



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias Agropecuarias
Área Académica de Ingeniería Agroindustrial

Propiedades mecánicas y de transferencia de masa de películas comestibles elaboradas con polisacáridos pécticos de xoconostle (*Opuntia* sp.), gelana y cera de candelilla.

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Que para obtener el título de:

INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:

Pasante en Ingeniería en Alimentos

Mayra Alejandra López Ortega

Dirección: Dra. Adriana I. Rodríguez Hernández, ICAp, UAEH

Codirección: Dr. Norberto Chavarría Hernández, ICAp, UAEH

Tulancingo de Bravo, Hidalgo. Junio 2011.

El presente trabajo se realizó en los laboratorios de Físicoquímica, Análisis Especiales y Biotecnología del Instituto de Ciencias Agropecuarias (ICAp) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH). Las propiedades mecánicas se determinaron en el Laboratorio de Reología y Propiedades Mecánicas de Materiales del Depto. de Alimentos y Biotecnología de la Facultad de Química de la UNAM. La dirección de este trabajo estuvo a cargo de la Dra. Adriana Inés Rodríguez Hernández y del Dr. Norberto Chavarría Hernández. El trabajo forma parte de las actividades del proyecto: "Producción de biopelículas inocuas a base de pectinas extraídas de la cáscara de tuna (*Opuntia* spp.) Para la conservación de alimentos", FOMIX - CONACYT-Gobierno del Estado de Hidalgo-2008, Clave 98184.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, que fue la institución que permitió me formara profesionalmente; también mi agradecimiento al Instituto de Ciencias Agropecuarias y a su profesorado de calidad que me formaron no solo profesionalmente sino también como persona. Al Centro de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de los Alimentos UAEH-ICAp donde realicé el trabajo experimental para este trabajo de investigación.

Agradezco a Fondos Mixtos-Hidalgo, CONACYT la beca otorgada para la realización de este trabajo de investigación, dentro del proyecto Producción de biopelículas inocuas a base de pectinas extraídas de la cáscara de tuna (*Opuntia spp.*) para la conservación de alimentos. Clave 98184.

Quiero externar mi agradecimiento a la Dra. Adriana Inés Rodríguez Hernández quien me permitió formar parte de su proyecto y además confió en mí para la realización del mismo; también agradezco su inquebrantable paciencia, comprensión, sus enseñanzas, su apoyo y tiempo brindado a este trabajo de investigación, por compartirme sus conocimientos y sobre todo por ser mi guía y un ejemplo a seguir.

Al Dr. Norberto Chavarría Hernández igualmente por el tiempo dedicado a este trabajo, además agradezco su paciencia, apoyo, igualmente por compartir conmigo sus conocimientos y por su valiosa orientación.

Al Dr. Alberto Tecante Coronel de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por el acceso al equipo de medición de propiedades mecánicas; así como a la Maestra en Ingeniería Ixchel Gijón Arreortúa, por el apoyo brindado en estas pruebas.

Agradezco también a la Dra. Aurora Quintero Lira, al Maestro en Alimentos Jesús Franco Fernández y al Dr. Apolonio Vargas Torres, por el tiempo dedicado para realizar las observaciones al documento escrito, que permitieron el mejoramiento y enriquecimiento de este trabajo de investigación.

Dedicatorias

Son muchas las personas especiales a las que me gustaría agradecer su amistad, apoyo, ánimo, cariño y compañía en las diferentes etapas de mi vida. Algunas están aún conmigo y otras en mis recuerdos y en mi corazón. Quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado, mil gracias.

Con todo mi amor y cariño a mi esposo Eduardo, primero por permitirme compartir contigo este momento de felicidad y juntos recorrer este camino, aprendiendo las cosas que nos forman como pareja pero sobre todo como personas; por formar parte de mi vida, gracias por tu amor, por ser como eres conmigo, por tu apoyo en todo momento, por haber sido mi sostén en los momentos difíciles, porque siempre serás un ejemplo a seguir, además por tus enormes sentimientos, gracias por creer en mí y siempre motivarme a salir adelante y porque sé que me has dedicado, sin dudar, lo mejor tu persona. También agradezco tu comprensión para que yo desarrolle mis ideales profesionales.

