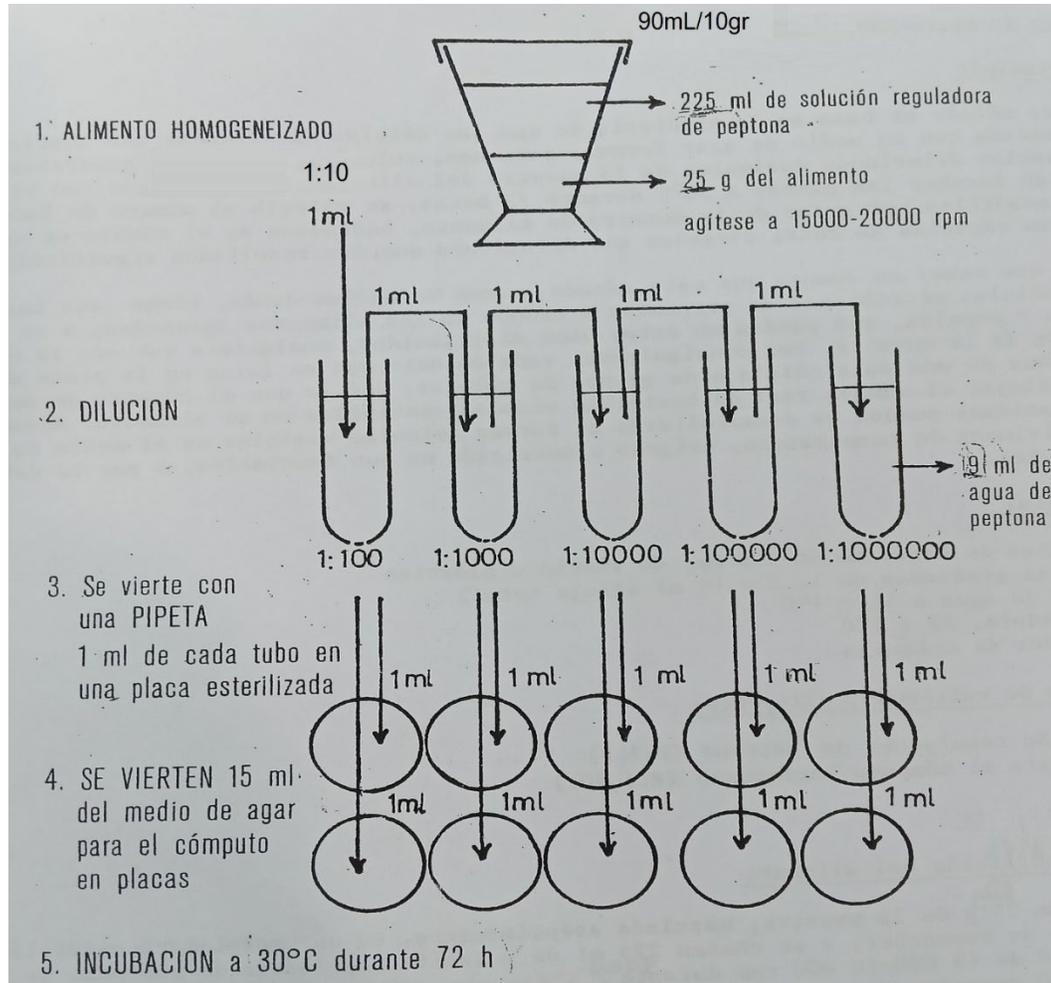


Figura A.9. Procedimiento para el conteo de aerobios mesófilos y bacterias coliformes. *Fuente: (Refai, 1981)*

Muestreo Microbiológico para superficies

Objetivo

- Determinar las colonias microbianas que se encuentran en una superficie específica mediante el muestro de dicha área para evaluar la eficiencia de limpieza y saneamiento de ésta.

