



VI Congreso Internacional
CIENCIA Y TECNOLOGÍA
de los **ALIMENTOS 2016**
CÓRDOBA - ARGENTINA
— Año Internacional de las Legumbres —

CONSERVACIÓN E INOCUIDAD

Aguirre, Alicia

Conservación e inocuidad : trabajos completos : VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 2016 / Alicia Aguirre ; Agustin Gonzalez ; Rolando Pécora ; compilado por Alberto Edel León ; editado por Victoria Rosati ; Carlos Walter Robledo ; Alberto Edel León. - 1a ed. adaptada. - Córdoba : Ministerio de Ciencia y Tecnología de la provincia de Córdoba, 2017.

Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online

ISBN 978-987-45380-2-4

1. Alimentos. 2. Conservación de Alimentos. 3. Actas de Congresos. I. León, Alberto Edel , comp. II. Rosati, Victoria , ed. III. Robledo, Carlos Walter, ed. IV. León, Alberto Edel , ed. V. Título.

CDD 664

ISBN 978-987-45380-2-4



PRÓLOGO

En los últimos años, el desarrollo de nuevos métodos y técnicas de envasado de alimentos no sólo han aumentado la vida útil de los alimentos, sino que también ha mejorado su seguridad y calidad.

Este libro de trabajos completos presenta los últimos logros y desarrollos científicos sobre conservación, almacenamiento e inocuidad de los alimentos que fueron expuestos en la sexta edición del Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, llevado a cabo en Córdoba, Argentina los días 2, 3 y 4 de noviembre de 2016.

Los artículos que lo componen proporcionarán al mundo académico y a la industria una plataforma para discutir nuevos conceptos y tecnologías necesarios para avanzar en el desarrollo de nuevos materiales de envases y nuevas tecnologías de conservación de alimentos. También permitirán examinar la influencia de los materiales y los procesos sobre la vida útil y la inocuidad de los alimentos. Esperamos que este libro responda a las necesidades de todos aquellos interesados en el área de envasado, vida útil e inocuidad de los alimentos.

EDITORES

Alicia Aguirre.
Agustín Gonzalez.
Rolando Pécora.



Análisis de la capacidad antioxidante de películas compuestas de quitosano

Raspo M.A. ^(1,2), Gomez C. ⁽³⁾, Andreatta A.E. ^(1,2)

⁽¹⁾ IDTQ Grupo Vinculado a PLAPIQUI – FCEfyN – UNC, Av. Vélez Sarsfield 1601, Córdoba (5000), Argentina.

⁽²⁾ UTN Facultad Regional San Francisco, Av. de la Universidad 501, San Francisco, Córdoba (2400), Argentina.

⁽³⁾ Dpto. de Química Orgánica – FCQ – UNC, Haya de la Torre y Medina Allende, Córdoba (5000), Argentina.

RESUMEN

El interés en el desarrollo de películas para la conservación de alimentos se encuentra en aumento debido a la gran disponibilidad de recursos y métodos de síntesis para generarlas. Entre los polisacáridos naturales, quitosano es un biopolímero con amplio uso producido por la desacetilación de quitina, el cual presenta una buena capacidad para formar películas adecuadas como envoltorios de alimentos. Por su parte, los antioxidantes naturales tales como ácido gálico, presentes en muchos alimentos vegetales, actúan como inhibidores de la actividad oxidante de radicales libres, los cuales aceleran la descomposición de alimentos. Por ese motivo, en este estudio se planteó la preparación de películas de quitosano al 1% p/p modificadas por adición de ácido gálico y sorbitol utilizado este último como plastificante para el posterior análisis de la capacidad antioxidante de las mismas cuantificadas por contenido de polifenoles totales (TPC), ensayo DPPH y ensayo CUPRAC. Con el objetivo de determinar las condiciones óptimas de contenido de sorbitol y ácido gálico en la formulación de las películas con la mayor capacidad antioxidante, se aplicó un diseño experimental Doehlert de dos factores para el cual las condiciones óptimas encontradas fueron 0,88%p/p de ácido gálico y 0% de sorbitol.

