

**Título del Proyecto
de Investigación a que corresponde el Reporte Técnico:**

Elaboración de biopelículas de quitosano-almidón y nanopartículas de ZnO para empaques biomédicos.

Tipo de financiamiento

Sin financiamiento

Autores del reporte técnico:

Aarón Ashmed Flores Hernández, Carlos López Díaz de León, Concepción Chavarría, Adriana Martel Estrada, Juan Francisco Hernández Paz, Imelda Olivas Armendáriz y Claudia Alejandra Rodríguez González.

Elaboración de biopelículas de quitosano-almidón y nanopartículas de ZnO para empaques biomédicos.

Resumen del reporte técnico en español

Esta investigación se centra en el desarrollo y la caracterización de películas de polímeros a base de quitosán y almidón, reforzadas con nanopartículas de óxido de zinc obtenidas de baterías de desecho. Se sintetizaron películas biodegradables reforzadas con nanopartículas de ZnO (1-7%) con espesores entre 136 μm y 151 μm por el método de vaciado. Lográndose una distribución de nanopartículas homogénea y embebidas en la matriz polimérica con topografía de la superficie irregular. Se incrementó la resistencia al agua de las películas con la adición de nanopartículas de ZnO. Las películas no mostraron un efecto citotóxico. Se obtuvo una relación entre el porcentaje de viabilidad celular y la concentración de nanopartículas presentes en la película, a mayor concentración de nanopartículas y mayores tiempos de exposición, menores porcentajes de viabilidad celular. De acuerdo con las propiedades multifuncionales de las películas se determinó que presentan propiedades adecuadas para ser utilizados como empaques, incluso en la industria alimentaria.

Resumen del reporte técnico en inglés

This research focuses on the development and characterization of chitosan and starch-based polymer films, reinforced with zinc oxide nanoparticles obtained from waste batteries. Biodegradable films reinforced with ZnO nanoparticles (1-7%) were synthesized with thicknesses between 136 μm and 151 μm by the casting method. Achieving a homogeneous nanoparticle distribution embedded in the polymer matrix with irregular surface topography. The water resistance of films with the addition of ZnO nanoparticles was increased. The films did not show a cytotoxic effect. A relationship was obtained between the percentage of cell viability and the concentration of nanoparticles present in the film, at higher concentration of nanoparticles and longer exposure times, lower percentages of cell viability. According to the multifunctional properties of the films it was determined that they have suitable properties to be used as packaging, even in the food industry.

Palabras clave: óxido de zinc, nanopartículas, pilas alcalinas, biopelículas, quitosano, almidón.

Usuarios potenciales

Industria de empaques

Reconocimientos

CONACYT por apoyo a becarios

1. INTRODUCCIÓN

En nuestros días se tienen grandes cantidades de material que termina su tiempo de vida, y no se cuenta con el paso siguiente en el ciclo de vida del producto, que les permita no generar basura y sirvan para ser parte de otro producto, ocasionando grandes cantidades de material que llamamos comúnmente basura y que ambientalmente nos representa un peligro, esto debido a la contaminación latente que puede generar a su alrededor. Esta situación que ha derivado en una gran cantidad de yacimientos de recursos antropogénicos, generadores de contaminación ambiental, al punto que pueden perjudicar la salud humana, producir daños a la flora y fauna, cambios al ecosistema y molestias estéticas, entre otras. Lo anterior ha generado el interés por parte de la sociedad, políticos, empresarios, científicos, etc., por la mejora y cuidado del medio ambiente y los recursos naturales, en un entorno cambiante, el cual debe estar caracterizado por un desarrollo sostenible y un incremento en la concientización y legislación relativa a la protección medioambiental.

Lo anterior ha derivado el interés en el uso de películas de polímeros biodegradables, así como en la investigación sobre el ciclo de vida de diferentes materiales y su reutilización a través de su incorporación a otros procesos [1-3]. Entre los polímeros biodegradables que se han utilizado para la fabricación de películas para envasado de alimentos se encuentran los polisacáridos como el almidón, y el quitosano que son ampliamente conocidos por su disponibilidad al provenir de una fuente renovable, muy amplia, estable y de bajo costo [4-7]. Siendo el quitosano un biopolímero antimicrobiano, biodegradable, biocompatible y con propiedades biofuncionales únicas [6, 8], lo que lo hace un potencial

candidato como sustituto para materiales sintéticos como medio para reducir los impactos negativos en el medio ambiente cuando es utilizado en la fabricación de envases activos. Cabe mencionar que el quitosano se ha utilizado en aplicaciones como: prevención de la contaminación [9], en medicina contra la hipertensión, actividad antimicrobiana e hipocolesterolemia [10], encapsulación de sabores, recubrimientos de semillas, formación de película [11] y liberación controlada de ingredientes y medicamentos comestibles [12]. Por otro lado, el almidón se ha utilizado en la fabricación de películas biodegradables y comestibles para reducir la pérdida de humedad, restringir la absorción de oxígeno, disminuir la migración de grasas, controlar la transferencia de los componentes del sabor, con el fin de aumentar la vida útil y evitar el deterioro de la calidad de los productos alimenticios [4, 13-14].

Por otra parte, en los últimos años, se ha incrementado la demanda de nanomateriales como el óxido de zinc, al ser utilizado en la fabricación de películas para envasado de alimentos, con el fin de mejorar las propiedades mecánicas, de barrera, antibacteriales, de humectabilidad y su capacidad para bloquear radiación UV [15-16]. Proporcionando lo anterior la oportunidad de satisfacer esta necesidad a través del uso de nanopartículas de óxido de zinc obtenidas de baterías de desecho, dando valor a la obtención de materiales que tienen una demanda tecnológica, además de ayudar a reducir la contaminación en el medio ambiente, utilizando un método de síntesis respetuoso con el medio ambiente como la química húmeda sol gel [17].

2. PLANTEAMIENTO

En los últimos tiempos el embalaje ha tenido un papel importante en la calidad de los alimentos durante su almacenamiento, transporte y mantenimiento. Tradicionalmente los polímeros han sido utilizados como empaques, debido a sus buenas propiedades mecánicas, bajo costo, baja permeabilidad al vapor de agua y alta compatibilidad con diferentes alimentos. El aumento de la demanda de alimentos y el uso de empaques poliméricos obtenidos de fuentes no renovables pueden contribuir a la acumulación y, a menudo, a la eliminación inadecuada de estos materiales que presentan una alta durabilidad. Por lo que las películas biodegradables son una alternativa para reemplazar o

minimizar el uso de empaques no biodegradables, debido a los impactos relacionados con estos materiales.

Nuevos materiales de fuentes renovables como el quitosano [11], gelatina [18], metilcelulosa [19], proteína de girasol [20] y almidón han sido utilizados en la fabricación de películas delgadas biodegradables. El almidón es uno de los polímeros más estudiados para el desarrollo de películas delgadas biodegradables porque presenta un bajo costo, es fácil de obtener y tiene una buena capacidad para formar películas [21-22]. Los estudios han demostrado que las películas obtenidas de almidón tienen una buena homogeneidad, flexibilidad, transparencia y rápida biodegradabilidad [23]. Por esta razón, este polímero es prometedor para el desarrollo de películas biodegradables, que pueden usarse sin ningún tratamiento antes del procesamiento, con o sin la adición de plastificantes y fáciles de obtener mediante técnicas sencillas, además de actuar como portadores de compuestos activos, siendo por ello una buena alternativa como sustituto de los empaques no biodegradables [24-26].

Por otra parte, el quitosano ha sido utilizado en aplicaciones como en la prevención de contaminación de agua, medicina contra la hipertensión, actividad antimicrobiana y hipocolesterolémica, encapsulamiento de sabor, recubrimiento de semillas, formación de películas y liberación controlada de ingredientes comestibles y fármacos [27-31]. El costo relativamente bajo, la disponibilidad para obtenerlo siendo su fuente renovable, muy amplia y estable, por ser el desperdicio de la costra de mariscos de la industria de alimentos del mar, además de la habilidad del quitosano de formar buenas películas son razones primarias para ver nuevas aplicaciones para este polímero [32].

Las películas de polímeros biodegradables, no significan el reemplazo total de películas de empaque de polímeros sintético, pero son una opción para reducir la pérdida de humedad, restringir la absorción de oxígeno, aroma y migración de lípidos entre componentes alimenticios donde los empaques tradicionales no funcionan, para disminuir la migración de grasas, para mejorar las propiedades mecánicas de manejo, para proveer protección física, o para ofrecer una alternativa para los materiales comerciales de empaque [33-35]. El uso de biopolímeros como el almidón y el quitosano puede ser una

opción interesante porque estos polímeros son relativamente baratos, abundantes, biodegradables y comestibles [27].

La tecnología de composites están emergiendo con la ciencia a nanoescala, liderando el desarrollo de la ciencia y tecnología de nanocomposites [36]. La incorporación de nanopartículas dentro de matrices poliméricas ha permitido la mejora de sus propiedades térmicas, mecánicas y de barrera de gases [37]. Recientemente materiales inorgánicos como metales y óxidos metálicos han llamado la atención de la investigación de nanotecnología, debido a su habilidad para resistir condiciones duras de su proceso. Entre los óxidos metálicos que han sido utilizados se encuentran el ZnO, TiO₂, MgO y CaO los cuales han recibido interés particular porque de acuerdo con varias investigaciones son seguros para animales y humanos [38-39]. Por otro lado, la actividad antibacteriana de un polímero se obtiene generalmente agregando partículas metálicas, siendo los óxidos metálicos muy utilizados para desarrollar esta actividad antimicrobiana. Las partículas ZnO se presentan, en varias investigaciones, como la mejor y más segura solución para el empaque de alimentos. Por lo tanto, las partículas de ZnO se han incorporado recientemente en un número de polímeros diferentes para mejorar las propiedades antibacterianas de los materiales de empaque [16, 40], evitando de esta forma la proliferación microbiana de agentes patógenos alimentarios como *Escherichia Coli* y *Staphylococcus aureus*.

Por lo tanto, los bionanocomposites representan la nueva generación de nanocomposites, y comprende la combinación de biopolímeros y materiales inorgánicos que tiene al menos uno de escala nanométrica. Los bionanocomposites son un material emergente de nanoestructura de material híbrido en la frontera entre la ciencia de materiales nanotecnológicos y la ciencia de la vida [41]. Los esfuerzos se han apegado al desarrollo de nanobiocomposites para el mejoramiento de propiedades térmicas, mecánicas y propiedades funcionales debidas a la matriz o a las nanopartículas de rellenos [42, 43].

Por otra parte, la disposición de baterías de desecho ha representado un problema medio ambiental de metales pesados que son descartados al ambiente; ya que son desechadas sin un sorteo municipal de desechos. Dentro del nivel de administración de recursos, las pilas

han sido consideradas como una fuente secundaria de materias primas. Ya que metales valiosos como zinc, manganeso y acero pueden ser recuperados y puestos en el mercado para la fabricación de pilas o de otros productos [44].

Entre los procesos para el reciclado de baterías que han sido utilizados se encuentran: los procesos físicos, pirometalúrgicos, hidrometalúrgicos, lixiviado neutro y lixiviación ácida. Siendo los más utilizados, principalmente en Europa, los pirometalúrgicos e hidrometalúrgicos. Siendo el método hidrometalúrgico de extracción, considerado un proceso más amigable al ambiente, ya que los reactivos que requiere son poco menos peligrosos y los residuos que genera son mínimos y la contaminación es menor. Este método se caracteriza por diferentes pasos de pretratamiento seguido por lixiviación y separación de metales por electrolisis, extracción o precipitación [44, 45].

Algunos métodos que han sido utilizados para la síntesis de nanoestructuras de óxido de zinc (ZnO) son el proceso sol gel [46], evaporación simple [47] y transporte vapor fase [48], entre otros. Siendo la técnica sol gel la que destaca por su simplicidad, su excelente control composicional, baja temperatura de cristalización, y gran área de cobertura a bajo costo [38, 49]. A través del uso de este método se han logrado obtener nanoestructuras de ZnO en forma de barra, alambres, cintos, plaquetas y puntos. Llegando los investigadores a resaltar que es un método con el cual se puede obtener una distribución homogénea de tamaño del producto final, y se puede ser capaz de controlar la morfología de la nanopartícula de ZnO [50].

Por otro lado, el óxido de zinc ha sido ampliamente usado como filtro en absorción UV para aplicaciones en materiales farmacéuticos, cosméticos, materiales de recubrimiento y pigmentos [51, 52]. En adición el uso de nanopartículas de óxido de zinc es considerado un método viable para la prevención de enfermedades infecciosas mediante los efectos antimicrobianos del óxido de zinc [53, 53].

Por lo anterior este proyecto de investigación se enfocó a la fabricación y caracterización de películas poliméricas base quitosano y almidón reforzadas con nanopartículas de óxido de zinc obtenidas a través de pilas de desecho.

3. METODOLOGÍA

Síntesis y caracterización de nanopartículas de ZnO por el método sol-gel.