Conceptos

- Microbiológico: es el estudio de microorganismo presentes en una superficie

- Superficie inerte: es aquella cuyas características de un material son: no modificar las propiedades físicas, químicas o biológicas al contacto con cualquier sustancia que se presente en sus diferentes estados.
- Unidad Formadora de Colonias (UFC): término que debe utilizarse para reportar la cuenta de colonias en placas, las cuales pueden surgir de una célula o de un cúmulo de células.

Bases

- Las superficies inertes deben tener como límites microbiológicos los siguientes: cuenta total de aerobios mesófilos $<400\text{UFC}/\text{cm}^2$ de superficie, coliformes totales $<200\text{ UFC}/\text{cm}^2$ de superficie.
- Es necesaria la fricción vigorosa de la superficie para, en caso de contaminación superficial, recoger los microorganismos que hubiera. En el caso que se quieran muestrear indicadores (mesófilos aerobios, enterobacterias, mohos y levaduras...) se utilizarán preferentemente hisopos, muestreando superficies $\leq 100\text{ cm}^2$.
- Sobre el hisopo, su uso puede estar indicado en zonas no accesibles por otro método, pero su fragilidad limita la fricción y por su pequeño tamaño implica una menor superficie de contacto.

Materiales

- a. Frascos con solución amortiguadora de fosfatos (previamente preparada, esterilizada y vertida en frascos, que no se abrirán hasta el momento del muestro.
- b. Hisopos estériles
- c. Cofia
- d. Gabacha blanca limpia
- e. Guantes estériles
- f. Marcador indeleble
- g. Etiquetas para identificación de muestras

Procedimiento

- a. Identificar el frasco con los datos generales de la superficie.
- b. Con la ayuda de un trozo de papel aluminio estéril marcar sobre la superficie a muestrear como mínimo un área de 100cm^2 .
- c. Tomar un hisopo y humedecerlo en la solución amortiguadora previamente esterilizada y contenida en frascos y limpiar esa superficie con el hisopo extendiéndolo hasta cubrir el área. El frotis se hará procurando hacerlo con un

ángulo de 30° y haciendo pasar el hisopo tres veces por la misma superficie de derecha a izquierda. En caso de muestrear superficies secas, el hisopo estará humedecido con agua estéril, agua de peptona tamponada, o medio con neutralizantes de detergentes y desinfectantes.

- d. Suspender la posible flora bacteriana en el diluyente que es la posible solución amortiguadora contenida en el frasco, dejar el hisopo dentro del frasco (a partir de éste se hará un recuento tomando esta muestra como diluyente inicial).

NOTA: verificar que el frasco cierre correctamente.

- e. Colocar el frasco dentro de la hielera con el gel refrigerante, donde permanecerá hasta su llegada al laboratorio.
- f. Para su siembra en el laboratorio se seguirá el procedimiento respectivo tomando como muestra inicial 1mL de la solución amortiguadora de fosfatos inoculada de manera directa y luego hacer el mismo análisis comenzando a trabajar con diluciones a partir de la muestra inicial.
- g. A estas diluciones se le adicionará el medio de cultivo previamente esterilizado y atemperado.
- h. Transcurrido el tiempo de incubación de acuerdo al procedimiento de siembra se sacará la caja de la incubadora y usando una lente de aumento se contarán las colonias de la placa reportando el resultado (y tomando cuenta las diluciones en caso de que las haya).