Palabras clave: quitosano, ácido gálico, antioxidantes, películas, envases activos

176

ABSTRACT

The interest in the development of food preservation films is increasing due to the wide availability of resources and methods of synthesis to generate them. Among natural polysaccharides, chitosan is a widely available biopolymer obtained from the deacetylation of chitin, which has a good ability to form suitable films for food packaging. Meanwhile, natural antioxidants such as gallic acid, available in many vegetable foods, acts as an inhibitor for the oxidant activity of free radicals, which accelerate the decomposition of food. For this reason, in this study the preparation of films of chitosan 1% w/w modified by addition of gallic acid and sorbitol was proposed for the subsequent analysis of the antioxidant capacity of the same quantified by Total Phenolic Content (TPC), DPPH assay and CUPRAC assay. In order to determine the optimal content conditions of gallic acid and sorbitol in the formulation of the films with the highest antioxidant capacity, a two-factor Doehlert experimental design was applied for which the optimum conditions found were 0.88% w/w of gallic acid and 0% w/w of sorbitol.

Keywords: chitosan, gallic acid, antioxidants, films, active packaging

INTRODUCCIÓN

En la actualidad es posible encontrar innumerables trabajos enfocados en el desarrollo de nuevas tecnologías de envasado, las cuales han surgido a través de diferentes investigaciones e innovaciones como una respuesta a la demanda de las industrias, especialmente de las alimenticias. Los envases activos tienen por objetivo mejorar la seguridad alimentaria, preservar la calidad del alimento y alargar su vida útil (Morris 2017). Existen dos tipos de envases activos: los que actúan como barrera frente a sustancias indeseables tales como O₂, H₂O, CO₂, etc. y los que poseen componentes activos que le otorgan diversas propiedades entre las que podemos mencionar, por ejemplo, la de tener capacidad antioxidante o la de poseer capacidad antimicrobiana frente a determinados microorganismos (Vermeiren et al. 2000; Day y Potter 2011).



Por otro lado, el creciente interés por el cuidado del medio ambiente hace que las industrias se vean frente al desafío de reemplazar sus tradicionales envases por otros que sean de origen natural como los biopolímeros, biocompuestos, etc. La generación de envases biodegradables con el agregado de principios activos es una de las tecnologías que se encuentran en constante estudio en diferentes campos de investigación e industrias.

Dentro de todo el universo de alternativas posibles, la utilización de biopolímeros como precursores de envases y/o películas es la que lleva ventaja, debido a que éstos son naturales y biodegradables. Quitosano (QS) es un polisacárido lineal, derivado de quitina presente en el caparazón de insectos y crustáceos y está compuesto por cadenas de β -1,4-D-glucosamina y N-acetil-D-glucosamina aleatoriamente distribuidas (Xie et al. 2014). Es insoluble en agua y soluble en ácidos orgánicos tales como ácido acético y ácido láctico (Pillai et al. 2009; Rinaudo 2006).

El uso de compuestos fenólicos y extractos en envases activos atrae un particular interés desde que éstos compuestos han demostrado actividad antimicrobiana y antioxidante. Entre ellos, el ácido gálico (GA) o ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico es un metabolito secundario presente en diversas especies vegetales tales como arándanos, manzanas, lino y té, que se lo conoce por su natural actividad antioxidante además de su actividad antimicrobiana (Aruoma et al. 1993; Chanwitheesuk et al. 2007).

El presente trabajo aborda el estudio de la preparación de películas de quitosano modificadas por el agregado de distintas concentraciones de ácido gálico, utilizando sorbitol (SB) como plastificante con el objetivo de evaluar diferentes propiedades, centrándose fundamentalmente en el análisis de la capacidad antioxidante de las mismas utilizando el diseño experimental Doehlert de dos factores.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los reactivos fueron utilizados sin previa purificación después de su adquisición. Quitosano (92%, Parafarm, Argentina); ácido acético glacial (AA) (99,5%, Cicarelli, Argentina); ácido gálico anhidro (98,0%, Biopack, Argentina); ácido clorhídrico (HCl) pro-análisis (36,5-38%, Anedra, Argentina); hidróxido de sodio (NaOH) pro-análisis (97%, Cicarelli, Argentina), sorbitol (70%, Polyglobe, Argentina); 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) (Aldrich Chemistry, EEUU); 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid - Trolox (97%, Aldrich Chemistry, EEUU).