Se utilizaron pilas alcalinas tipo D de desecho como fuente de zinc para la síntesis de las nanopartículas. Las baterías se cortaron longitudinalmente y sus ánodos se separaron manualmente del resto de los materiales, se pesaron y se analizaron mediante absorción atómica para cuantificar el contenido de zinc. Enseguida, se pulverizaron con un mortero de ágata y se lavaron tres veces con agua desionizada para eliminar los contaminantes. Se utilizó Microscopía electrónica de barrido (Jeol JSM-7000F), Espectroscopía de rayos X de energía dispersiva (EDAX), Análisis de difracción de rayos X (DRX, X'Pert Pro PANalytical, $\lambda = 0.1542$ nm) y Fluorescencia de rayos X (ARL termocientífico) para analizar el polvo, llevado a cabo antes y después del proceso de lavado. Posteriormente, los polvos lavados se lixiviaron utilizando ácido nítrico (HNO₃ JTBaker 9621-02) y peróxido de hidrógeno (H₂O₂, Jaloma S.A.) en la siguiente proporción: Zn-HNO₃-H₂O₂. Las reacciones en el equilibrio se calcularon utilizando el programa FACTSage @ Equilibrium. Una vez que se obtuvo la solución lixiviada, las nanopartículas de ZnO se sintetizaron mediante el método sol-gel utilizando almidón y dextrosa como agentes gelantes. En el caso en que se usó almidón, se disolvieron 10 g de almidón de arroz (Sigma-Aldrich S7260) en 150 mL de agua desionizada a 75°C durante 30 min. Enseguida, se agregó la solución lixiviada y la agitación se mantuvo durante 10 horas a 80°C. Posteriormente, el material se secó en un horno durante 24 horas a 100°C. Se realizó un análisis termogravimétrico (TA Instrument-SDT2960) en los geles secos para determinar la temperatura de calcinación. La calcinación se realizó en un rango de temperatura de 400 ° C a 800° C. Cuando se usó dextrosa como agente sol-gel, se mezclaron 21,4 g de dextrosa (JT Baker DGlucose 1916-01) con 150 mL de agua desionizada y se siguió el procedimiento descrito anteriormente para el almidón, excepto que el tiempo de agitación fue de 5 h en lugar de 10 h. Las nanopartículas resultantes se caracterizaron por las técnicas mencionadas anteriormente, así como por Microscopía Electrónica de Transmisión (Jeol JEM-2200FS) y por Dispersión de Luz Dinámica (Mictotrac-Nanotrac Wave Zetrator). El ensayo de citotoxicidad se realizó con células de fibroblastos 3T3 (ATCC®, 2012) que se sembraron en nanopartículas esterilizadas

(sintetizadas con almidón y calcinadas a 650° C) en una placa de cultivo de 96 pocillos y se mantuvieron en DMEM (GIBCO) suplementado con FBS (Invitrogen) al 10% y estreptomicina / penicilina (GIBCO) al 1% humidificada a 37° C. Con 5% de CO₂. Las células cultivadas en un pozo blanco se usaron como control. Después de 24 y 72 horas, el medio se descartó y se reemplazó con un nuevo medio que contenía MTT (0,5 mg / mL) y se incubó durante 3 horas a 37° C. Los cristales de formazán resultantes se disolvieron en dimetilsulfóxido y se leyó la absorbancia de las soluciones a 570 nm (Benchmark Plus, microplaca 152 espectrofotómetro BioRad).

Síntesis de películas Quitosano/almidón reforzadas con nanopartículas de ZnO.

Para la elaboración de las películas se disolvieron 1.4 g de quitosano (peso medio molecular Aldrich 448877) en 60 mL de solución de ácido acético al 1% (Sigma-Aldrich 99.7% 695092), por otro lado se disolvieron 0.6g de almidón de arroz (Sigma-Aldrich S7260) en 30 mL de agua destilada adicionándole 1 mL de solución acuosa de sorbitol al 70% (Golden Bell 54280), también se adicionó 1 mL de glicerol (99% AlfaAesar 16205) para mejorar la flexibilidad de la película. Ambas soluciones (quitosano y almidón) se mezclaron en agitación constante y se agregaron las nanopartículas de ZnO en proporciones de 1%, 3%, 5% y 7%. Se conservó un blanco de testigo (películas quitosano/almidón sin nanopartículas). Por último, la mezcla se sonicó por 5 min (0.5 Cycle 100 Amplitud%) una vez homogenizada la mezcla se depositó en cajas Petri y se dejó secar por 48 horas.

Caracterización de las películas quitosano/almidón reforzadas con nanopartículas de ZnO.

El análisis composicional de la muestra fue realizado con el difractor de polvos Panalytical X'Pert PRO el cual tiene una radiación de Cu K α ($\lambda = 0.15418$ nm). Se utilizó el material en un rango de $2\theta = 10-80^\circ$ a 40kV y 20 mA. El resultado fue analizado por el programa X'Pert High Score. Los análisis de microscopia electrónica de barrido de emisión de campo se realizaron con un equipo marca Jeol modelo JSM7000F. El tratamiento de las muestras de partículas y películas fue de la siguiente forma: Las distancias de trabajo variaron para las partículas de 4.7mm a 11.4mm en distancia de

trabajo y 10 kV a 20 kV para la energía, y para las películas de 10mm a 13.7mm de distancia de trabajo y 1 kV de energía. Los tamaños de partícula se midieron usando el programa Image J.

La técnica de espectroscopia de dispersión de rayos x se realizó en el microscopio antes mencionado usando el accesorio X-act Penta FET Precision. El análisis termogravimétrico se realizó en un equipo SDT Q600 TA. Se utilizó una rampa de 10° C por minuto, desde temperatura ambiente hasta llegar a una temperatura de 800° C, en atmósfera de nitrógeno. Con el fin de observar los grupos funcionales en la composición de las películas, se analizaron en un espectrómetro infrarrojo FT-IR (Nicolet 6700) en la región de IR medio. Las películas fueron cortadas y montadas en un adaptador de ATR con cristal de Germanio para su análisis. La técnica de barrido de luz se hizo en un equipo Nanotracc-Wave Microtracc para la medición de tamaño de partícula en esta técnica la muestra se tiene que suspender en un líquido, usando agua, alcohol etílico, tetracloruro de carbono, tolueno, DMSO. El carácter hidrófilo de las películas se evaluó con la medición del ángulo de contacto mediante la deposición de una gota de agua destilada en la parte de la superficie superior de cada muestra, a una temperatura ambiente media de 25° C, utilizando un goniómetro (KRUSS, DSA30); con las dimensiones aproximadas de cada muestra de 1 x 5 cm, y el valor de ángulo de contacto fue dado por el promedio de los ángulos de la gota obtenida. Se realizaron tres repeticiones para cada película en el análisis. Las propiedades mecánicas fueron realizadas utilizando un equipo DMA2890 TA Instrument modo multifrecuencia, mordaza tipo dual cantiléver. Usando una rampa de calentamiento 5° C por minuto frecuencia 1Hz, iniciando de temperatura ambiente a 350° C.

Las propiedades mecánicas a temperatura ambiente de las películas se evaluaron en una máquina de tracción universal (Tinius Olsen, HSOKS) y se probaron a una velocidad de 5 mm / min, se realizaron tres repeticiones de cada condición. La morfología de la superficie de las películas se observó utilizando SEM (Jeol JSM-7000F), se aplicó una capa delgada de plata a la superficie de las películas. Los espectros FTIR se obtuvieron en un espectrofotómetro de infrarrojo transformado de Fourier Nicolet 6700 Thermo Scientific. La citotoxicidad fue examinada basándose en la actividad metabólica

mitocondrial de los fibroblastos para convertir el reactivo MTT a cristales de formazán. Las películas (1cmX 1cm) se sembraron con 10,000 células fibroblásticas (3T3, ATCC®) inmersas en medio de cultivo D-MEM conteniendo 10% de suero fetal bovino y 1% de antibiótico, se incubaron por 24 horas y 72 horas a 37° C y 5% de CO₂. Una vez completado el tiempo de incubación, a cada película, blanco y control se les extrajo el medio en el que estuvieron durante su incubación, se lavaron con PBS y se les añadieron 200 µL de solución D-MEM, 10% SBF, antibiótico 1% y 50 µL de MTT (5 mg/ ml en PBS 1X). Posteriormente, se incubó a 37° C por un período de una hora. A continuación, se extrajo el sobrenadante y se agregaron 50 µL de DMSO (dimetil sulfóxido) a cada muestra, para disolver los cristales de formazán, una vez disueltos se homogenizó la solución y en un lector de microplaca (Benchmark Plus) se midió la absorbancia con una longitud de onda de 570 nm. El ensayo se realizó por triplicado. La cepa empleada para el ensayo fue de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), suministrada por el laboratorio de inocuidad alimentaria de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Se preparó un inóculo infeccioso equivalente al tubo 4 en la escala de McFarland (1.2x10⁹UFC/ml), en caldo TSB. Los trozos de jamón fueron inoculados con el preparado infeccioso y recubiertos con las películas, puestos en bolsas plásticas y almacenadas a temperatura de refrigeración. El recuento de *S. aureus* del jamón recubierto y el control fue realizado a las 12, 24, 36, 48, 60 y 96 h en placas de agar Infusión cerebro corazón (BHI). Los resultados se evaluaron mediante el análisis de la varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey a un nivel de significación del 5% utilizando el software Statistica 12.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, EE. UU.). Los datos se presentaron como media ± desviación estándar.

4. RESULTADOS

4.1 Lixiviación de ánodos de pilas alcalinas.

Después de desmontar las pilas alcalinas usadas se encontró que el peso de los ánodos es aproximadamente el 25% del peso total de las baterías. Esto está de acuerdo con reportes anteriores de diversos investigadores [111]. Según el análisis de absorción atómica, el contenido de zinc en los ánodos de desecho varía entre el 66% y el 68%. Las Figuras 1a, b, c y d muestran un ejemplo del análisis de la microscopía electrónica de barrido (SEM) y espectroscopia por dispersión de energías de rayos X (EDS) del polvo procedente de los

ánodos de las baterías usadas antes y después del proceso de lavado descrito en el procedimiento experimental. Los ánodos de desecho contienen partículas heterogéneas con tamaños en un rango entre 40 nm y 6 μm . Estas partículas están hechas de zinc (Zn), oxígeno (O), potasio (K) y carbono (C). El carbono puede provenir de la pila o del proceso de preparación de la muestra de SEM. El potasio proviene de los electrolitos alcalinos utilizados en las baterías, que normalmente están hechas de hidróxido de potasio (KOH) [112, 113]. Según el análisis de EDS, el potasio se puede eliminar durante el proceso de lavado debido a su solubilidad en agua. Los polvos de ánodos lavados se lixiviaron usando ácido nítrico.

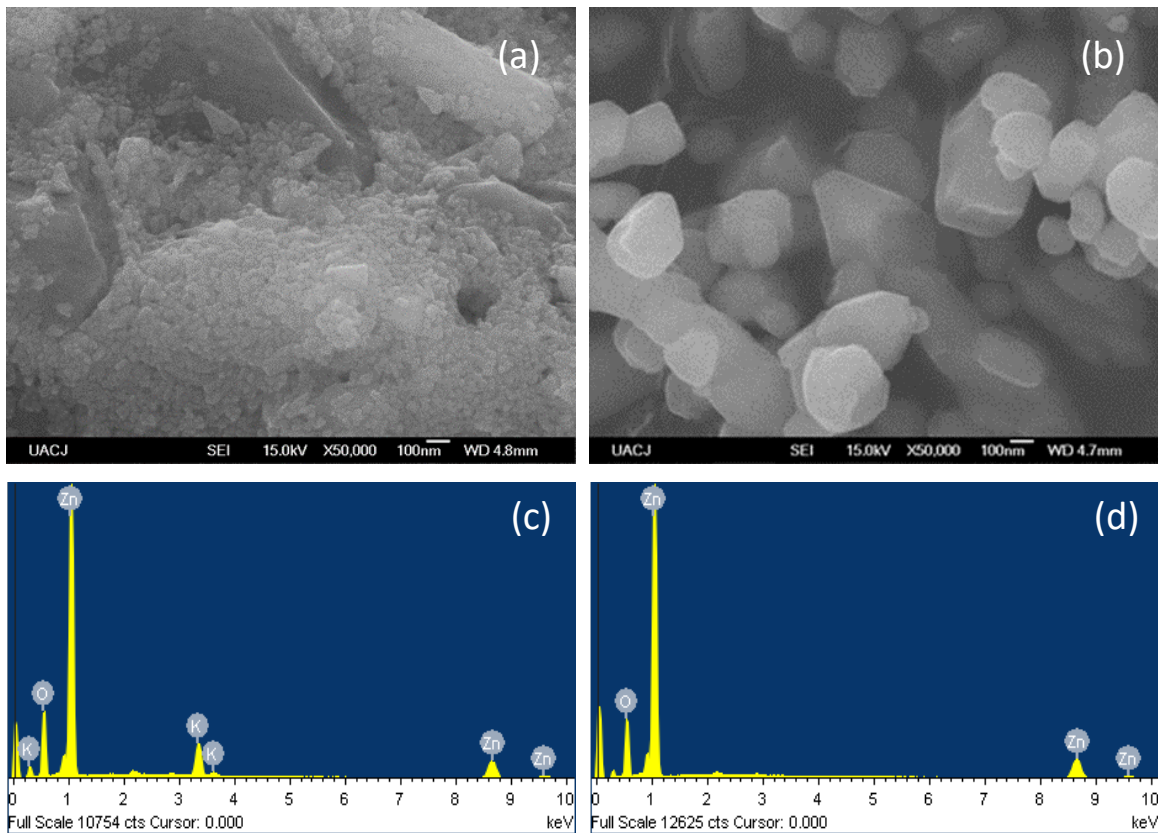


Figura 11. Ejemplos de imágenes SEM de ánodos de batería alcalina usadas (a) y (b) y composición química elemental por EDS de los ánodos en polvo antes (c) y después (d) proceso de lavado.