Agradezco a mi abue Adelina sabiendo bien que nunca tendré cómo retribuirte todo lo que has hecho por mí y que me faltarían palabras para describir lo que mereces; por tus consejos que han sido de gran ayuda en mi vida, por tu cariño, por tu confianza, por ser ese brazo fuerte cuando me sentía débil, y ser mi luz en los días nublados. Esta tesis es el resultado de lo que me has enseñado, ya que siempre has sido una persona honesta, entregada a todo lo que haces y más que eso, porque eres una persona que siempre ha podido salir adelante. GRACIAS por llevarme en tus oraciones. También a los integrantes de la familia Ortega Cervantes, especialmente a mis tíos Orlan y Ross, por su apoyo.

Mi más sincera gratitud a mis suegros, Alejandra y Evaristo, y a mi cuñada Ana por brindarme su casa, confianza, apoyo y porque siempre me han hecho sentir su cariño. Suegra mil veces gracias porque siempre me ha visto como a una hija, por su cariño y amor demostrado siempre, porque sé que no tengo las palabras para agradecer todo lo que ha hecho por mí, la quiero mucho. A toda la familia Islas Cervantes por ser parte de mi vida y mostrarme siempre sus buenos sentimientos.

Índice General

Índice General	i
Índice de Figuras	iv
Índice de Cuadros	v
Nomenclatura	vii
Simbología griega	viii
Resumen	ix

Capítulo 1

1. INTRODUCCIÓN	1
------------------------------	---

Capítulo 2

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Películas y recubrimientos comestibles.....	5
2.2. Materiales usados para la formulación de películas comestible.....	12
2.2.1. Polisacáridos	14
2.2.1.1. Pectinas.....	15
2.2.1.2. Gelana	16
2.2.2. Plastificantes	18
2.2.3. Aditivos.....	19
2.2.4. Agentes humectantes y emulsificantes	20
2.3. Recubrimientos comestibles hidrofóbicos	20
2.3.1. Ceras comestibles	24
2.3.2. Cera de candelilla.....	25
2.4. Propiedades de barrera de recubrimientos y películas comestibles con lípidos.....	29
2.4.1. Efecto de la estructura de las películas en las propiedades de barrera	29
2.4.2. Efecto del grosor de la película	31
2.4.3. Efecto del gradiente de humedad.....	31
2.4.4. Efecto de la temperatura	32
2.5. Propiedades mecánicas de películas elaboradas con polisacáridos y lípidos.....	32
2.6. Xoconostle	34

Capítulo 3

3.HIPOTESIS, OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN

3.1. Hipótesis	36
3.2. Objetivos	36
3.2.1. Objetivo General.....	36
3.2.2. Objetivos específicos.....	37
3.3. Justificación	37

Capítulo 4

4.MATERIALES Y METODOLOGÍA

4.1. Materiales	39
4.2. Extracción de polisacárido péctico de la cáscara de xocnostle.....	40
4.3. Elaboración de películas biopoliméricas	41
4.4. Evaluación de propiedades mecánicas.....	43
4.5. Evaluación de las propiedades de transferencia de masa	45
4.5.1. Permeabilidad al vapor de agua	45
4.5.2. Permeabilidad al oxígeno	46
4.6. Análisis estadístico	48

Capítulo 5

5.RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1. Propiedades mecánicas.....	49
5.2. Evaluación de las propiedades de transferencia de masa	56
5.2.1. Permeabilidad al vapor de agua	56
5.2.2. Permeabilidad al oxígeno	61

Capítulo 6

6.CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES PARA FUTURAS INVESTIGACIONES

6.1. Conclusiones	63
6.2. Recomendaciones para futuras investigaciones.....	64

Capítulo 7

7. ANEXOS

ANEXO I Permeabilidad al vapor de agua.....	65
ANEXO II Permeabilidad al oxígeno.....	70

Capítulo 8

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76
-------------------------------------	----