Anexo A.10. Resultados de las variables respuestas

Parámetro	Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Humedad	A:Almidón	4.80794	1	4.80794	0.95	0.3443
	B:Glicerina	84.5551	1	84.5551	16.70	0.0009
	C:Colágeno	176.302	1	176.302	34.83	0.0000
	AB	96.2642	1	96.2642	19.02	0.0005
	AC	9.9975	1	9.9975	1.97	0.1791
	BC	67.0405	1	67.0405	13.24	0.0022
	ABC	5.68621	1	5.68621	1.12	0.3050
	Error total	80.9996	16	5.06247		
	Total (corr.)	525.653	23			
Grosor	A: Almidón	0.0234375	1	0.0234375	26.79	0.0001
	B:Glicerina	0.0000375	1	0.0000375	0.04	0.8386
	C:Colágeno	0.0045375	1	0.0045375	5.19	0.0369
	AB	0.0301042	1	0.0301042	34.40	0.0000
	AC	0.00150417	1	0.00150417	1.72	0.2083
	BC	0.00700417	1	0.00700417	8.00	0.0121
	ABC	0.0009375	1	0.0009375	1.07	0.3160
	Error total	0.014	16	0.000875		
	Total (corr.)	0.0815625	23			
Densidad	A:Almidón	0.0036015	1	0.0036015	0.24	0.6284
	B:Glicerina	0.0239402	1	0.0239402	1.62	0.2214
	C:Colágeno	0.0504167	1	0.0504167	3.41	0.0834
	AB	0.0428415	1	0.0428415	2.90	0.1081
	AC	0.030246	1	0.030246	2.05	0.1719
	BC	0.0154027	1	0.0154027	1.04	0.3226
	ABC	0.000170667	1	0.000170667	0.01	0.9158
	Error total	0.236609	16	0.014788		
	Total (corr.)	0.403228	23			
Opacidad	A:Almidón	2406.0	1	2406.0	0.49	0.4924
	B:Glicerina	26584.1	1	26584.1	5.46	0.0329
	C:Colágeno	864.24	1	864.24	0.18	0.6793
	AB	8074.74	1	8074.74	1.66	0.2163
	AC	3263.87	1	3263.87	0.67	0.4252
	BC	1205.02	1	1205.02	0.25	0.6258
	ABC	694.666	1	694.666	0.14	0.7107
	Error total	77969.0	16	4873.06		
	Total (corr.)	121062.	23			
Permeabilidad al vapor de agua	A:Almidón	0.000495042	1	0.000495042	14.85	0.0014
	B:Glicerina	0.00484504	1	0.00484504	145.35	0.0000
	C:Colágeno	0.000009375	1	0.000009375	0.28	0.6032
	AB	0.000187042	1	0.000187042	5.61	0.0308
	AC	0.00000704167	1	0.00000704167	0.21	0.6520
	BC	0.000145042	1	0.000145042	4.35	0.0534
	ABC	0.00000104167	1	0.00000104167	0.03	0.8619
	Error total	0.000533333	16	0.0000333333		
	Total (corr.)	0.00622296	23			
Esfuerzo de Tensión	A:Almidón	4.14004	1	4.14004	1.62	0.2208
	B:Glicerina	51.7793	1	51.7793	20.31	0.0004

*Obtención de Polímeros Biodegradables a partir de Almidón de Papa y Yuca como Material de
Empaque para la Conservación de Productos Alimenticios*

C:Colágeno	3.58981	1	3.58981	1.41	0.2527
AB	0.906371	1	0.906371	0.36	0.5594
AC	1.31508	1	1.31508	0.52	0.4830
BC	1.31883	1	1.31883	0.52	0.4824
ABC	2.5676	1	2.5676	1.01	0.3306
Error total	40.7988	16	2.54992		
Total (corr.)	106.416	23			