4.2 Obtención de nanopartículas de ZnO por el método sol gel utilizando almidón o dextrosa.

Almidón o dextrosa se utilizaron como reactantes del proceso sol-gel. Los cambios térmicos del gel seco de almidón de arroz y el gel seco de dextrosa se evaluaron mediante análisis de TGA (Figura 2). En ambos casos, se produjeron varios cambios, pero se pueden observar tres eventos principales. Para el proceso sol gel con almidón son las siguientes: 1) La pérdida de peso inicial que es del 7.1% y se produce a aproximadamente 48° C a 230° C. Esto corresponde a la evaporación del agua y a la descomposición del grupo de enlace químico. 2) La segunda etapa es la pérdida de peso del gel seco de almidón (18.6%) y está en el rango de 230° C a 310° C. Esto se ha atribuido a la descomposición de los grupos orgánicos [50]. 3) Finalmente ocurre la formación de una fase pura de ZnO y se relaciona con la última pérdida de peso (2.3%) que ocurre en el rango de 310° C a 415° C [50]. La pérdida de peso total es del 28%. Cuando se usa dextrosa, la pérdida de peso inicial (6.8%) ocurre en el rango de 48° C a 120° C. La segunda pérdida de peso (64.4%) ocurre en el rango de 120° C a 140° C y se informa que se produce principalmente debido a la descomposición del grupo hidroxilo [115]. En este caso, la descomposición se produce a una temperatura más baja que la descomposición que se produce cuando se prueba el gel seco usando almidón y se debe a la estructura más simple de la dextrosa. La pérdida de peso final (en el rango de 140° C a 400° C) es muy sutil (1.8%) y como ocurre con el almidón se atribuye a la formación de una fase pura de ZnO.

Las temperaturas de descomposición del gel seco de almidón son similares a las reportadas [50], excepto que reportan una pérdida de peso total del 52% en lugar de la pérdida de peso total del 28% que ocurre en este caso. La pérdida de peso total para el caso de dextrosa es del 73%. Las diferencias son significativas y pueden explicarse con las variaciones de composición inicial. Se requirió más dextrosa como agente para el sol-gel porque la molécula de dextrosa es más simple que el almidón. Según el mecanismo de reacción propuesto para estos sistemas por Khorsand [50], los cationes metálicos son atraídos por el oxígeno de las ramas OH del almidón. Una red que contiene agua, y aumenta la viscosidad de la mezcla se forma durante la gelatinización del almidón. Sin embargo, en el caso de la dextrosa, donde la estructura es más simple, el proceso de la

formación de una red no se produce tan fácilmente y se requiere más material para retener los cationes metálicos.

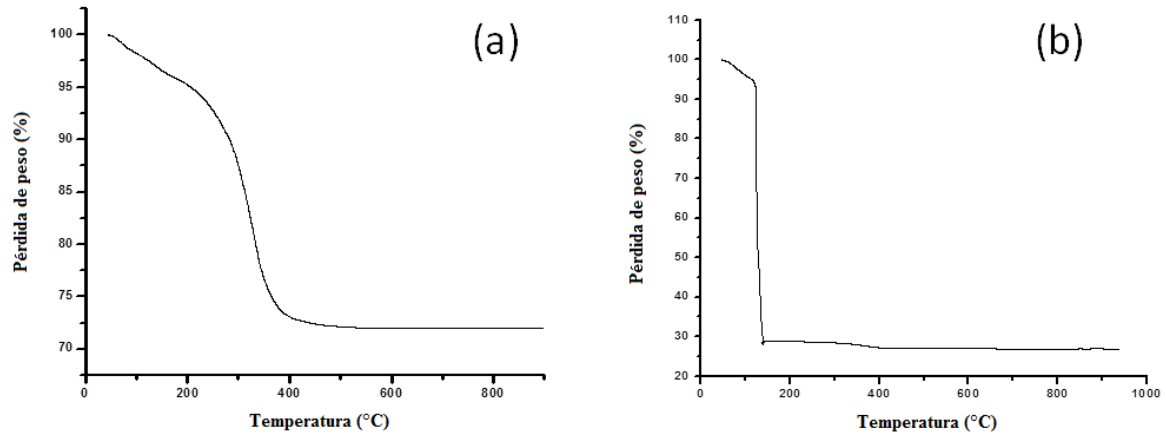


Figura 2. Análisis de TGA de almidón de arroz (a) y dextrosa (b) geles secos.

En la figura 3 se muestran los espectros de FTIR del almidón y la dextrosa, los modos de vibración de los grupos C-O y C-C en la región de 900 a 1200 cm^{-1} y 600 a 1500 cm^{-1} se observan [50, 115]. Las bandas en el intervalo de 2900 a 3450 cm^{-1} se asignan a grupos C-H y OH. [50, 115]. El almidón y el gel seco de dextrosa muestran bandas en el intervalo de 1400 a 1650 cm^{-1} y de 1000 a 1650 cm^{-1} que corresponden a los modos de vibración C = O [30]. Las bandas en el rango de 2700 y 3500 cm^{-1} son características de los modos de vibración CH y OH del $\text{Zn}(\text{OH})_2$ [50, 116]. Después de la calcinación de ambos geles secos, se observa cómo la banda característica del enlace Zn-O aparece a 440 cm^{-1} y el resto de las bandas desaparece [50, 116].

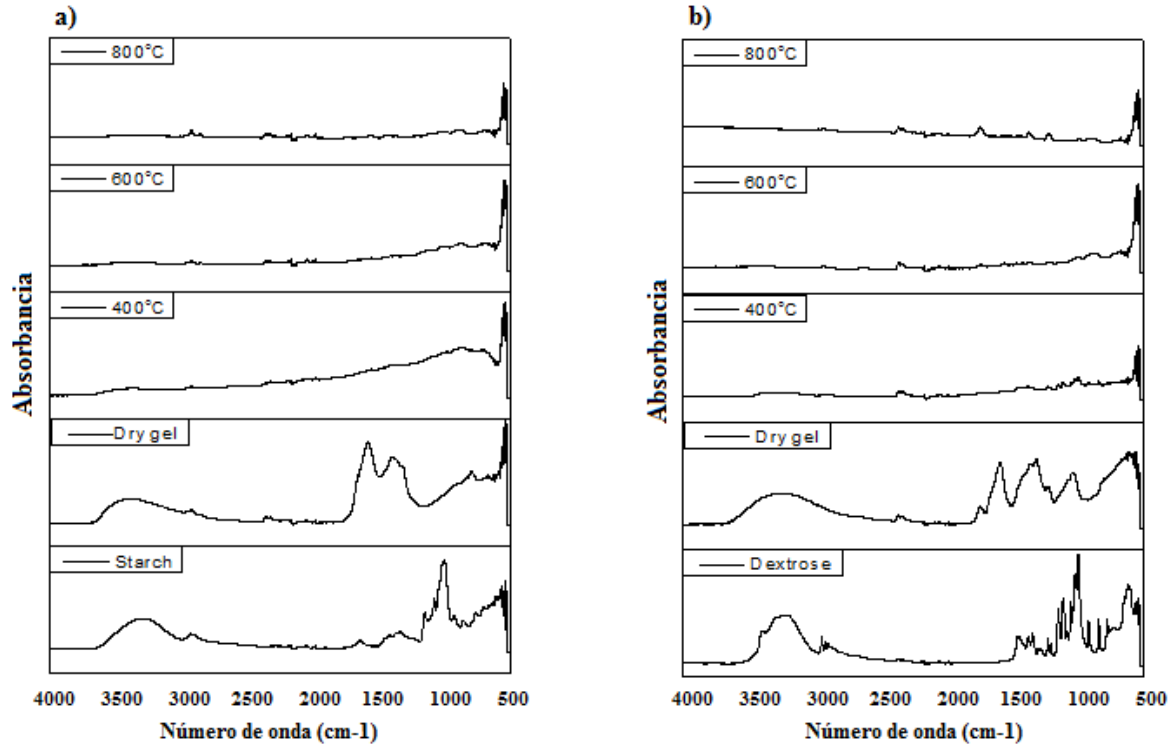


Figura 3. Análisis FTIR de los sistemas de almidón de arroz (a) y de dextrosa (b).

Los patrones de difracción de las muestras de almidón y dextrosa después de la calcinación se muestran en la Figura 4. Todos los picos corresponden a la fase hexagonal de ZnO (PDF # 01-075-0576). En ambos casos, el tamaño de cristalita aumenta con la temperatura de calcinación (Tabla 1). El tamaño de cristalita es mayor cuando se usa dextrosa, excepto en temperaturas de calcinación por debajo de 600° C. Esto podría explicarse con la rápida descomposición de dextrosa observada en el análisis TGA. Dado que se descompone más rápidamente, la energía térmica añadida al sistema provoca el crecimiento del cristal.

Los análisis de fluorescencia de rayos X se realizaron en polvo de ánodos y en nanopartículas sintetizadas. Sólo se detectaron rastros de indio en algunas muestras (ánodos en polvo o nanopartículas). No se detectaron otros contaminantes. Algunas patentes indican que en los ánodos se añaden cantidades menores de aditivos en el intervalo de 10 ppm a 10000 ppm, tales como indio o bismuto para que actúen como inhibidores de la formación de gases para reducir la tendencia indeseable de que el gas hidrógeno se acumule dentro de la celda a la mezcla de ánodos que se hace de polvo de

zinc [117]. El indio, como elemento o como óxido, es clasificado por la NFPA como peligro para la salud 1, lo cual es indicativo de precaución, ya que el elemento puede ser irritante en caso de contacto con los ojos o la piel (por ejemplo, CAS #: 1312-43-2, CAS # 7440 - 74 - 6).

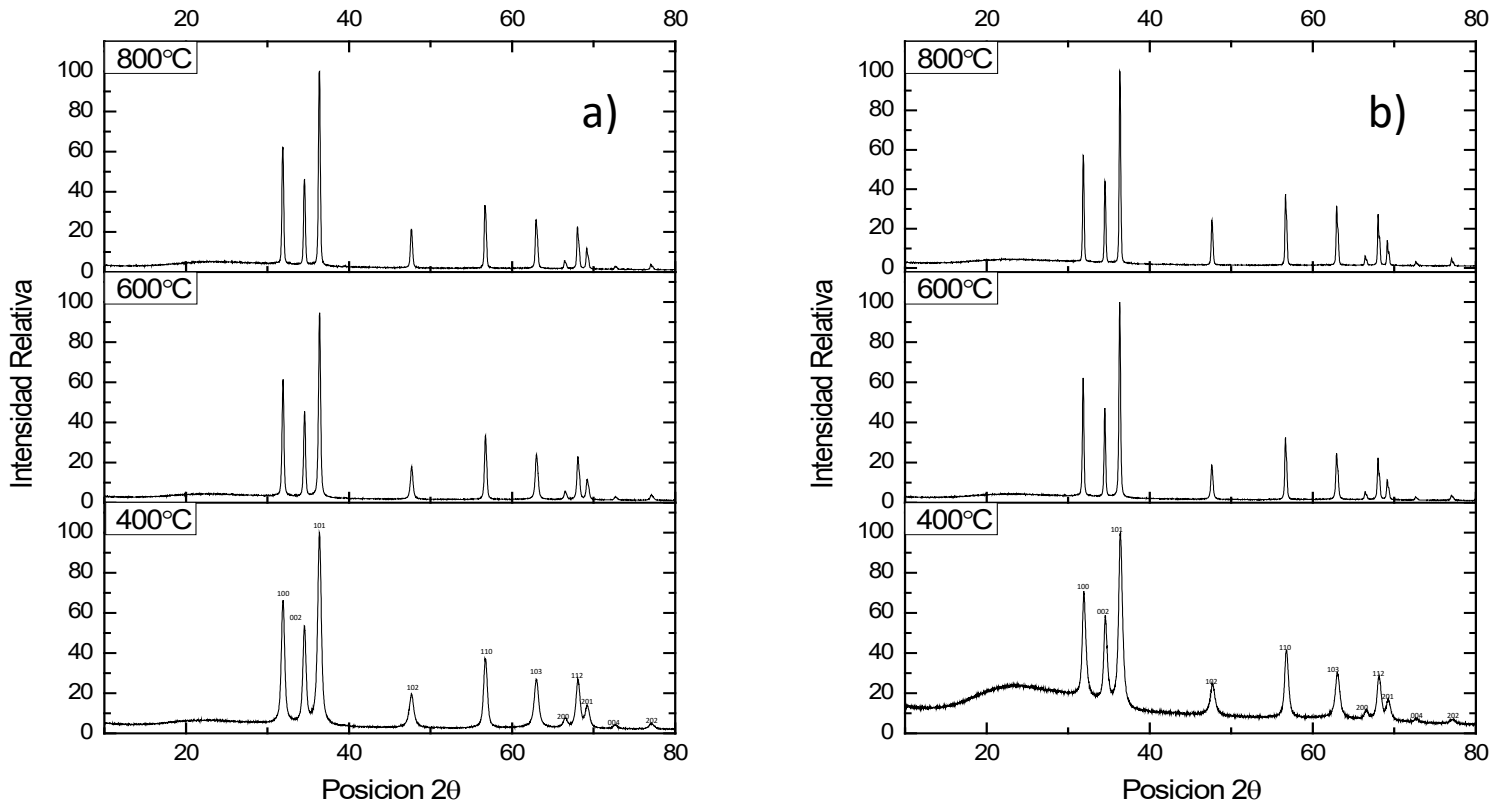


Figura 4. Análisis de XRD de las muestras de almidón (a) y dextrosa (b) después de la calcinación. Todos los picos corresponden a la fase hexagonal de ZnO (PDF # 01-0750576).