Índice de Figuras

Figura 1	Transferencias que pueden ser potencialmente controladas por barreras comestibles.....	7
Figura 2	Posibles estructuras de películas compuestas a base de lípidos.....	24
Figura 3	Diferentes presentaciones de la cera de candelilla en el mercado	28
Figura 4	Corte longitudinal de los frutos de xoconostle usados en este estudio.....	39
Figura 5	Proceso de extracción fraccionada de polisacáridos pécticos en tanque agitado	40
Figura 6	Recuperación del polisacárido péctico de xoconostle del medio de extracción a) precipitación con etanol, b) polisacárido recuperado, c) lavado con etanol	41
Figura 7	a) Polisacárido péctico húmedo de cáscara de xoconostle y b) Polisacárido péctico seco de cáscara de xoconostle	41
Figura 8	Desmolde de películas elaboradas con polisacárido péctico de xoconostle, gelana, glicerol y cera de candelilla.....	42
Figura 9	Sistema usado para la determinación de la permeabilidad al vapor de agua en las películas.....	46
Figura 10	Películas ensambladas en frascos con agente absorbente, y colocadas en cámara ambiental para la determinación de la permeabilidad al vapor de agua por el método gravimétrico.....	46
Figura 11	(a) Recirculador con control de temperatura y bomba de vacío acoplados (b) Equipo de permeabilidad VAC-2 Labthink. (c) Cámara de permeabilidad del equipo VAC-2 con una película instalada previo a su determinación de permeabilidad (Terrazas-Hernández, 2011).....	47
Figura 12	Cortador de películas (Labthink, China)	47
Figura 13	Diagrama de las celdas de medición usadas para determinar PVA en películas.....	65

Figura 14	Celdas de medición con películas durante las pruebas de PVA.....	66
Figura 15	Ejemplo de gráfico de ganancia de peso en función del tiempo en las celdas de medición de PVA en las películas.....	66
Figura 16	Esquema del funcionamiento del equipo Medidor de Permeabilidad de Gas, VAC 2.....	70
Figura 17	Datos experimentales de presión detectada en la cámara de baja presión a lo largo del tiempo en pruebas de permeabilidad al oxígeno en muestras de películas T2 (réplica 3).	72

Índice de Cuadros

Cuadro 1	Requisitos y ventajas de las películas comestibles (Guilbert <i>et al.</i> , 2006)	9
Cuadro 2	Polisacáridos, proteínas, lípidos y derivados usados para formar películas comestibles (Bourlieu <i>et al.</i> , 2008).....	13
Cuadro 3	Sustancias hidrofóbicas usadas como compuestos de barrera en películas o recubrimientos comestibles (Debeaufort y Voilley, 2009)	21
Cuadro 4	Composición típica de la cera de candelilla (Candelilla.org, 2004)	27
Cuadro 5	Propiedades fisicoquímicas de la cera de candelilla (Candelilla.org, 2004)	27
Cuadro 6	Formulación de los distintos tratamientos evaluados en este trabajo (% p/p).....	42
Cuadro 7	Propiedades mecánicas de películas elaboradas con polisacárido péctico de xoconostle (0.4%), gelana (0.5%), glicerol (1%) y cera de candelilla en distintas concentraciones. Valores promedio \pm desviación estándar (n=5). Tensión uniaxial ($v = 150$ mm/min)	50
Cuadro 8	Propiedades mecánicas de algunas películas biopoliméricas con ceras naturales y/o ácidos grasos en su composición	53

Cuadro 9	Permeabilidad de películas elaboradas a partir de polisacárido péctico de xoconostle (0.4%), gelana (0.5%), glicerol (1%) y cera de candelilla en distintas concentraciones. Valores promedio \pm desviación estándar.....	56
Cuadro 10	Permeabilidad al vapor de agua y al oxígeno de algunas películas biopoliméricas	58
Cuadro 11	Permeabilidad al oxígeno de películas comerciales alimentarias. Determinaciones realizadas a 25 °C en el equipo de permeabilidad a gases VAC 2 (Labthink®, China).....	62
Cuadro 12	Datos experimentales en la prueba de permeabilidad al oxígeno para las películas T2 ¹	71