Parámetro	Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Degradación en Ambiente Húmedo	A:Almidón	0.0416667	1	0.0416667	0.05	0.8339
	B:Glicerina	0.0416667	1	0.0416667	0.05	0.8339
	C:Colágeno	1.04167	1	1.04167	1.14	0.3022
	AB	0.0416667	1	0.0416667	0.05	0.8339
	AC	1.04167	1	1.04167	1.14	0.3022
	BC	1.04167	1	1.04167	1.14	0.3022
	ABC	1.04167	1	1.04167	1.14	0.3022
	Error total	14.6667	16	0.916667		
	Total (corr.)	18.9583	23			
Degradación en Ambiente Soterrado	A:Almidón	0.0	1	0.0	0.00	1.0000
	B:Glicerina	0.0	1	0.0	0.00	1.0000
	C:Colágeno	0.0	1	0.0	0.00	1.0000
	AB	0.0	1	0.0	0.00	1.0000
	AC	0.0	1	0.0	0.00	1.0000
	BC	0.0	1	0.0	0.00	1.0000
	ABC	0.0	1	0.0	0.00	1.0000
	Error total	5.33333	16	0.333333		
	Total (corr.)	5.33333	23			
Degradación a la Exposición Solar	A:Almidón	1.04167	1	1.04167	0.04	0.8349
	B:Glicerina	1.04167	1	1.04167	0.04	0.8349
	C:Colágeno	1.04167	1	1.04167	0.04	0.8349
	AB	0.375	1	0.375	0.02	0.9004
	AC	0.375	1	0.375	0.02	0.9004
	BC	0.375	1	0.375	0.02	0.9004
	ABC	1.04167	1	1.04167	0.04	0.8349
	Error total	371.333	16	23.2083		
	Total (corr.)	376.625	23			



**NORMA DE QUESOS FRESCOS NO
MADURADOS.
Especificaciones**

**NTON
03 022 - 99**

**Comisión Nacional de Normalización Técnica y Calidad, Ministerio de Fomento, Industria y Comercio
Telefax: 2774671, Norma Técnica Nicaragüense (NTN)**

NORMA TECNICA OBLIGATORIA NICARAGÜENSE

Derecho de reproducción reservado

La Norma Técnica Nicaragüense 03 022-99 ha sido preparada por el Grupo de Trabajo de Productos Lácteos del Comité Técnico de Alimento y en su elaboración participaron las siguientes personas:

Rito Aguilar	Ministerio Agropecuario y Forestal (MAG-FOR)
Alfonso Arena	Ministerio Agropecuario y Forestal (MAG-FOR)
Manuel Bermúdez	Cámara de Comercio de Nicaragua (CACONIC)
Miguel Mendoza Hurtado	Cooperativa San Francisco. Lácteos Camoapan
Ramiro Rivera Amador	Cooperativa Ometepe, Lácteos Ometepe.
Noemí Solano	Ministerio de Fomento, Industria y Comercio (MIFIC)
Rigoberto Batres	Cámara de Industria de Nicaragua (CADIN)
Gilberto Solis	Cámara de Industria de Nicaragua (CADIN)
Edgardo Pérez	Ministerio de Salud (MINSAL)
Luis Manuel Saballos	Centro de Asistencia Técnica para la Pequeña y Mediana Industria (CATPYMI/MIFIC)
Jaime Mercado	Industria Láctea La Selecta
Ulises Miranda	Cooperativa Agropecuaria Santo Tomás, Chontales
Judith Rivera	Laboratorio de Tecnología de los Alimentos (LABAL-MIFIC)
Pedro Méndez	Cooperativa ASOQUEFVH. Rio Blanco.
Nicolás Escobar	Industria Láctea La Perfecta.
Ninoska Granja	Asociación Queseros de Boaco

Esta norma fue aprobada por el Comité Técnico en su última sesión de trabajo el día 28 de abril de 1999.

1. OBJETO

La presente norma tiene por objeto establecer las características y especificaciones que deben cumplir los quesos frescos o no madurados.

2. CAMPO DE APLICACION

Esta norma es aplicable únicamente a los quesos frescos o no madurados, o sea los que están listos para el consumo poco después de su fabricación.

3. DEFINICIONES

3.1 Queso: Es el producto fresco o madurado, sólido o semisólido, obtenido por la coagulación de leche, leche descremada, leche parcialmente descremada, leche en polvo, crema, crema de suero, o suero de mantequilla o una combinación cualquiera de éstas, por la acción de cuajo u otros coagulantes apropiados, con o sin aplicación de calor, y con o sin la adición de otros ingredientes y aditivos alimentarios.