Las diferencias entre la síntesis con el almidón y la dextrosa se pueden observar en la Tabla 1. Se presenta una comparación entre el tamaño de cristalita calculado por la ecuación de Scherrer, el tamaño de partícula obtenido mediante análisis de imágenes de SEM y TEM (Figura 11 y 12) y el análisis de Dispersión Dinámica de Luz.

Tabla 1. Comparación del tamaño de partícula y cristalita de las NP de ZnO.

Temperatura de calcinación (°C)	Tamaño de cristalita (nm)		Análisis de imágenes de SEM y TEM (nm)		Dispersión dinámica de luz (nm)	
	Almidón	Dextrosa	Almidón	Dextrosa	Almidón	Dextrosa

400	19.3	20.3	20-32	20-29	30-45	30-42
500	31.3	29.2	43-70	48-65	32-121	30-135
600	42.2	64.8	55-85	53-93	60-145	50-171
700	52.6	70.3	60-130	82-150	63-144	72-155
800	58.5	83.6	89-160	94-165	>72	>100

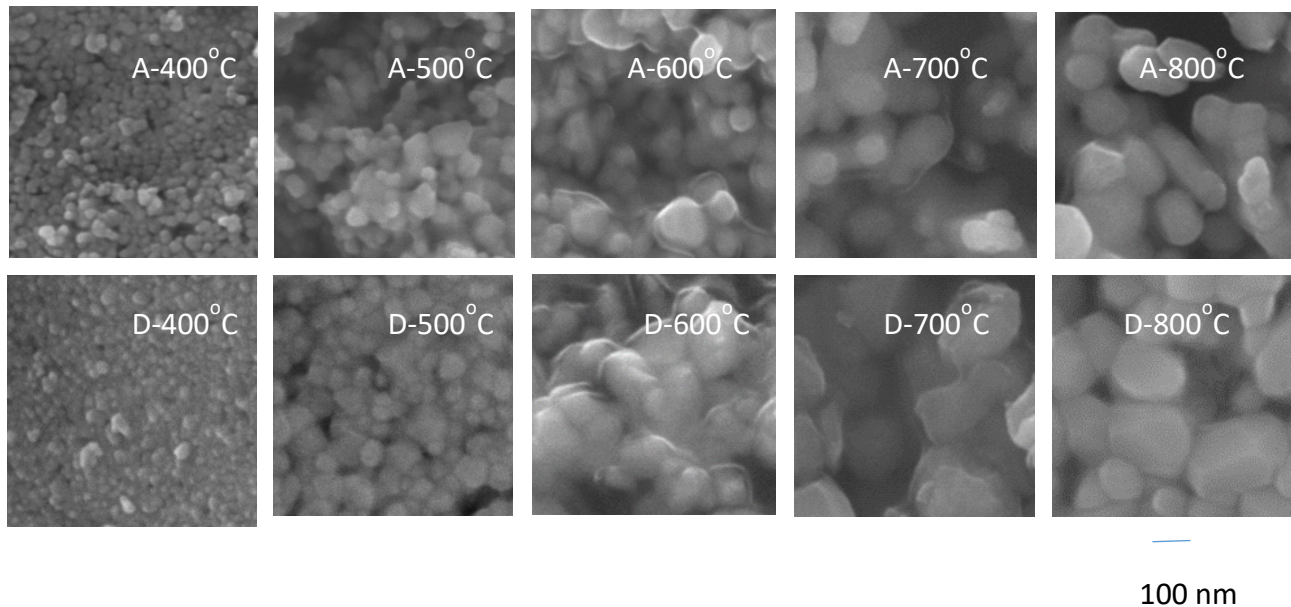


Figura 5. Imágenes de FE-SEM que muestran el efecto de las temperaturas de calcinación sobre el tamaño de las nanopartículas de ZnO sintetizadas usando (a) almidón (b) dextrosa.

El tamaño medio de las partículas de la síntesis realizada a 400° C está en el rango de 20 a 45 nm. Cuando la calcinación se lleva a cabo a 600° C, se observan principalmente partículas en el rango de aproximadamente 50 a 100 nm, pero también se detectan tamaños de partícula mayores. Esto se debe a que se produce algo de sinterización entre las partículas como se puede observar en las imágenes de TEM de la Figura 6. Después de la calcinación a 800° C, no sólo aumenta el tamaño de partícula sino también el sinterizado entre las partículas. Las diferencias significativas entre el almidón y la dextrosa sólo se producen a una temperatura de calcinación por encima de 600° C. El tamaño de partícula es menor cuando se usa almidón de arroz. La dextrosa es de menor costo y su pérdida de peso principal del gel seco se produce a temperaturas más bajas que el almidón de arroz. Por lo tanto, el tiempo de calcinación podría reducirse y podría permitir la reducción del tamaño de partícula. Sin embargo, la cantidad de almidón de

arroz requerida es menor que la cantidad de dextrosa que puede aumentar la eficiencia del proceso y reducir las emisiones de CO/CO₂.

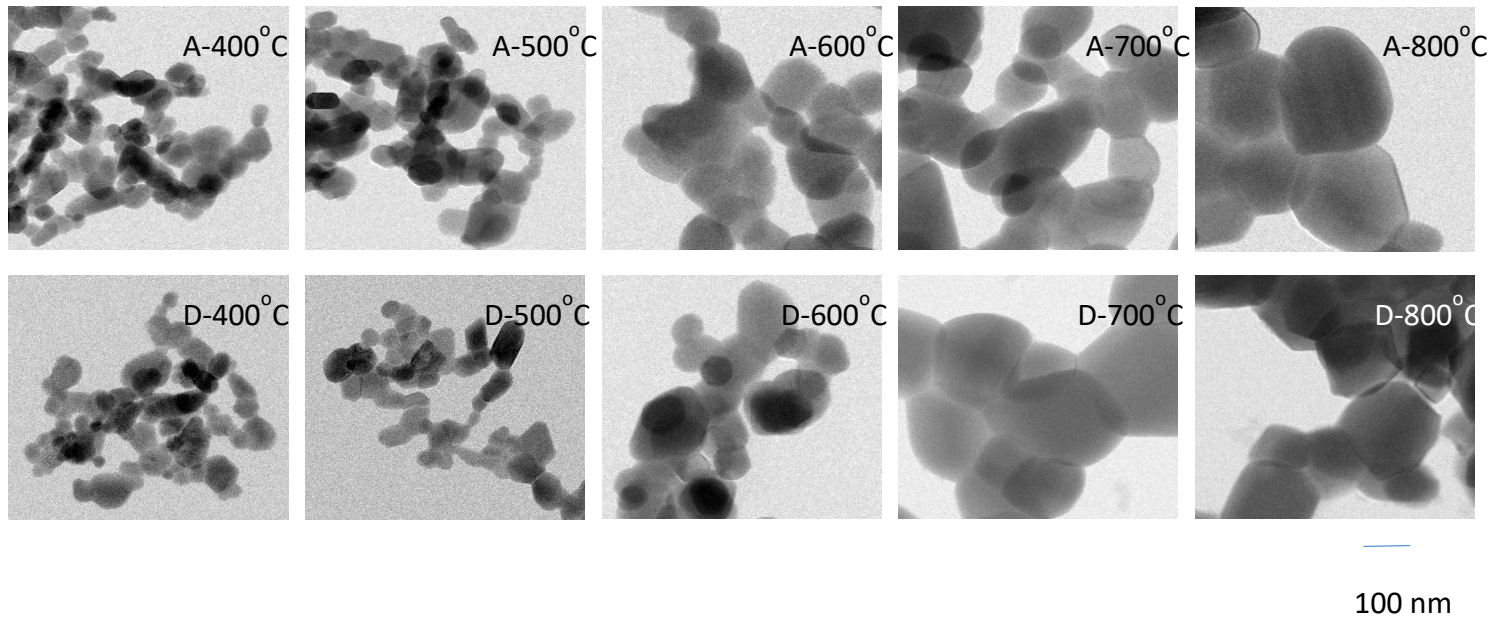


Figura 6. Imágenes TEM que muestran el efecto de las temperaturas de calcinación sobre el tamaño de las nanopartículas de ZnO sintetizadas utilizando (a) almidón (b) dextrosa.

4.3 Citotoxicidad de las nanopartículas de ZnO.

La Fig. 7 muestra la toxicidad de las nanopartículas de ZnO en células de fibroblastos de la línea celular 3T3 mediante el ensayo MTT durante 24 y 72 h. Se puede ver cómo la viabilidad celular disminuye cuando aumenta la concentración de nanopartículas. Sin embargo, todas las concentraciones muestran un efecto de citotoxicidad como lo demuestra el porcentaje de viabilidad obtenido [ISO 10993-5: 2009 (E)].

Después de 24 h de exposición a 0.001, 0.003, 0.005 y 0.007 g/mL, el porcentaje fue de 59.81%, 53.57%, 50.51% y 14.94%, respectivamente, disminuyendo a las 72 h a 17.65%, 16.43%, 4.65% y 4.07%. Estos resultados muestran altos valores de citotoxicidad según lo informado por Brunner et al. [118], quienes utilizaron células de la misma línea, concentraciones más bajas y tamaño de partícula similar. Sin embargo, otros autores reportan una citotoxicidad significativamente más baja (con un tamaño de partículas mayor o menor que este estudio) utilizando las mismas concentraciones y células de la

misma línea. La citotoxicidad de las nanopartículas de ZnO sigue siendo controvertida y el mecanismo no ha sido bien identificado [119, 120]. En este caso, es probable que el hecho de que las nanopartículas se obtengan de materiales reciclados afecte la citotoxicidad de las nanopartículas, ya que pueden tener impurezas por debajo de los límites de detección de las técnicas de caracterización utilizadas. Por lo que es imprescindible, para cada nueva ruta de síntesis de nanopartículas propuesta, determinar los riesgos humanos de las nanopartículas resultantes para limitar su uso a aplicaciones donde el riesgo disminuye.

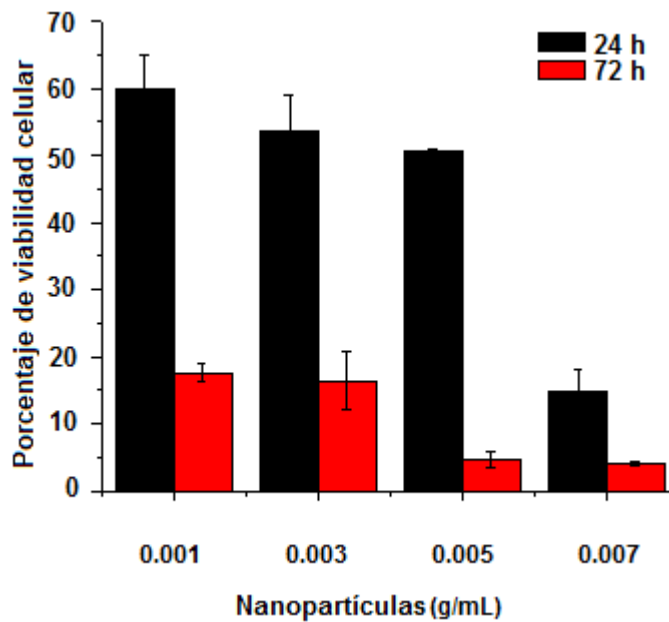


Figura 7. Porcentaje de viabilidad celular de las nanopartículas cultivadas con células fibroblásticas a las 24 y 72 horas.

4.4 Elaboración de composito.

4.4.1 Microscopia electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM).

La figura 8 (a, b y c) muestra imágenes de SEM de las películas conteniendo diferentes porcentajes de nanopartículas. En ellas se puede apreciar como las nanopartículas se encuentran distribuidas y embebidas a través de toda la matriz polimérica, provocando que la topografía de la superficie sea irregular, lo que puede atribuirse a presencia de aglomerados. Por otra parte, la figura 8 (d) muestra el análisis de EDS de la película quitosana/almidón conteniendo 3% de nanopartículas de óxido de zinc. En ella se puede observar la composición elemental de la película, estando presentes el zinc (Zn) de las

nanopartículas de óxido de zinc (ZnO), el oxígeno (O) y carbono (C), estos últimos provenientes de los compuestos orgánicos de quitosano y almidón.