La mezcla de reacción se preparó disolviendo 0,10 g de QS en buffer de ácido acético/acetato 0,10 M a pH 4, a la cual se le incorporó GA bajo agitación hasta alcanzar su disolución a 25°C. Las mezclas finales obtenidas presentaron una concentración final de QS al 1% p/p, mientras que las concentraciones de GA fueron variadas en (0; 0,25; 0,5; 0,75; 1) % p/p y las de SB en (0; 2,5; 5; 7,5; 10) % p/p. Posteriormente, cada mezcla de reacción se vertió en cápsulas de Petri donde se logró la formación de las películas a partir de la evaporación del solvente a 25°C, en un proceso denominado *casting*.

Por su parte, las películas fueron caracterizadas mediante espectroscopía UV-Visible (Shimadzu UV1800) y el espesor de las películas se determinó mediante un espesímetro (Schwyz, Switzerland) de una precisión de 0,001 mm. La opacidad de las películas se determinó como el área bajo la curva de absorbancia (UA) en el rango del espectro visible ($\lambda=400-800$ nm), según el método de González (2013). Para poder comparar resultados, este valor fue normalizado dividiendo por el espesor de cada película.

La cantidad de antioxidante activo se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu descrito por Siripatrawan et al. (2010) con algunas modificaciones. Este ensayo se utiliza como medida del contenido en compuestos fenólicos totales (TPC) en productos vegetales y se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm. Para poder expresar los resultados, se realizó una curva de calibración del ensayo utilizando GA como agente patrón, y los resultados se expresaron en mg de GA por mg de película.

Por otro lado, la capacidad antioxidante se midió a través del ensayo de reducción del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilil (DPPH) y del ensayo de reducción del ion cúprico (CUPRAC). El ensayo DPPH se realizó según lo expresado por Blois (1958) con algunas modificaciones. En el mismo se determina el grado de decoloración que provocan los componentes de un extracto a una solución metanoica de dicho reactivo a una longitud de onda de 517 nm, cuantificando de esta manera la capacidad captadora de radicales libres del extracto. El método CUPRAC, descrito por Apak et al. (2004), se basa en la medición de la absorbancia a 450 nm del cromóforo CUPRAC [Cu(I)-Nc quelato] formado como resultado de la reacción redox de antioxidantes con el reactivo CUPRAC [Cu(II)-Nc]. En ambos casos, Trolox (TR) fue utilizado para realizar



la curva de calibración y de esta manera obtener los resultados en unidades TEAC (Trolox Equivalent Assay Capacity) que determinan mg de TR por mg de película.

El diseño experimental para el desarrollo del presente trabajo se llevó a cabo mediante el uso de la Metodología de Superficie de Respuesta a partir de un modelo de dos factores (Doehlert, 1970) donde los mismos fueron el contenido de GA (0 – 1% p/p) y el contenido de SB (0 – 10% p/p) utilizado en la formulación de las películas. La selección y el rango de estas variables se basó en experiencias previas. Para llevar a cabo el modelo, el contenido de SB fue codificado en cinco niveles (-1; -0,5; 0; 0,5; 1), mientras que el contenido de GA en tres (-1; 0; 1), tal como se muestra en la **Tabla 2**. El diseño se basa en el análisis de las respuestas experimentales de TPC (Y_1), TEAC a partir del ensayo de DPPH (Y_2) y TEAC a partir del ensayo de CUPRAC (Y_3), las cuales fueron halladas en 6 formulaciones de mezclas reactivas diferentes, y en tres formulaciones idénticas del punto central.