3.2 Queso condimentado y/o saborizado. Es el queso al cual se han agregado condimentos y/o saborizantes naturales o artificiales autorizados por la entidad competente.

3.3. Queso no madurado. Es el queso que está listo para su consumo inmediatamente después de su fabricación.

3.4 Queso cottage. Es el queso no madurado, escaldado o no, de alta humedad, de textura blanda o suave, granular o cremosa, preparado con leche descremada, coagulada con enzimas y/o por cultivos lácticos, cuyo contenido de grasa lácteas es inferior a 2% m/m (masa / masa).

3.5 Queso cottage con crema. Es el queso cottage al que se le ha agregado crema, de manera que su contenido de grasa láctea es igual o mayor de 4% m/m (masa / masa).

3.6 Queso quark (quarg). Es el queso no madurado ni escaldado, alto en humedad, de textura blanda o suave, preparado con leche descremada y concentrada, cuajada con enzimas y/o por cultivos lácticos y separados mecánicamente del suero, cuyo contenido de grasa láctica es variable, dependiendo si se agrega crema o no durante su elaboración.

3.7 Queso ricotta. Es el queso no madurado, escaldado, alto en humedad, de textura granular blanda o suave, preparado con suero de leche o suero de queso con leche, cuajada por la acción del calor y la adición de cultivos lácticos y ácidos orgánicos, cuyo contenido de grasa láctea es igual o superior a 0.5 % m/m, cuando se ha empleado solamente suero de leche en la preparación e igual o superior a 4 % m/m (masa / masa) cuando se ha empleado leche.

3.8 Queso crema. Es el queso no madurado ni escaldado, con un contenido relativamente alto de grasa, de textura homogénea, cremosa, no granulada, preparado con crema sola o mezclada con leche y cuajada con cultivos lácticos y opcionales con enzimas adicionales a los cultivos lácticos.

3.9 Queso fresco. Es el queso no madurado ni escaldado, moldeado, de textura relativamente firme, levemente granular, preparado con leche entera, semidescremada, coagulada con enzimas y/o ácidos orgánicos, generalmente sin cultivos lácticos. También se designa como queso blanco.

3.10 Queso de capas o capitas. Es el queso moldeado de textura relativamente firme, no granular, levemente elástica preparado con leche entera, cuajada con enzima y/o ácidos orgánicos generalmente sin cultivos lácticos.

3.11 Queso duro. Es el queso no madurado, escaldado o no, prensado, de textura dura, desmenuzable, preparado con leche entera, semidescremada o descremada, cuajada con cultivos lácticos y enzimas, cuyo contenido de grasa es variable dependiendo del tipo de leche empleada en su elaboración y tiene un contenido relativamente bajo en humedad.

3.12 Queso mozzarella. Es el queso no madurado, escaldado, moldeado, de textura suave elástica (pasta filamentos), cuya cuajada puede o no ser blanqueada y estirada, preparado de leche entera, cuajada con cultivos lácticos, enzimas y/o ácidos orgánicos y artificiales.

3.13 Quesillo criollo. Es el queso no madurado, escaldado, alto en humedad con textura blanda suave y elástica fabricado con leche, acidificada con ácido láctico, cuajado con cuajo líquido.

3.14 Queso de suero o requesón. Es el producto obtenido por la concentración de suero y el moldeo del suero concentrado, con o sin la adición de leche y grasa de leche, cuyo contenido es variable según la materia prima utilizada.

3.15 Queso con Quesillo. Queso no madurado alto en humedad con textura suave o cremosa preparado con leche mezclado con quesillo criollo, tiene alto contenido de grasa listo para el consumo inmediato después de su fabricación.

3.16 Queso Descremado. Queso no madurado con un contenido relativamente bajo en grasa de textura homogénea preparado con leche descremada.