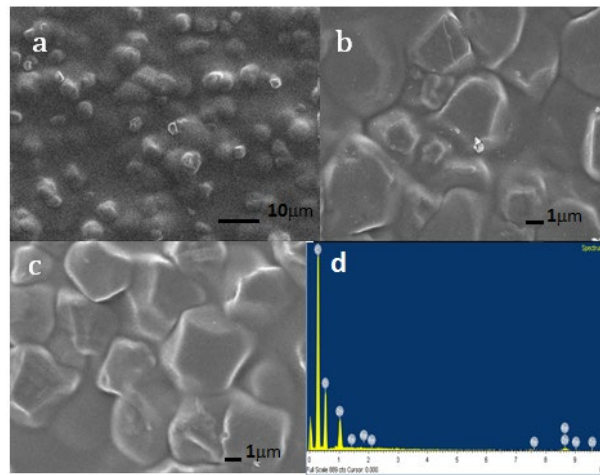


Figura 8. Imágenes de SEM y EDS de las películas de Quitosano / Almidón con Nanopartículas de Óxido de Zinc. Conteniendo: a) 1 %, b) 3%, c) 7% y d) 3% de nanopartículas de óxido de zinc.

4.4.2 Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR).

En la figura 9 se puede observar los espectros infrarrojos de las diferentes películas sintetizadas de quitosano/almidón conteniendo 0 (película blanco), 1%, 3%, 5% y 7% de nanopartículas de óxido de zinc. Espectros que exhiben las bandas típicas del almidón y el quitosano, como son las bandas asignadas a los estiramientos de los grupos CH_2 y CH_3 a los 3000 y 2920 cm^{-1} , respectivamente. Por otro lado, a los 1725 cm^{-1} , se aprecia la banda atribuida a estiramientos de la amida I (grupo funcional $\text{C}=\text{O}$), observándose como conforme se incrementó el porcentaje de nanopartículas esta sufrió un desplazamiento hacia número de ondas menores, desplazamiento que ha sido asociado con el cambio en la orientación y conformación de las cadenas poliméricas por la incorporación de las nanopartículas de óxido de zinc [6, 16]. Además, de apreciarse a los 1445 y 1320 cm^{-1} las bandas relacionadas con estiramientos del grupo N-H y amina terciaria, respectivamente [25-26]. Por su parte, las bandas correspondientes a un estiramiento asimétrico del grupo funcional C-O-C, las vibraciones del grupo C-O y la flexión del grupo C-H se observan a los 1050 , 1100 cm^{-1} y 780 cm^{-1} [27, 121]. Sin embargo, cuando se incrementa el

contenido de nanopartículas de ZnO en las películas de quitosano/almidón éstos presentaron pequeños cambios en la posición de las bandas dentro de los rangos 1150-1450 y 2900-3100 cm^{-1} , cambios que son un indicativo de la presencia de interacciones intermoleculares entre la matriz polimérica y las nanopartículas de óxido de zinc [16].

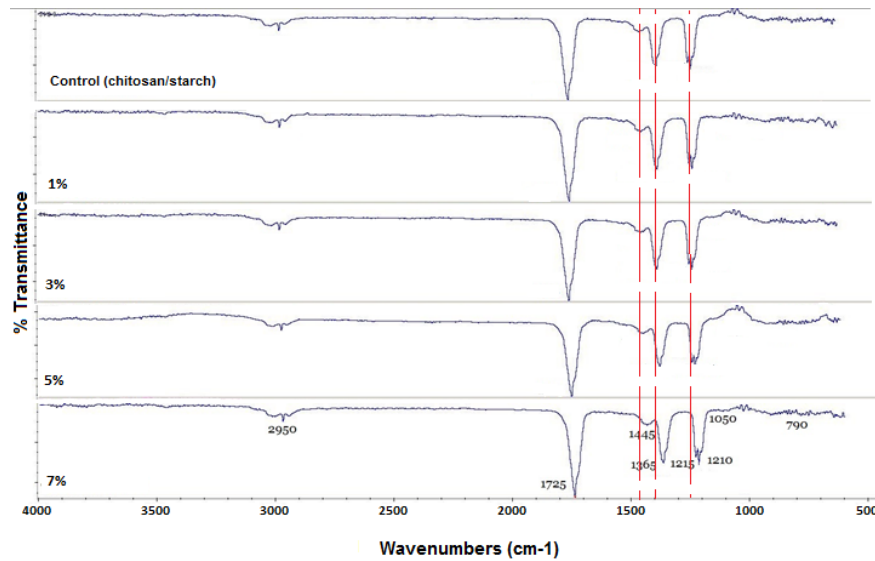


Figura 9. Espectros infrarrojos de las películas de quitosano/almidón conteniendo 0, 1, 3, 5 y 7% de nanopartículas de óxido de zinc.

4.4.3 Propiedades mecánico-dinámicas.

El efecto de las nanopartículas de ZnO en las propiedades mecánicas de las películas fue estudiado por DMA. La figura 10 muestra el cambio estructural de las propiedades mecánicas de las películas blanco y las películas conteniendo 1%, 3%, 5% y 7% de nanopartículas de óxido de zinc. La película conteniendo 7% de nanopartículas presentó un módulo de almacenamiento más alto que las películas blanco y las conteniendo 1%, 3% y 5% de nanopartículas (Fig. 10a); lo que, según otras investigaciones, se atribuye al hecho de que la concentración creciente de las nanopartículas hace que las cadenas moleculares de las películas sean más cercanas y más rígidas. Siendo el módulo de almacenamiento un índice de rigidez de los polisacáridos [122]. Por otro lado, la tangente delta proporcionó la temperatura de transición vítrea (T_g) de las películas (Fig. 10b). Las curvas mostraron dos picos alrededor de los 150-180° C y 260-290° C atribuidos a las relajaciones β y α , respectivamente. Relacionándose la relajación β con grupos unidos a

la posición C-2 en la cadena principal del quitosano y la relajación α con la transición vítrea de la fase amorfa [122-124]. El cambio de las transiciones β y α a temperaturas más alta es el resultado de la adición de nanopartículas de ZnO. Estos resultados podrían confirmar lo obtenido en el análisis de FTIR, ya que pueden deberse a una interacción entre la matriz polimérica y las nanopartículas de ZnO [124].

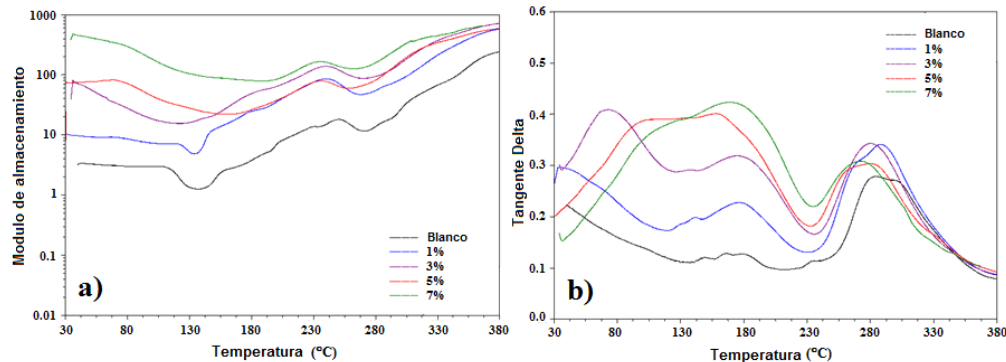


Figura 10. a) Módulo de almacenamiento y b) Tangente delta en función de la temperatura del análisis mecánico dinámico de las películas Q/A, Q/A1%, Q/A3%, Q/A5% y Q/A7 %.

4.4.3 Efecto del porcentaje de nanopartículas en modificar la mojabilidad en la superficie de las películas.

Los valores medios medidos de ángulo de contacto de agua sobre la superficie de las películas poliméricas conteniendo nanopartículas de ZnO se muestran en las Figuras 11 y 12. Como se puede observar se obtuvo un aumento en los valores del ángulo de contacto con el agua de las películas quitosano/almidón conforme se incrementó el contenido de nanopartículas de ZnO, ángulos de contacto de 56°, 74°, 83°, 88° y 94° para las películas conteniendo 0, 1%, 3%, 5%, y 7% de nanopartículas, respectivamente. Los resultados indican una menor mojabilidad en las películas con nanopartículas con respecto a la película blanco. Luchese y colaboradores sintetizaron películas de mezclas de quitosano y almidón (de tapioca y arroz) con o sin entrecruzar, observando que las películas con entrecruzamiento obtuvieron menor mojabilidad con ángulos de contacto entre 75° y 79°, mientras que para las películas sin entrecruzamiento los ángulos se encontraban en 43° y 60°, dependiendo del tipo de almidón utilizado. Atribuyendo el descenso de mojabilidad a las interacciones entre el almidón y el quitosano (puentes de hidrogeno), las cuales

redujeron la disponibilidad de grupos hidrofílicos que pudieran interactuar con moléculas de agua [121]. Por otro lado, Sarojini y colaboradores al adicionar 1% y 5% de nanopartículas de ZnO a películas de poliuretano/quitosano obtuvieron ángulos de contacto de 77° y 92.2°, resultados similares a los encontrados en esta investigación que al agregar 1%, 3%, 5% y 7% de nanopartículas de ZnO se vio incrementado el ángulo de contacto de 56°(0% de nanopartículas) a 74°, 83°, 88° y 94° para las películas con 1%, 3%, 5% y 7% de nanopartículas. Ellos atribuyeron este aumento (mayor hidrofobicidad superficial) a que las nanopartículas bloquearon los poros de las películas y al incremento de la rugosidad de la superficie conforme se incrementa la cantidad de nanopartículas en las películas, previniendo con lo anterior la penetración y desplazamiento de las gotas de agua. Los resultados obtenidos en las películas de quitosano/almidón conteniendo nanopartículas de ZnO, muestran que se incrementó considerablemente la resistencia al agua y con ella se logra determinar la estabilidad de las películas y su capacidad para prevenir la aparición microbiana de los alimentos almacenados [126]. Ya que la adhesión microbiana ocurre con mayor rapidez en superficies hidrófilas y el biofilm de microorganismos puede desarrollarse más rápidamente al estar en contacto con la materia orgánica presente en el agua [121].

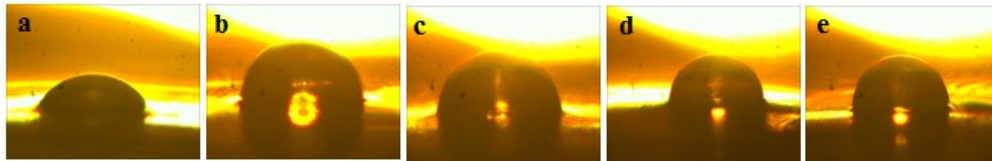


Figura 11. Ángulos de contacto de agua sobre superficies de películas Quitosano/almidón conteniendo diferentes porcentajes de nanopartículas de ZnO: a) 0, b) 1, c) 3, d) 5 y e) 7% de nanopartículas.

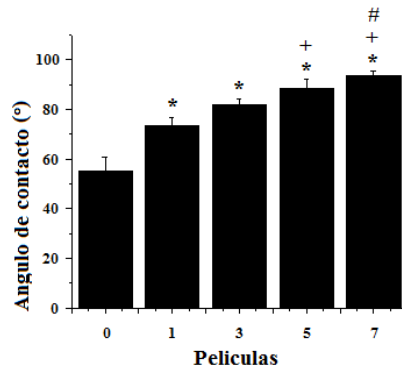


Figura 12. Promedio de ángulos de contacto (°) de agua sobre las películas quitosano/almidón conteniendo diferentes porcentajes de nanopartículas de ZnO. *: diferencia significativa comparado con la película control (0); +: diferencia significativa comparado con la película conteniendo 1% de nanopartículas, #: diferencia significativa comparado con la película conteniendo 3% de nanopartículas. (P=0.05).

4.4.4 Citotoxicidad.

Los resultados de la viabilidad celular de los fibroblastos expuestos a las películas se muestran en la Figura 13. En ella se puede observar que, al periodo de evaluación de 24 horas, las películas de blanco, 1%, 3% y 5% presentaron una viabilidad celular mayor al 100%, siendo un indicio adecuado de la respuesta de las células hacia el material [11], a excepción de la película 7% que presentó una viabilidad celular de 75.9%. El periodo de 72 horas muestra que las películas de 5% presentan resultados de viabilidad celular con una diferencia significativa (mayor al 100%) con respecto al resto de las películas, las cuales presentan viabilidad celular menores al 100% pero mayores al 70%. Se puede observar también una disminución de la viabilidad entre ambos periodos de tiempo, Sin embargo, ninguna película, a ningún periodo de tiempo de estudio, mostró efecto citotóxico como lo demuestra el porcentaje de viabilidad obtenido de acuerdo con la norma ISO 10993-5 [129], que establece que, si la viabilidad se reduce en menos del 70 % del control, se tiene un material citotóxico. Lo anterior pudiendo ser atribuido a la reacción entre la membrana celular (cargada negativamente) y a las cargas positivas de los grupos funcionales presentes en la superficie de las películas (grupos aminos presentes en la cadena principal del quitosano) [130], así como al hecho que las nanopartículas se encontraban embebidas en la matriz polimérica. Se considera que los materiales inducen la viabilidad celular, ya que, en un periodo corto de evaluación, la viabilidad no bajó drásticamente como se esperaba, y por tanto se consideran materiales no citotóxicos. Los resultados anteriores muestran una relación entre el porcentaje de viabilidad celular, concentración de nanopartículas (presentes en las películas) y tiempos de exposición, a mayor concentración de nanopartículas y mayores tiempos de exposición, menores porcentajes de viabilidad celular, lo que concuerda con lo encontrado en otras investigaciones [131].