Tabla 1. Dominio experimental y valores codificados para las variables independientes utilizadas en el Modelo de Doehlert de dos factores

		Ácido Gálico (X_1)			
Concentración (%p/p)		0,5	0,75	1	
Valores Codificados		-0,866	0	0,866	
		Sorbitol (X_2)			
Concentración (%p/p)	0	2,5	5	7,5	10
Valores Codificados	-1	-0,5	0	0,5	1

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las películas obtenidas presentan una buena apariencia, teniendo en cuenta su homogeneidad, transparencia y brillo, como se puede observar en la **Figura 1** para una formulación al 1% p/p de GA y QS y 2,5% p/p de SB.



Figura 1. Película de quitosano al 1% p/p con GA al 1% p/p y SB al 2,5% p/p.

La caracterización UV-Visible permitió obtener las curvas espectrales de una película obtenida a partir de una mezcla de reacción al 1% p/p QS, 0,75% p/p GA y 2,5% p/p de SB y de otra película de igual contenido en QS y GA con 7,5% p/p de SB. Este análisis se muestra en la **Figura 2** y se puede observar que no existen diferencias importantes entre las dos películas frente al agregado de SB utilizado como plastificante. Este resultado implica que no hay modificaciones en la estructura química de la misma frente al agregado del mismo.



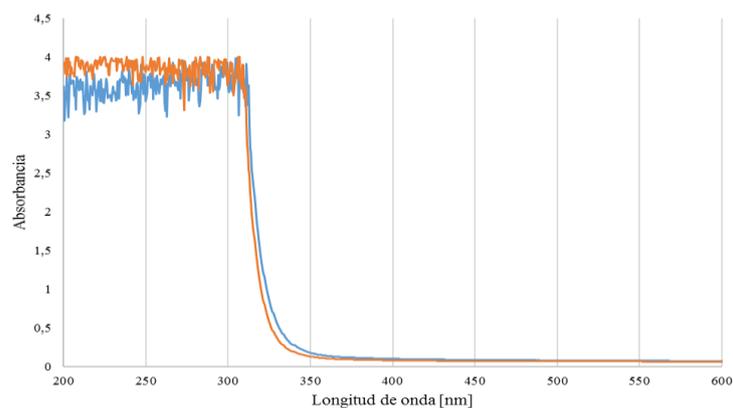


Figura 2. Curvas espectrales de una película obtenida a partir de una mezcla de reacción al 1% p/p QS, 0,75% p/p GA y 2,5% p/p de SB (línea azul) y de 1% p/p QS, 0,75% p/p GA y 7,5% p/p de SB (línea roja).

La caracterización UV-Visible modificando el % p/p de GA y manteniendo constante el % de SB y QS para una película al 1% p/p QS, 0,75% p/p GA 2,5% p/p de SB y frente a otra de 0,5% p/p GA se puede observar en la **Figura 3**. En la misma, se observa una diferencia de absorbancia notable en el rango que va de los 325 a los 375 nm de longitud de onda, lo cual seguramente está dado por una mayor cantidad de GA y una conformación distinta de la película.

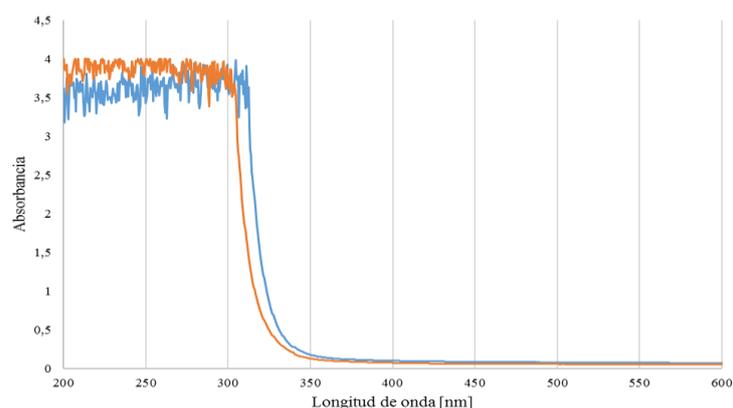


Figura 3. Curvas espectrales de una película obtenida a partir de una mezcla de reacción 1% p/p QS, 0,75% p/p GA y 2,5% p/p de SB (línea azul) y de una mezcla de reacción al 1% p/p QS, 0,5% p/p GA y 2,5% p/p de SB (línea roja).