3.17 Queso frescal criollo. Queso no madurado preparado con leche descremada de con 2% de , se le adiciona cultivo láctico con un contenido relativamente bajo en grasa como producto terminado con textura homogénea

4. CLASIFICACION DE LOS QUESOS

4.1 Clasificación. El producto se clasificará de acuerdo a su composición y características físicas en los siguientes tipos:

Según el contenido de humedad

- a) Duro.
- b) Semiduro.
- c) Semiblando.
- d) Blando.

Según el contenido de grasa láctea

- a) Rico en grasa.
- b) Graso.
- c) Semigraso.
- d) Magro

Según características del proceso

- a) Fresco: Para consumir hasta 10 días después de su fabricación.
- b) Semiduro: Para consumir después de reposar entre 10 y 30 días después de su fabricación.
- c) Madurado: Para consumir después de el tiempo asignado según el tipo de queso.
- d) Madurado por mohos.
- e) Fundido.

El queso se designa por su nombre, seguido de la indicación del contenido de humedad, contenido de grasa láctea y características del proceso. La prueba de fosfatasa será negativa para el queso fabricado con leche pasterizada.

Caracterización de los quesos

Tipo o clase	Humedad %max	Contenido de grasa en extracto en % masa
Semiduro	55	-
Duro	40	-
Semiblando	65	-
Blando	80	-
Rico en grasa	-	60
Graso	-	45
Semigraso	-	20
Magro	-	0.1
Semimagro	-	0.5

4.2 Designación. El producto se designará por una expresión que permita identificar claramente la clase de queso que corresponda; adicionalmente podrá designarse por un nombre regional reconocido o por un nombre comercial específico.

5. MATERIAS PRIMAS Y MATERIALES

5.1 Para la elaboración de los quesos no madurado se podrán emplear los siguientes ingredientes, los cuales deberán cumplir con las demás normas relacionadas o en su ausencia, con las normas del Codex Alimentarius.

- a) Leche pasterizada entera, semidescremada o descremada, leche evaporada, leche en polvo, crema o suero de leche; también se podrá emplear leche sometida a otros procesos tecnológicos y cuyas características microbiológicas sean equivalentes o mejores que las de la leche pasterizada.

Nota: La leche fresca utilizada para elaborar los quesos frescos no madurados no debe contener preservantes ni adulterantes.

- b) Enzimas y/o cultivo de bacterias inocuas
- c) Sal para consumo humano (grado alimentario)
- d) Aditivos alimentarios autorizados
- e) Cualquier otro tipo de producto de calidad comestible cuyo uso sea reconocido para la elaboración de quesos no madurados en sus diferentes tipos.

6. ESPECIFICACIONES Y CARACTERISTICAS

6.1 Características generales. Los quesos no madurados deberán ser elaborados con ingredientes limpios, sanos, libres de contaminación y de insectos en cualesquiera de sus etapas evolutivas, así como de cualquier defecto que pueda afectar su comestibilidad, el buen aspecto del producto final o a su posibilidad de adecuadas conservación; los quesos no madurados deberán ser elaborados y envasados bajo estrictas condiciones higiénicas sanitarias.

6.2 Características sensoriales. La apariencia, la textura, el color, el olor y el sabor de los quesos no madurados deberán ser los característicos para el tipo de queso que corresponda y deberán estar libres de los defectos indicados a continuación.

- a) Defectos del sabor: Fermentado, rancio, agrio, quemado, o cualquier otro sabor anormal o extraño.
- b) Defectos en el olor: Fermentado, amoniacal, fétido, rancio, mohoso, o cualquier olor anormal o extraño.
- c) Defectos en el color: Anormal; no uniforme, manchado o moteado, provocado por crecimiento de mohos o microorganismos que no correspondan a las características del queso de que se trate.
- d) Defectos en la textura: No propia o con cristales grandes de lactosa con consistencia ligosa acompañada de olor desagradable
- e) Defectos en la apariencia No propia, con cristales grandes de lactosa, sucia o con desarrollo de mohos u otros hongos.