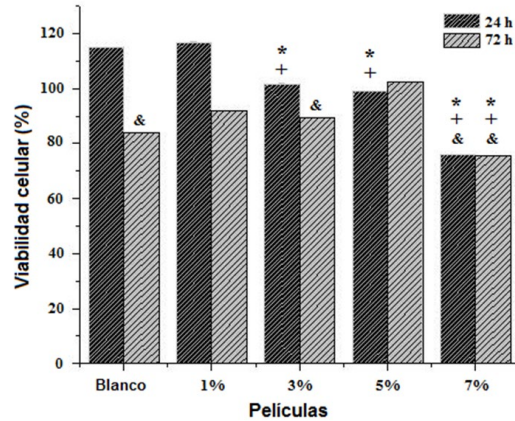


Figura 14. Análisis de viabilidad celular de las películas sembradas con fibroblastos de ratón.

4.4.5 Evaluación de la actividad antimicrobiana.

El recuento de *S. aureus* en el control y en las muestras de jamón tratadas con las películas se evaluó durante 4 días de almacenamiento, donde las muestras control (no tratadas con las películas) mostraron un crecimiento bacteriano después de 24 horas de la inoculación y a las 96 horas ya mostraban un crecimiento bacteriano del orden de 6 ciclos logarítmicos (tabla 4). Por otro lado, las muestras recubiertas con películas que contienen un 3% de nanopartículas muestran un crecimiento microbiano a las 96 h de almacenamiento, lo que muestra una reducción de 3 ciclos logarítmicos, con respecto al control. Mientras que las muestras recubiertas con películas que contenían 7% no mostraron desarrollo microbiano a las 96 horas del período de estudio. Esto, según Valencia-Sullca y sus colaboradores, se puede atribuir a la reacción de los iones Zn^{2+} con los compuestos celulares internos una vez que penetran en la pared celular de los microorganismos, así como al agente oxidante H_2O_2 , producido por la superficie de las nanopartículas de ZnO, quien daña la membrana celular de las células [132]. Además de la actividad antimicrobiana del quitosano a través del efecto de las fuerzas entre los grupos NH_3^+ electrostáticos protonados y las cargas electronegativas de la célula de la superficie microbiana. Los resultados muestran niveles más bajos de la dosis infectiva mínima permitida (10^4) de *S. aureus* y evidencia de un efecto bacteriostático de las películas, de acuerdo con lo informado por otros investigadores [133].

Tabla 4 evaluación antimicrobiana de las películas de quitosano/almidón

Muestra	Log 10 CFU después de 96 h de inoculación
Control	6.62
1%	0.00
3%	3.25
5%	3.30
7%	0.00

5. CONCLUSIONES

Se logró la obtención de nanopartículas de óxido de zinc con tamaños entre 20 y 160 nm por el método sol-gel a partir de pilas alcalinas como fuente de zinc. De acuerdo con el ISO 10993-5:2009(E) las nanopartículas en concentraciones de 0.001, 0.003, 0.005 y 0.007 g/mL mostraron un efecto citotóxico en fibroblastos de ratón. El tamaño de las nanopartículas obtenidas a través del uso de almidón y dextrosa es similar, excepto con temperaturas de calcinación de 600° C, el tamaño de partícula es ligeramente más pequeño y más homogéneo cuando se usa almidón. Sin embargo, la pronta descomposición del gel seco con dextrosa podría permitir la reducción del tiempo de calcinación y del tamaño de partícula.

Se sintetizaron películas biodegradables reforzadas nanopartículas ZnO con espesores entre 136 μm y 151 μm por el método de vaciado. Lográndose una distribución de nanopartículas homogénea y embebidas en la matriz polimérica con topografía de la superficie irregular. El análisis de FTIR de las películas sugirió cambio en la orientación y conformación de las cadenas poliméricas por la incorporación de las nanopartículas de óxido de zinc, así como interacciones químicas entre la matriz polimérica y las nanopartículas ya que las bandas relacionadas con los grupos amidas y carboxilo sufrieron corrimientos hacia número de ondas menores.

De acuerdo con el análisis dinámico-mecánico la película conteniendo 7% de nanopartículas presentó un módulo de almacenamiento más alto que las películas blanco y las conteniendo 1%, 3% y 5% de nanopartículas, es decir a concentración mayor de nanopartículas las cadenas moleculares de las películas fueron más cercanas y más

rígidas. Por otro lado, la adición de nanopartículas provocó un cambio en las transiciones β y α a temperaturas más alta, corroborando lo obtenido con el análisis de FTIR.

Se incrementó la resistencia al agua de las películas con la adición de nanopartículas de ZnO al obtener ángulos de contacto de 56°, 74°, 83°, 88° y 94° para las películas conteniendo 0, 1%, 3%, 5%, y 7% de nanopartículas, respectivamente.

De acuerdo a los análisis de biodegradación y microscopia electrónica de barrido las películas de quitosano/almidón conteniendo 7% de nanopartículas de óxido de zinc y expuestas durante 4 semanas a la solución PBS muestran una menor pérdida de peso, así como una superficie menos erosionada que la película blanco o las que contienen menor porcentaje de nanopartículas. Al incrementar el contenido de nanopartículas se incrementó el espesor, resistencia a la atracción, alargamiento a la rotura y módulo de tracción de las películas de quitosano/almidón. Al exponerlas a la solución SBP con el paso del tiempo de exposición las propiedades tensiles disminuyeron.

Las películas no mostraron un efecto citotóxico, ya que las películas blanco, 1%, 3% y 5% presentaron una viabilidad celular mayor al 100% a excepción de la película 7% que presentó una viabilidad celular de 75.9%. Mientras que en el periodo de 72 horas muestra que las películas de 5% presentan resultados de viabilidad celular con una diferencia significativa (mayor al 100%) con respecto al resto de las películas, las cuales presentan viabilidad celular menores al 100% pero mayores al 70%. Se obtuvo una relación entre el porcentaje de viabilidad celular y la concentración de nanopartículas presentes en la película, a mayor concentración de nanopartículas y mayores tiempos de exposición, menores porcentajes de viabilidad celular.

De acuerdo con las propiedades multifuncionales de las películas compuestas de quitosano/almidón reforzadas con nanopartículas de ZnO, estas tienen potencial para ser utilizadas en el envasado comercial de alimentos.

REFERENCIAS

1. M. Pelino, C. Cantalini, F. Veglio. " Crystallization of glasses obtained by recycling goethite industrial wastes to produce glass-ceramic materials", *Journal of materials science*, Vol. 29, pp. 2087-2094, 1994.
2. R. Barashev, S. V. Karelov, S. V. Mamyachenkov, O. S. Anisimova, "Status of the organized recycling of cadmium-bearing secondary raw materials", *Mettallurgist*, Vol. 57, pp. 244-246, 2013.
3. J. Castro, M. L. Díaz, "La contaminación por pilas y baterías en México", *Gaceta Ecológica*, núm. 72, pp. 53-74, 2004. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales Distrito Federal, México
4. R. Bhat, N. Abdullah, R. H. Din, G.-S. Tay, " Producing novel sago starch based food packaging films by incorporating lignin isolated from oil palm black liquor waste", *Journal of Food Engineering*, Vol. 119, pp. 707-713, 2013.
5. R. Queiroz, S. Machado, T. M. Haas, S. Hickmann, A. de Oliveira, "Active biodegradable cassava starch films incorporated lycopene nanocapsules", *Industrial Crops & Products*, Vol. 109, pp. 818-827, 2017.