El espesor promedio de las diferentes películas, se realizó a partir de 15 mediciones aleatorias sobre la superficie de las mismas, teniendo en cuenta que fueron preparadas todas siguiendo el mismo procedimiento y a partir del mismo volumen inicial de mezcla de reacción. El promedio de estas mediciones y las composiciones de las mezclas reactivas de las películas analizadas se muestran en **Tabla 2**.

Tabla 2. Espesores de diferentes películas

GA (% p/p)	SB (% p/p)	Espesor (μm)
0,5	2,5	20,5 \pm 3,2
1	2,5	52,2 \pm 6,8
0,75	5	68,1 \pm 7,2
0,75	10	90,8 \pm 8,0



A partir de los datos mostrados en la **Tabla 2**, se observa que el aumento de concentración de alguno de los dos componentes en la mezcla de reacción aumenta el espesor promedio de las películas. Este comportamiento se debe al hecho de que la masa seca resultante de la película aumenta. Estos resultados permiten inferir la existencia de películas con distintas porosidades, las cuales son de interés a la hora de analizar la permeabilidad de la película para diferentes gases.

La opacidad de las películas y su influencia con el contenido de GA o SB se muestran en la **Tabla 3**. Los valores de opacidad obtenidos para cada película son particularmente bajos, lo cual representa una notable transparencia de los mismos. Sin embargo, hay que destacar que tanto el aumento de GA como el de SB aumenta dicha transparencia.

Tabla 3. Valores de opacidad de diferentes películas

GA (% p/p)	SB (% p/p)	Opacidad (UA/ μ m)
0,5	2,5	0,138
1	2,5	0,055
1	7,5	0,026

Con el objetivo de optimizar la formulación de la mezcla reactiva de las películas compuestas de QS con las mejores propiedades antioxidantes, se realizó el diseño experimental para las condiciones que se mencionaron en la sección de Materiales y métodos. La **Tabla 4**, muestra los resultados de las variables respuesta para cada uno de los ensayos realizados.

Tabla 4. Ensayos y resultados experimentales para los análisis de TPC, DPPH y CUPRAC

Ensayo	Variables		Respuestas		
	X ₁	X ₂	Y ₁	Y ₂	Y ₃
	GA (%p/p)	SB (%p/p)	TPC (mg GA/mg película)	TEAC en DPPH (mg TR/mg película)	TEAC en CUPRAC (mg TR/mg película)
1	0	0	$1,6 \cdot 10^{-2}$	$2,7 \cdot 10^{-6}$	$1,6 \cdot 10^{-3}$
2	0	0	$1,6 \cdot 10^{-2}$	$2,5 \cdot 10^{-6}$	$2,8 \cdot 10^{-3}$
3	0	0	$1,5 \cdot 10^{-2}$	$2,3 \cdot 10^{-6}$	$1,2 \cdot 10^{-3}$
4	0	-10	$1,9 \cdot 10^{-2}$	$3,1 \cdot 10^{-6}$	$4,8 \cdot 10^{-3}$
5	0	10	$1,2 \cdot 10^{-2}$	$2,8 \cdot 10^{-6}$	$3,8 \cdot 10^{-3}$
6	0,866	-0,5	$1,7 \cdot 10^{-2}$	$3,5 \cdot 10^{-6}$	$3,5 \cdot 10^{-3}$
7	-0,866	-0,5	$1,4 \cdot 10^{-2}$	$3,1 \cdot 10^{-6}$	$7,5 \cdot 10^{-4}$
8	0,866	0,5	$1,6 \cdot 10^{-2}$	$2,4 \cdot 10^{-6}$	$1,0 \cdot 10^{-3}$
9	-0,866	0,5	$1,1 \cdot 10^{-2}$	$3,6 \cdot 10^{-6}$	$3,0 \cdot 10^{-4}$

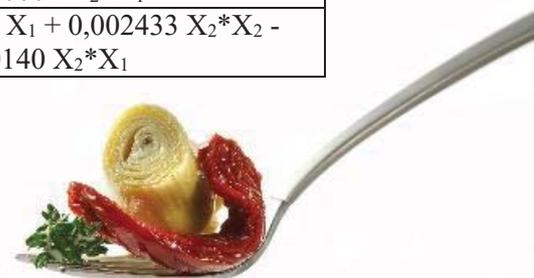
180

Los resultados experimentales fueron utilizados para obtener los modelos de regresión. El análisis estadístico fue llevado a cabo utilizando Minitab Statical Software (v 17, USA).