6.3 Características químicas. El producto deberá cumplir con las características químicas especificadas en la tabla 1 :

Tabla 1. Características químicas

Tipo de queso no madurado	Humedad % en masa, máximo	Grasa láctea, % en masa, en base húmeda
1. Queso cottage	80.0	no mayor de 2.0
2. Queso cottage con crema	80.0	no menor de 4.0
3. Queso quark	80.0	no mayor de 8.0
4. Queso quark alto en grasa	60.0	no menor de 18.0
5. Queso ricotta (elaborado solamente con suero de leche)	80.0	no menor de 0.5 (*)
6. Queso crema	65.0	no menor de 24.0
7. Queso fresco, bajo en grasa	70.0	no mayor de 1.2
8. Queso fresco	70.0	no menor de 1.23
9. Queso de capas	45.0	no menor de 1.4
10. Queso duro	39.0	no menor de 9.0
11. Queso mozzarella	60.0	no menor de 18.0
12. Quesillo alto en grasa	60.0	no menor de 18.0
13. Quesillo bajo en grasa	60.0	no mayor de 18.0
14. Queso de suero	80.0	> 10 < 33
15. Queso con quesillo	75.0	no menor de 24.0
16. Queso Descremado	75.0	no mayor de 2
17. Queso Frescal Criollo	80.0	no mayor de 1.2

(*) Cuando se declare leche entre los ingredientes empleados en la elaboración, el requisito será de 4% como mínimo.

6.4 Características microbiológicas El producto no podrá contener microorganismos en número mayor a lo especificado en la tabla 2 :

Tabla 2. Características microbiológicas

Microorganismos	n(1)	c(2)	m(3)	M(4)
Staphylococcus aureus, UFC/cm ³	5	1	10 ²	10 ³
Coliformes totales, UFC/cm ³	5	2	200	500
Coliformes fecales, UFC/UFC cm ³	5	1	10	10
Escherichia coli, UFC/cm ³	5	0	0	0
Salmonella en 25 gramos	5	0	0	0

(1) n = Número de muestras que deben analizarse

(2) c = Número de muestras que se permite que tengan un recuento mayor que m pero no mayor que M.

(3) m = Recuento máximo recomendado

(4) M = Recuento máximo permitido

6.5 Aditivos Alimentarios. Los aditivos alimentarios deberán cumplir con las normas relacionadas o en su ausencia, con las normas del Codex Alimentarius.

6.5.1 Reguladores del pH. Se podrán emplear como reguladores del pH los ácidos o álcalis indicados en la tabla 3 :

Tabla 3. Reguladores del pH

Reguladores del pH	Dosis máxima en el producto final
Acido cítrico	40 grs/kg
Acido fosfórico	9 grs/kg
Acido acético	40 grs/kg
Acido láctico	40 grs/kg

6.5.2 Coadyuvantes de la coagulación. Se podrá emplear como coadyuvante de la coagulación el cloruro de calcio en una cantidad máxima de 0.02 % m/m, con respecto a la leche empleada en la elaboración y referido a la sal anhidra.

6.5.3 Estabilizadores. Se podrán emplear las sustancias estabilizantes que se indican en la tabla siguiente, preferiblemente en los casos de queso cottage, queso cottage con crema y queso crema.

Tabla 4. Estabilizadores

Estabilizadores	Dosis máximas en el producto final
- Goma del algarrobo	0.5 %, expresado en masa, sólo o mezclados. (Para todos los Estabilizadores)
- Goma karaya	
- Goma guar	
- Gelatina	
- Carboximetil celulosa de sodio	
- Carragenina	
- Goma de avena	
- Alginatos de sodio y potasio	
- Alginato de propilen glicol	
- Goma Xanthán	
- Locus Bean Gum	

6.5.4 Conservadores Solamente en los quesos no madurados que se presenten rodajeados o en porciones equivalentes a unidades de consumo se podrá emplear como conservador el ácido sórbico y/o sus sales de sodio y potasio en una cantidad máxima de 0.3 % expresado en masa en el producto final y referido a ácido sórbico.