6. P. Kaewklin, U. Siripatrawan, A. Suwanagul, Y. Lee, "Active packaging from chitosan-titanium dioxide nanocomposite film for prolonging storage life of tomato fruit", *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 112, pp. 523–529, 2018.
7. S. Wu, W. Wang, K. Yan, F. Ding, X. Shi, H. Deng, Y. Du, "Electrochemical writing on edible polysaccharide films for intelligent food packaging", *Carbohydrate Polymers*, Vol. 186, pp. 236–242, 2018.
8. S. A. Martel-Estrada, B. Rodríguez-Espinoza, E. Santos-Rodríguez, F. Jiménez-Vega, P. E. García-Casillas, C. A. Martínez-Pérez, I. Olivas-Armendáriz, "Biocompatibility of chitosan/Mimosa tenuiflora scaffolds for tissue engineering", *Journal of Alloys and Compounds*, Vol. 643, pp. S119–S123, 2015.
9. M. Vakkil, S. Deng, T. Li, W. Wang, W. Wang, G. Yu, "Novel crosslinked chitosan for enhanced adsorption of hexavalent chromium in acidic solution", *Chemical Engineering Journal*, vol. 347, pp. 782–790, 2018.
10. R. Muzzarelli, "Chitin Enzymology", Vol. 2, 1996. Edited by, Atec Edizioni, Grottammare, 1996, xvi + 620 pp., ISBN 88-86889-00-3.
11. L. E. Valencia-Gómez, S. A. Martel-Estrada, C. Vargas-Requena, J. L. Rivera-Armenta, N. Alba-Baena, C. Rodríguez-González, I. Olivas-Armendáriz, "Chitosan/Mimosa tenuiflora films as potential cellular patch for skin regeneration", *International journal of biological macromolecules*, vol. 93, pp. 1217–1225, 2016.
12. S. Rahimi, S. Khoei, M. Ghandi, "Development of photo and pH dual crosslinked coumarin-containing chitosan nanoparticles for controlled drug release", *Carbohydrate Polymers*, vol. 201, pp. 236–245, 2018.
13. P. Cazón, G. Velazquez, J. A. Ramirez, M. Vázquez, "Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review", *Food Hydrocolloids*, vol. 68, pp. 136–148, 2017.
14. C. Valencia-Sulca, M. Vargas, L. Atares, A. Chiralt, "Thermoplastic cassava starch-chitosan bilayer films containing essential oils", *Food Hydrocolloids*, vol. 75, pp. 107–115, 2018.
15. A. Marra, C. Silvestre, D. Duraccio, S. Cimmino, "Polylactic acid/zinc oxide biocomposite films for food packaging application", *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 88, pp. 254–262, 2016.
16. M. Ejaz, Y. A. Arfat, M. Mulla, J. Ahmed, "Zinc oxide nanorods/clove essential oil incorporated Type B gelatin composite films and its applicability for shrimp packaging", *Food Packaging and Shelf Life*, vol. 15, pp. 113–121, 2018.
17. C. Diaz, I. Olivas-Armendáriz, J. F. Hernández Paz, C. Gómez-Esparza, H. Reyes-Blas, M. Hernández-González, C. A. Rodríguez-González, "Synthesis by sol-gel and cytotoxicity of zinc oxide nanoparticles using wasted alkaline batteries", *Dig J Nanomater Biostruct*, vol. 12, pp. 371–379, 2017.
18. Y. Zhanga, B. K. Simpsona, M. Dumontb, "Effect of beeswax and carnauba wax addition on properties of gelatin films: A comparative study", *Food Bioscience*, vol. 26, pp. 88–95, 2018.
19. A. Abdul, A. Kamari, E. Phillip, "Chitosan, gelatin and methylcellulose films incorporated with tannic acid for food packaging", *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 120, pp. 1119–1126, 2018.
20. E. Shanesazzadeh, M. Kadivar, M. Fathi, "Production and characterization of hydrophilic and hydrophobic sunflower protein isolate nanofibers by electrospinning method", *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 119, pp. 1–7, 2018.
21. Y. Tanetrunroj, J. Prachayawarakorn, "Effect of dual modification on properties of biodegradable crosslinked oxidized starch and oxidized-crosslinked starch films", *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 120, pp. 1240–1246, 2018.
22. P. Kampeerappun, D. Aht-ong, D. Pentrakoon, K. Sriukulit, "Preparation of cassava starch/montmorillonite composite film", *Carbohydrate Polymers*, vol. 67, pp. 155–163, 2007.
23. A. Jiménez, M. J. Fabra, P. Talens, A. Chiralt, "Edible and Biodegradable Starch Films: A Review", *Food Bioprocess Technol*, vol. 5, pp. 2058–2076, 2012.
24. I. Arvanitoyannis, C. G. Biliaderis, "Physical properties of polyol-plasticized edible films made from sodium caseinate and soluble starch blends", *Food chemistry*, vol. 62(3), pp. 333–342, 1998.
25. M. A. García, M. N. Martino, N. E. Zaritzky, "Edible starch films and coatings characterization: scanning electron microscopy, water vapor, and gas permeabilities", *Scanning*, vol. 21(5), pp. 348–353, 1999.
26. D. Lourdin, G. Della Valle, P. Colonna, "Influence of amylose content on starch films and foams", *Carbohydrate polymers*, vol. 27(4), pp. 261–270, 1995.
27. S. Mali, M. V. E. Grossmann, M. V. E. (2003), "Effects of yam starch films on storability and quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa*)", *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 51(24), pp. 7005–7011, 2003.
28. K. R. Holme, A. S. Perlin, "Chitosan N-sulfate. A water-soluble polyelectrolyte", *Carbohydrate research*, vol. 302(1), pp. 7–12, 1997.
29. R. A. A. Muzzarelli, "Chitosan-based dietary foods", *Carbohydrate Polymers*, vol. 29(4), pp. 309–316, 2007.
30. K. Kurita, "Chitin and chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans. Marine", *Biotechnology*, vol. 8(3), pp. 203–226, 2006.
31. K. L. Nge, N. Nwe, S. Chandkrachang, W. F. Stevens, "Chitosan as a growth stimulator in orchid tissue culture", *Plant Science*, vol. 170(6), pp. 1185–1190, 2006.
32. C. Bangeykan, D. Aht-Ong, K. Sriukulit, "Preparation and properties evaluation of chitosan-coated cassava starch films" *Carbohydrate Polymers*, vol. 63(1), pp. 61–71, 2006.
33. A. Yagoubi, N. Sedaghat, "Assessing Safety of Food Packaging Materials", *غذایی صنایع و علوم ملی همایش دومین*, 2013.
34. D. G. Murray, L. R. Luft, "Low DE corn starch hydrolysates: multi-functional carbohydrates aid in food formulation". *Food technology*, vol. 2, pp. 32–24, 1973.
35. K. L. Nelson, O. R. Fennema, "Methylcellulose films to prevent lipid migration in confectionery products". *Journal of food science*, vol. 56(2), pp. 504–509, 1991.
36. F. Hussain, M. Hojjati, M. Okamoto, R. E. Gorga, "Polymer-matrix nanocomposites, processing, manufacturing, and application: an overview", *Journal of composite materials*, Vol. 40(17), pp. 1511–1575, 2006.
37. M. Kurian, A. Dasgupta, M. E. Galvin, C. R. Ziegler, F. L. Beyer, "A novel route to inducing disorder in model polymer-layered silicate nanocomposites", *Macromolecules*, vol. 39(5), pp. 1864–1871, 2006.
38. W. Lin, Y. Xu, C. Huang, Y. Ma, K. B. Shannon, D. R. Chen, Y. W. Huang, "Toxicity of nano- and micro-sized ZnO particles in human lung epithelial cells", *Journal of Nanoparticle Research*, vol. 11(1), pp. 25–39, 2009.
39. P. K. Stoimenov, R. L. Klinger, G. L. Marchin, K. J. Klabunde, "Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents", *Langmuir*, vol. 18(17), pp. 6679–6686, 2002.
40. D. Valerina, L. Tammaroa, F. Di Benedettoa, G. Vigiottab, L. Capodicecia, R. Terzia, A. Rizzoa, Aluminum-doped zinc oxide coatings on polylactic acid films for antimicrobial food packaging. *Thin Solid Films*, vol. 645, pp. 187–192, 2018.
41. M. Darder, P. Aranda, E. Ruiz-Hitzky, "Bionanocomposites: a new concept of ecological, bioinspired, and functional hybrid materials", *Advanced Materials*, vol. 19(10), pp. 1309–1319, 2007.
42. Y. Chen, S. Zhou, H. Yang, G. Gu, L. Wu, "Preparation and characterization of nanocomposite polyurethane", *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 279(2), pp. 370–378, 2004.
43. W. Jia, C. Liu, L. Yang, J. Yang, L. Fan, M. Huang, B. Kan, B. "Synthesis, characterization, and thermal properties of biodegradable polyetheresteramide-based polyurethane", *Materials letters*, vol. 60(29), pp. 3686–3692, 2006.
44. F. Ferella, I. De Michelis, F. Veglio, "Process for the recycling of alkaline and zinc-carbon spent batteries", *Journal of Power Sources*, vol. 183(2), pp. 805–811, 2008.
45. I. De Michelis, F. Ferella, E. Karakaya, F. Beolchini, F. Veglio, "Recovery of zinc and manganese from alkaline and zinc-carbon spent batteries", *Journal of Power Sources*, vol. 172(2), pp. 975–983, 2007.
46. X. Wang, J. Zhou, J. Song, J. Liu, N. Xu, Z. L. Wang, "Piezoelectric field effect transistor and nanoforce sensor based on a single ZnO nanowire", *Nano letters*, vol. 6(12), pp. 2768–2772, 2006.
47. H. Tanga, Z. Yea, L. Zhua, H. Hea, B. Zhaoa, Y. Zhanga, M. Zhia, Z. Yang, "Synthesis of radial ZnO nanostructures by a simple thermal evaporation method", *Physica E*, vol. 40, pp. 507–511, 2008.
48. A. Kamalianfara, S.A. Halima, A. Khorsand Zake, "Synthesis of ZnO/Cu micro and nanostructures via a vapor phase transport method using different tube systems", *Ceramics International*, vol. 40, pp. 3193–3198, 2014.
49. P. Sharma, A. Gupta, K. V. Rao, F. J. Owens, R. Sharma, R. Ahuja, G. A. Gehring, "Ferromagnetism above room temperature in bulk and transparent thin films of Mn-doped ZnO", *Nature materials*, vol. 2(10), pp. 673–677, 2003.
50. A. Khorsand, W. H. Majid, M. R. Mahmoudian, M. Darroudi, R. Yousefi, "Starch-stabilized synthesis of ZnO nanopowders at low temperature and optical properties study", *Advanced Powder Technology*, vol. 24(3), pp. 618–624, 2013.
51. J. H. Li, R. Y. Hong, M. Li, H. Li, Y. Zheng, J. Ding, "Effects of ZnO nanoparticles on the mechanical and antibacterial properties of polyurethane coatings", *Progress in Organic Coatings*, vol. 64(4), pp. 504–509, 2009.
52. D. Yu, R. Cai, Z. Liu, "Studies on the photodegradation of Rhodamine dyes on nanometer-sized zinc oxide", *Spectrochimica ACTA Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 60(7), pp. 1617–1624, 2004.
53. R. Rajendra, C. Balakumar, H. Ahammed, S. Jayakumar, K. Vaideki, E. Rajesh, "Use of zinc oxide nano particles for production of antimicrobial textiles", *International Journal of Engineering, Science and Technology*, vol. 2(1), pp. 202–208, 2010.
54. Gavilán, L. Rojas, J. Barrera, "Las pilas en México: un diagnóstico ambiental (informe, marzo de 2009)", Instituto nacional de ecología, Vol. 1, pp. 12–17, 2009.
55. P. Méndez-Sánchez, M. A. Velazco-Hernández, J. I. Becerra-Ponce, D. Tapia-Brito, J. I. Castillo-Velazquez, C. Sánchez-Mozo, F. Merino, M. Serrano-Cuatlayol. "Contaminación de agua por pilas alcalinas tipo AA", *Conferece: V Congreso Internacional de Ciencias Ambientales*: UAEM Mexico Volume: ISBN: 968-878-256-3, 2006.

56. Editorial, "The Urban Mining concept", *Waste Management*, vol. 33 pp. 497–498, 2013.
57. K. Amit, E. Apurt, "COPPER MINES Above and Below the Ground, Estimating the stocks of materials in ore, products, and disposal sites opens up new ways to recycle and reuse valuable resources", *Environmental Science & Technology*, vol. 1, pp. 3136-3141, 2006.
58. A. R. Barashev, S. V. Karellov, S. V. Mamyachenkov, and O. S. Anisimova, "Status of the organized recycling of cadmium-bearing secondary raw materials", *Metallurgist*, Vol. 57, pp. 3–4, 2013.
59. A. L. Salgado, A. M. O. Veloso, D. D. Pereira, G. S. Gontijo, A. Salum, M. B. Manzur, "Recovery of zinc and manganese from spent alkaline batteries by liquid-liquid extraction with Cyanex 272", *Journal of Power Sources*, vol. 115, pp. 367–373, 2003.
60. S. L. Veloso C. R. Oliveira F. D. Alvarenga M. F. Silva M. M. Borges "Development of a hydrometallurgical route for the recovery of zinc and manganese from spent alkaline batteries", *Journal of Power Sources*, vol. 152, pp. 295-302, 2005.
61. M. Almeida S. Xará J. Delgado C. A. Costa, "Laboratory study on the behaviour of spent AA household alkaline batteries in incineration", *Waste Management*, vol. 29(1), pp.342-9, 2009.
62. P. Hu, P. De-an, W. Xin-feng, T. Jian-jun, J. Wang, Z. Shen-gen, A. A. Volinsky, "Fuel additives and heat treatment effects on nanocrystalline zinc ferrite phase composition", *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, vol. 323, pp. 569–573, 2011.
63. A. E. Kestell, G. T. DeLorey, "Nanoparticles: Properties, Classification, Characterization, and Fabrication" Nova Science Publishers; Edición: UK ed., 2011.
64. R. Billé, "Gestion intégrée des zones côtières: quatre illusions bien ancrées", *VertigO-la revue électronique en sciences de l'environnement*, vol. 7(3), 2006.
65. B J Norris, J Anderson, J. F. Wager, D. A. Keszler, "Spin-coated zinc oxide transparent transistors", *Journal of physics D: applied physics*, vol. 36, pp. L105–L107, 2003.
66. X. Wang, J. Zhou, J. Song, J. Liu, N. Xu, Z. L. Wang, "Piezoelectric field effect transistor and nanoforce sensor based on a single ZnO nanowire", *Nano letters*, vol. 6(12), pp. 2768-2772, 2006.
67. S. C. Singh, "Zinc Oxide Nanostructures; Synthesis, Characterizations and Device Applications", *Journal of Nanoengineering and Nanomanufacturing*, vol. 3(4), pp. 283-310, 2013.
68. B. Karthikeyan, T. Pandiyarajan, R. V. Mangalaraja, "Enhanced blue light emission in transparent ZnO: PVA nanocomposite free standing polymer films", *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 152, pp. 485-490, 2016.
69. M. Gratzel, "Perspectives for dye-sensitized nanocrystalline solar cells", *Prog. Photovoltaic Res. Applic.*, vol. 8, pp. 171-185, 2000.
70. M. E. Rincón, O. Gómez-Daza, C. Corripio, E. A. Vazquez-Martínez, J. Ruiz-García, J. "Morphology and photoelectrochemical behaviour of CdSe/ZnO composites obtained by the screen printing technique", *Semiconductor science and technology*, vol. 14(5), pp. 390, 1999.
71. G. Wei, W. Qin, W. Han, W. Yang, F. Gao, G. Jing, L. Wang, "Large-scale synthesis of wide band gap semiconductor nanostructures by microwave method", *The Journal of Physical Chemistry C*, vol. 113(45), pp. 19432-19438, 2009.
72. S. J. Pearton, D. P. Norton, Y. W. Heo, T. Steiner, "Recent advances in processing of ZnO", *Journal of Vacuum Science & Technology B: Microelectronics and Nanometer Structures Processing, Measurement, and Phenomena*, 22(3), 932-948, 2004.
73. S. Major, A. Banerjee, K. L. Chopra, "Highly transparent and conducting indium-doped zinc oxide films by spray pyrolysis", *Thin Solid Films*, vol. 108(3), pp. 333-340, 1983.
74. D. Tuncay, D. Selim, "Influence of thermal oxidation temperature on the microstructure and photoelectrochemical properties of ZnO nanostructures fabricated on the zinc scraps", DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2018.11.241>.
75. P. Lauren S. Snedeker, S. Risbud, M. Ombretta, J. P. Zhang, R. Seshadri, "Organic phase conversion of bulk (wurtzite) ZnO to nanophase (wurtzite and zinc blende) ZnO", *Solid State Sciences*, vol. 7, pp. 1500–1505, 2005.
76. P. Zhaoa, S. Kima, S. Yoonb, P. Song, "Characteristics of indium zinc oxide/silver/indium zinc oxide multilayer thin films prepared by magnetron sputtering as flexible transparent film heaters", *Thin Solid Films*, vol. 665, pp. 137–142, 2018.
77. R. Ansari, M. Mizehad, H. Rouhi, "A first principles study on the mechanical properties of hexagonal zinc oxide sheets", *Superlattices and Microstructures*, vol. 79, pp. 15–20, 2015.
78. A. Bediaa, F.Z. Bediaa, M. Aillerieb, N. Maloufid, B. Benyoucefa, "Morphological and Optical properties of ZnO thin films prepared by spray pyrolysis on glass substrates at various temperatures for integration in solar cell", *Energy Procedia*, vol. 74, pp. 529 – 538, 2015.
79. H. L. Mosbacher, Y. M. Strzhemechny, B. D. White, P. E. Smith, D. C. Look, D. C. Reynolds, L. J. Brillson, "Role of near-surface states in ohmic-Schottky conversion of Au contacts to ZnO", *Applied Physics Letters*, vol. 87(1), pp. 012102, 2005.
80. D. S. Ginley, C. Bright, C. "Transparent conducting oxides", *Mrs Bulletin*, vol. 25(8), pp. 15-18, 2000.
81. J. Mizsei, V. Lantto, "Air pollution monitoring with a semiconductor gas sensor array system", *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 6(1-3), pp. 223-227, 1992.
82. A. Umar, Y. B. Hahn, "Metal oxide nanostructures and their applications", *American Scientific Publ, American Scientific Publishers, CA, USA*, Vol. 5, 2010.
83. A. Kolođziejczak-Radzimska, T. Jesionowski, "Zinc oxide—from synthesis to application: a review", *Materials*, vol. 7(4), pp. 2833-2881, 2014.
84. J. González-Hernández, J. F. Pérez-Robles, F. Ruiz, J. R. Martínez, J. R. "Vidrios SiO₂ nanocompuestos preparados por sol-gel: revisión. Sociedad Mexicana de Ciencia de Superficies y de Vacío", *Superficies y Vacío*, vol. 11, pp. 1-16, 2000.
85. J. Israelachvili, H. Wennerström, "Role of hydration and water structure in biological and colloidal interactions", *Nature*, vol. 379(6562), pp. 219-225, 1996.
86. S. J. Teichner, G. A. Nicolaon, M. A. Vicarini, G. E. E. Gardes, "Inorganic oxide aerogels", *Advances in Colloid and Interface Science*, vol. 5(3), pp. 245-273, 1976.
87. J. K. Oh, D. I. Lee, J. M. Park, "Biopolymer-based microgels/nanogels for drug delivery applications", *Progress in Polymer Science*, vol. 34(12), pp. 1261-1282, 2009.
88. S. Barkhordari, M. Yadollahi, H. Namazi, H. "pH sensitive nanocomposite hydrogel beads based on carboxymethyl cellulose/layered double hydroxide as drug delivery systems", *Journal of Polymer Research*, vol. 21(6), pp. 1, 2014.
89. L. Fu, Z. Liu, Y. Liu, B. Han, P. Hu, L. Cao, D. Zhu, "Beaded cobalt oxide nanoparticles along carbon nanotubes: towards more highly integrated electronic devices", *Advanced Materials*, vol. 17(2), pp. 217-221, 2005.
90. M. D. Sacks, "Properties of silicon suspensions and cast bodies", *American Ceramic Society bulletin*, vol. 63(12), pp. 1510-1515, 1984.
91. R. Moreno, J. S. Moya, J. Requena, J. "Colaje de Oxidos Cerámicos", *I. Fundamentos. Bol. Soc. Esp. Ceram. Vidr*, vol. 24(3), pp. 165-171, 1985.
92. N. N. Mobarak, A. Ahmad, M. P. Abdullah, N. Ramli, M. Y. A. Rahman, "Conductivity enhancement via chemical modification of chitosan based green polymer electrolyte", *Electrochimica Acta*, vol. 92, pp. 161-167, 2013.
93. Z. Xianfang, E. Ruckenstein, E. "Supported chitosan-dye affinity membranes and their protein adsorption". *Journal of membrane science*, vol. 117(1), pp. 271-278, 1996.
94. W. Paul, C. P. Sharma, "Chitosan, a drug carrier for the 21st century: a review". *STP pharma sciences*, vol. 10(1), pp. 5-22, 2000.
95. M. R. Gandhi, S. Meenakshi, "Preparation and characterization of silica gel/chitosan composite for the removal of Cu (II) and Pb (II)", *International journal of biological macromolecules*, vol. 50(3), pp. 650-657, 2012.
96. P. L. Kashyap, X. Xiang, P. Heiden, "Chitosan nanoparticle based delivery systems for sustainable agriculture", *International journal of biological macromolecules*, vol. 77, pp. 36-51, 2015.
97. S. Aoyagi, H. Onishi, Y. Machida, "Novel chitosan wound dressing loaded with minocycline for the treatment of severe burn wounds", *International journal of pharmaceuticals*, vol. 330(1), pp. 138-145, 2007.
98. X. Ma, P. R. Chang, J. Yang, J. Yu, "Preparation and properties of glycerol plasticized-pea starch/zinc oxide-starch bionanocomposites", *Carbohydrate polymers*, 75(3), 472-478, 2009.
99. K. Shamel, M. B. Ahmad, W. Yunus, A. Rustaiyan, N. Ibrahim, M. Zargar, Y. Abdollahi, "Green synthesis of silver/montmorillonite/chitosan bionanocomposites using the UV irradiation method and evaluation of antibacterial activity", *International journal of nanomedicine*, vol. 5(1), pp. 875-887, 2010.
100. A. A. Karim, A. Tie, D. Manan, I. S. M. Zaidul, "Starch from the sago (Metroxylon sago) palm tree—properties, prospects, and challenges as a new industrial source for food and other uses", *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 7(3), pp. 215-228, 2008.
101. V. Kovacevic, D. Vrsaljko, S. Blagojevic, M. Leskovic, M. "Adhesion parameters at the interface in nanoparticulate filled polymer systems", *Polymer engineering and science*, vol. 48(10), pp. 1994, 2008.
102. X. Niu, Y. Liu, Y. Song, J. Han, H. Pan, "Rosin modified cellulose nanofiber as a reinforcing and co-antimicrobial agents in polylactic acid /chitosan composite film for food packaging", *Carbohydrate Polymers*, vol. 183, pp. 102–109, 2018.
103. F. Sébastien, G. Stéphane, A. Copinet, V. Coma, "Novel biodegradable films made from chitosan and poly(lactic acid) with antifungal properties against mycotoxinogen strains", *Carbohydrate Polymer*, vol. 65, pp. 185–193, 2006.
104. P. Bie, P. Liu, L. Yu, X. Li, L. Chen, F. Xie, "The properties of antimicrobial films derived from poly (lactic acid)/starch/chitosan blended matrix", *Carbohydrate Polymer*, vol. 98, pp. 959–966, 2013.
105. L. Fan, Y. Du, B. Zhang, J. Yang, J. Zhou, J. F. Kennedy, "Preparation and properties of alginate/carboxymethyl chitosan blend fibers", *Carbohydrate Polymers*, vol. 65, pp. 447–452, 2006.