El análisis estadístico, demostró una buena correlación entre las variables independientes y cada una de las respuestas, el cual se observa en la **Tabla 5**.

Tabla 5. Ecuaciones de regresión y coeficientes de correlación para cada una de las variables respuesta

Respuesta	R ²	Ecuación de Regresión
Y ₁	0,9557	$0,015667 - 0,003000 X_2 + 0,002667 X_1 - 0,000167 X_2 * X_2 - 0,00200 X_1 * X_1 + 0,00133 X_2 * X_1$
Y ₂	0,9457	$0,000002 - 0,000000 X_2 - 0,000000 X_1 + 0,000000 X_2 * X_2 + 0,000001 X_1 * X_1 - 0,000001 X_2 * X_1$
Y ₃	0,9007	$0,001867 - 0,000817 X_2 + 0,001167 X_1 + 0,002433 X_2 * X_2 - 0,001956 X_1 * X_1 - 0,00140 X_2 * X_1$



Las superficies de respuesta para cada una de las variables en función del contenido de GA y SB se muestran en la **Figura 4**.

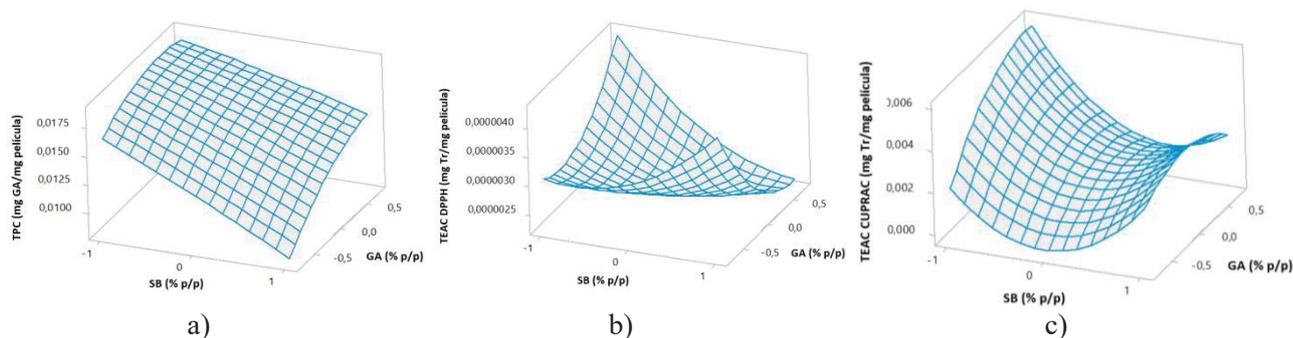


Figura 4. Superficies de respuestas para a) TPC, b) TEAC a partir del ensayo de DPPH, c) TEAC a partir del ensayo de CUPRAC en función del contenido de GA y SB.

Los valores óptimos de preparación de la película, fueron obtenidos del análisis de los gráficos y de sucesivas optimizaciones numéricas utilizando el software mencionado anteriormente. Con una deseabilidad del 98%, se determinó que la película que maximiza los valores de TPC, TEAC a partir de DPPH y TEAC a partir de CUPRAC es aquella conformada por de 0,88% p/p de GA y 0% de SB. Para corroborar la aplicabilidad del modelo, se prepararon tres películas en la formulación óptima, y se le realizaron los ensayos correspondientes. La **Tabla 6** muestra un comparativo entre los valores predichos por el modelo y los valores determinados experimentalmente junto con el desvío estándar de un total de tres mediciones.

Tabla 6. Valores predichos y experimentales para una película con 0,88% p/p de GA y 0% p/p de SB.