6.5.5 Sustancias para ahumado El producto podrá ser opcionalmente ahumado mediante las técnicas tradicionales; o bien, podrá ser adicionado con sustancias preparadas por condensación o precipitación del humo de madera, en cantidad necesaria para lograr el efecto deseado.

6.5.5.1 La madera empleada debe ser no resinosa y no debe haber sido tratada con barniz, pintura, adhesivos, aglomerantes o sustancias químicas de cualquier índole.

6.6 Verificación de la adulteración del producto con grasa no láctea. La grasa extraída del producto deberá cumplir con las siguientes características.

- a) El perfil de ácidos grasos deberá ser el característico de la grasa láctea
- b) La relación de los ácidos grasos C_{14}/C_{16} no deberá ser mayor de 3.0
- c) El análisis de esteroides deberá mostrar ausencia de fitoesteroides (trazas de grasa vegetal).

6.7 Pruebas de fosfatasa. Esta deberá ser negativa.

7. MUESTREO

7.1 Toma de muestras. La toma de muestra se llevará a cabo siguiendo el procedimiento descrito en la norma del Codex Alimentarius de la FAO/OMS (según la norma No. B1 de la FAO/OMS, “Toma de Muestra de Leche y de Productos Lácteos”, párrafos 2 y 7); para los análisis microbiológicos deberán tomarse 5 muestras por lote y para los análisis físicos y químicos deberá tomarse el número de muestras que indica la norma antes mencionada, de acuerdo al número de unidades que componen el lote. Las muestras se podrán tomar en la fábrica o en los lugares de distribución y venta.

7.2 Lote. Es una cantidad determinada de producto de características similares que ha sido elaborado bajo condiciones de producción manteniendo un control adecuado en la uniformidad, y que se identifica por tener un mismo código o clave de producción.

7.3 Inspección y Control La inspección y verificación de la calidad del queso serán practicadas por los organismos legalmente competentes para tal fin.

8. METODOS DE ENSAYOS Y ANALISIS (Método de la AOAC)

8.1 Determinación del contenido de grasa. La determinación del contenido de grasa se lleva a cabo de acuerdo al método correspondiente del Codex Alimentarius de la FAO/OMS (según la norma B.3 de la FAO/OMS: “Determinación del Contenido de Materia Grasa del Queso y de los Quesos Fundidos”).

8.2 Verificación del contenido neto. Dicha verificación se llevará a cabo de acuerdo al procedimiento descrito en la Norma ICAITI 49 015.

8.3 Otros ensayos y análisis. La determinación de los demás requisitos especificados en la presente norma se llevará a cabo de acuerdo con las técnicas analíticas del Codex Alimentarius.

9. ENVASE Y ROTULADO

9.1 Envase. Los envases para los quesos no madurados deberán ser de materiales de naturaleza tal que no alteren las características sensoriales del producto ni produzcan sustancias dañinas o tóxicas.

9.2 Etiqueta. Para los efectos de esta norma, las etiquetas deberán cumplir con la Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense 03 021 – 99

9.3 Embalaje. Los embalajes deberán cumplir con las Normas establecidas.

10 ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

Las condiciones de almacenamiento y transporte cumplirán con las normas higiénicas sanitarias vigentes en el país.

11. REFERENCIAS

- a) Norma ICAITI 34 197:88 Quesos no madurados. Especificaciones.
- b) Code of Federal Regulation.
- c) Codex Alimentarius. FAO/OMS.
- d) Tecnología de la Industria Lechera E. Aa. Hansen. Paasch & Silkeborg Maskinfabrikker.
- e) Tecnología y Control de Calidad de Productos Lácteos FAO.
- f) Tecnología de Quesos Frescos . Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad de Colombia.