106. R. Suriyatem, R. A. Auras, P. Rachtanapun, "Improvement of mechanical properties and thermal stability of biodegradable rice starch-based films blended with carboxymethyl chitosan", *Industrial Crops & Products*, vol. 122, pp. 37–48, 2018.
107. T. Bourtoom, M. Chinnan, "Preparation and properties of rice starch-chitosan blend biodegradable film", *LWT Food Science and Technology*, vol. 41, pp. 1633–1641, 2008.
108. J. Wu, F. Zhong, Y. Li, C. Shoemaker, W. Xia, "Preparation and characterization of pullulan-chitosan and pullulan-carboxymethyl chitosan blended films", *Food Hydrocolloid*, vol. 30, pp. 82–91, 2013.
109. B. Ghanbarzadeh, A. R. Oromiehi, "Thermal and mechanical behavior of laminated protein films", *Journal of Food Engineering*, vol. 90, pp. 517e524, 2009.
110. N. Naushad Emmambux, M. Stading, "In situ tensile deformation of zein films with plasticizers and filler materials", *Food Hydrocolloids*, vol. 21, pp. 1245e1255, 2007.
111. M. Berger, Nanotechnology could make battery recycling economically attractive, NanoWerk, <http://www.nanowerk.com/spotlight/spotid=23592.php> (2011).
112. G. Belardi, P. Ballirano, M. Ferrini, R. Lavecchiac, F. Medici, L. Pigac, A. Scoppettuoloc, "Characterization of spent zinc-carbon and alkaline batteries by SEM-EDS, TGA/DTA and XRPD analysis", *Thermochemica Acta*, vol. 526(1-2), pp. 169, 2011.
113. S.M. Xara, J.N. Delgado, M.F. Almeida, C.A. Costa, "Laboratory study on the leaching potential of spent alkaline batteries", *Waste Management*, vol. 29(7), pp. 2121, 2009.
114. P. Hu, D. Pan, S. Zhang, J. Tian, A.A. Volinsky, "Mn-Zn soft magnetic ferrite nanoparticles synthesized from spent alkaline Zn-Mn batteries", *Journal of Alloys and Compounds*, vol. 509(9), pp. 3991, 2011.
115. M. Ibrahim, M. Alaam, H. El-Haes, A. F. Jalbout, A. de Leon, "Analysis of the structure and vibrational spectra of glucose and fructose", *Eclectica Quimica*, vol. 31(3), pp. 15 2006.
116. C. Pholnak, C. Sirisathikul, S. Suwanboon, D. J. Harding, "Effects of Precursor Concentration and Reaction Time on Sonochemically Synthesized ZnO Nanoparticles", *Materials Research*, vol. 17(2), pp. 405-411, 2014.
117. R. E. Durkot, L. Lin, P. B. Harris, "ZINC ELECTRODE PARTICLE FORM", Duracell Inc., Bethel, CT (US), Patent No. US 6, 284, 410 B1 (2001).
118. T. J. Brunner, P. Wick, P. Manser, P. Spohn, R. N. Grass, L. K. Limbach, A. Bruinink, W. J. Stark, "In Vitro Cytotoxicity of Oxide Nanoparticles: Comparison to Asbestos, Silica, and the Effect of Particle Solubility", *Environmental Science and Technology*, vol. 40(14), pp. 4374-4381, 2006.
119. Y. Zhang, K. C. Nguyen, D.E. Lefebvre, P. S. Shwed, J. Crosthwait, G. S. Bondy, A. F. Tayabali, "Critical experimental parameters related to the cytotoxicity of zinc oxide nanoparticles", *Journal of Nanoparticle Research*, vol. 16(6), pp. 2439-2440, 2014.
120. F. Namvar, H. S. Rahman, R. Mohamad, S. Azizi, P. M. Tahir, M. Stanley Chartrand, S. K. Yeap, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 1, 2015.
121. C. Leites, J. Menegotto, N. Zagonel, L. Kelin, L. Damaris, J. Corralo, I. Cristina, "Effect of chitosan addition on the properties of films prepared with corn and cassava starches", *Journal of Food Science and Technology*, vol. 55(8), pp. 2963–2973, 2018.
122. A. Zimoch-Korzycka, A. Rouilly, L. Bobak, A. Jarmoluk, M. Korzycki, "Chitosan and cystatin/lysozyme preparation as protective edible films components", *International Journal of Polymer Science*, vol. 1, pp. 1–10, 2015.
123. S. A. Martel-Estrada, C. A. Martínez-Pérez, J. G. Chacón-Nava, P. García-Casillas, I. Olivas-Armendariz, "Synthesis and thermo-physical properties of chitosan/poly (dl-lactide-co-glycolide) composites prepared by thermally induced phase separation", *Carbohydrate Polymers*, vol. 81(4), pp. 775-783, 2010.
124. T. Caldas dos Santos, N. Rescignano, L. Boff, F. H. Reginatto, C. M. Oliveira, A. Machado, C. Ugarte. "Manufacture and characterization of chitosan/PLGA nanoparticles nanocomposite buccal films", *Carbohydrate Polymers*, vol. 173, pp. 638–644, 2017.
125. X. Zhang, G. Xiao, Y. Wang, Y. Zhao, H. Su, T. TanState. Preparation of chitosan-TiO2 composite film with efficient antimicrobial activities under visible light for food packaging applications. *Carbohydrate Polymers* 169 (2017) 101–107.
126. K. Saral Sarojini, M.P. Indumathi, G. R. Rajarajeswari, "Mahua oil - based Polyurethane / Chitosan/ Nano ZnO composite films for biodegradable food packaging applications", doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.195.
127. G.H. Yew, A.M. Mohd Yusof, Z.A. Mohd Ishak, U.S. Ishiaku, "Water absorption and enzymatic degradation of poly(lactic acid)/rice starch composites", *Polymer Degradation and Stability*, vol. 90, pp. 488e500, 2005.
128. M. A. Araújo, A. M. Cunha, M. Mota, "Enzymatic degradation of starch-based thermoplastic compounds used in prostheses: identification of the degradation products in solution", *Biomaterials*, vol. 25, pp. 2687–2693, 2004.
129. International Standard. "Biological evaluation of medical devices—Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity". ISO 10993-5:2009.
130. X. Deng, Q. Luan, W. Chen, Y. Wang, M. Wu, H. Zhang, and Z. Jiao, "Nanosized zinc oxide particles induce neural stem cell apoptosis.", *Nanotechnology*, vol. 20, no. 11, pp. 115101, 2009.
131. G. Lin and J. G. Scott, "NIH Public Access," vol. 100(2), pp. 130–134, 2012.
132. C. Valencia-Sullca, M. Vargas, L. Atares, Chiralta A. Thermoplastic cassava starch-chitosan bilayer films containing essential oils. *Food Hydrocolloids*, vol. 75, pp. 107-115, 2018.
133. H. Thippareddi, R. Phebus, J. Marsden, M. Singh. Antimicrobial activity of Cetylpyridinium chloride against *Listeria monocytogenes* in ready to eat meats [dissertation], Kansas State University, Manhattan, 2002

Productos generados

- Reporte técnico
- Proyecto de titulación de ingeniería biomédica- Propiedades antimicrobianas de nanopartículas de ZnO obtenidas de pilas alcalinas de desecho para su futura aplicación para el desarrollo de empaques biomédicos Proyecto de Titulación que presentó: Aarón Ashmed FLORES HERNÁNDEZ, Noviembre de 2020.

Nota: El estudiante e licenciatura no completó el desarrollo de películas debido a la contingencia generada por la pandemia del COVID 19.