Valores	X1 [%p/p]	X2 [%p/p]	Y1 [mg GA/mg película]	Y2 [mg TR/mg película]	Y3 [mg TR/mg película]
Predichos	0	0,88	$1,9 \cdot 10^{-2}$	$3,7 \cdot 10^{-6}$	$5,9 \cdot 10^{-3}$
Experimentales	0	0,88	$1,9 \cdot 10^{-2} \pm 0,1 \cdot 10^{-2}$	$1,7 \cdot 10^{-6} \pm 0,1 \cdot 10^{-6}$	$5,9 \cdot 10^{-3} \pm 0,6 \cdot 10^{-3}$

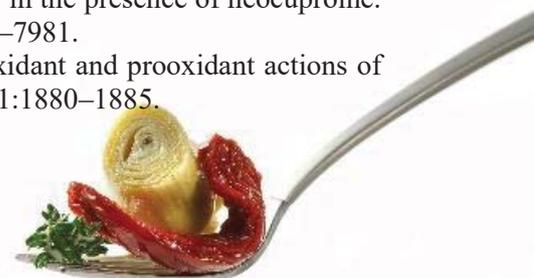
A partir de los datos reportados en la **Tabla 6**, se puede observar un correcto ajuste entre el modelo y los datos experimentales.

CONCLUSIONES

Los resultados sugieren que una variación en la concentración de GA en la mezcla de reacción conduce a un efecto directo sobre la actividad antioxidante de la película, encontrando un máximo en la misma cuando este valor es de 0,88% p/p. Con respecto al agregado de SB, si bien el valor óptimo es en 0% p/p, hay que tener en cuenta que en el presente trabajo no se puso en investigación las propiedades mecánicas de las películas, en las cuales el agregado de SB debería actuar de manera determinante. El modelo Doehler de dos factores aplicado ajusta significativamente con el desarrollo experimental. Hasta el momento los parámetros estudiados han resultado prometedores para alcanzar películas con propiedades deseables para una futura aplicación como material para envoltorio de alimentos.

BIBLIOGRAFÍA

- Apak R., Güçlü K, Ozyürek M, Karademir SE. 2004. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26):7970–7981.
- Aruoma OI, Murcia A, Butler J, Halliwell B. 1993. Evaluation of the antioxidant and prooxidant actions of gallic acid and its derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41:1880–1885.



- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181:1199-1200.
- Chanwitheesuk A, Teerawutgulrag A, Kilburn JD, Rakariyatham N. 2007. Antimicrobial gallic acid from *Caesalpinia mimosoides* Lamk. *Food Chemistry*, 100:1044–1048.
- Day BPF, Potter L. 2011. En: Coles R, Kirwan MJ. *Food and Beverage Packaging Technology*. 2° ed. Hoboken: John Wiley & Sons. Pág. 251-262.
- Doehlert DH. 1970. Uniform Shell Designs. *Journal of the Royal Statistical Society: Applied Statistics*, 19(3):231-239.
- Gonzalez A, Alvarez Igarzabal CI. 2013. Soy protein – Poly (lactic acid) bilayer films as biodegradable material for active food packaging. *Food Hydrocolloids*, 33:289-296.
- Morris BA. 2017. Introduction. En: Morris BA. *The Science and Technology of Flexible Packaging*. 1° ed. Oxford: William Andrew Publishing. Pág: 3-21.
- Pillai CKS, Paul W, Sharma CP. 2009. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in Polymer Science*, 34(7):641–678.
- Rinaudo M. 2006. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31(7):603–632.
- Siripatrawan U, Harte BR. 2010. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids*, 24(8):770–775.
- Vermeiren L, Devlieghere F, van Beest M, Kruijf N, Devere J. 2000. Development in the active packaging of foods. *The Journal of Food Technology in Africa*, 5(1):6-13.
- Xie M, Hu B, Wang Y, Zeng X. 2014. Grafting of Gallic Acid onto Chitosan Enhances Antioxidant Activities and Alters Rheological Properties of the Copolymer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62:9128–9136.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a CONICET, Universidad Tecnológica Nacional (PID 3486 and PID 3458), SeCyT Universidad Nacional de Córdoba, y Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica por la ayuda económica recibida.