Nomenclatura

A	Área de transferencia	(m ²)
AO	Ácido oleico	
ACa	Caseína ácida	
A(t)	Área en el tiempo t	(m ²)
A _o	Área inicial de la sección transversal	(m ²)
a _w	Actividad de agua	(-)
Bs	Base seca	
Bh	Base húmeda	
C	Concentración	(g/m ³)
CA	Cera de abeja	
CaCas	Caseinato de calcio	
CC	Cera de candelilla	
Cn	Cera de carnauba	
D _{O₂P}	Difusividad de oxígeno a través de una película	(m ² /s)
D _{H₂O}	Difusividad de agua gaseosa a través de aire estancado	(m ² /s)
D _{H₂O,P}	Difusividad de agua gaseosa a través de una película	(m ² /s)
EDTA	Sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético	
E	Elongación	(%)
EM	Módulo de Young	(MPa)
F	Fuerza	(N)
F(t)	Fuerza en el tiempo t	(N)
Gel	Gelana	
Gli	Glicerol	
h	Altura de la superficie interna de película al agente absorbente (gel silica)	(m)
L	Altura	(m)
L(t)	Altura o longitud en tiempo t	(m)
L _o	Altura inicial	(m)
HR	Humedad relativa	(%)
mM	Concentración milimolar	
N	Número de moles	(mol)
NaCas	Caseinato de sodio	
N _{O₂}	Flux molar de oxígeno	(mol O ₂ /m ² s)
N _{H₂O}	Flux molar de agua	(mol H ₂ O/m ² s)
p/p	Relación peso/peso	(%)
P _A	Cámara de alta presión	(Pa)
P _{B0}	Cámara de baja presión en tiempo "0"	(Pa)
P _{Bf}	Cámara de baja presión al final del experimento	(Pa)
PO ₂	Permeabilidad al oxígeno	(gmol O ₂ /m s Pa)
PPX	Polisacárido péctico extraído de la cáscara de xoconostle	
P _T	Presión atmosférica de la prueba	(KPa)
P _v	Presión de vapor	(KPa)
PVA	Permeabilidad al vapor de agua	(gmol H ₂ O/m s Pa)

R	Constante de gases ideales	(kPa m ³ /gmol K)
Sor	Sorbitol	
Pw ₃	Presión parcial del vapor de agua en el agente absorbente	(KPa)
T	Tiempo	(s)
V	Velocidad	(m/s)
v/v	Relación volumen/volumen	(%)
v _e	Velocidad de extensión	(mm/min)
V _c	Volumen de la cámara	(m ³)
WPI	Aislado de proteína de suero de leche	

Simbología griega

ΔL	Cambio en la longitud	(m)
Δx	Espesor de la película	(mm)
ϵ_c	Deformación de Cauchy	(-)
ϵ_H	Deformación de Hencky	(-)
ϵ	Deformación ingenieril	(-)
Σ	Esfuerzo	(Pa)
σ_f	Esfuerzo a la fractura	(Pa)
σ_v	Esfuerzo verdadero	(Pa)

Resumen

El desarrollo de bioplásticos o materiales a base de biopolímeros, que puedan sustituir al menos parcialmente a los plásticos sintéticos, es un tópico de interés científico, tecnológico y social. En la industria de alimentos es necesario continuar investigaciones que conlleven al diseño de materiales que ofrezcan propiedades mecánicas competitivas con los plásticos sintéticos y adicionalmente cumplan la función de actuar como barrera a la transferencia de solutos entre el alimento y su ambiente circundante. Las propiedades mecánicas y de barrera (a la humedad y a gases) de estas películas dependen de sus componentes estructurales. Aquéllas elaboradas a partir de polisacáridos presentan propiedades de barrera a gases, pero poca resistencia a la transferencia de humedad debido a su naturaleza hidrofílica. La inclusión de agentes hidrofóbicos como ácidos grasos y ceras se ha evaluado como una opción para mejorar esas propiedades. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue caracterizar las propiedades mecánicas, de permeabilidad al vapor de agua (PVA) y de permeabilidad al oxígeno (PO_2) de películas compuestas por mezclas de polisacáridos estructurales de la cáscara de xoconostle (PPX), gelana desacilada (Gel), glicerol (Gli), Tween 80 y cera de candelilla (CC), para su potencial aplicación como bioempaques alimentarios.

Se elaboraron películas de PPX (0.2% p/p), Gel (0.5% p/p), glicerol (1% p/p), Tween 80 (1%) y CC (0, 0.1, 0.3, 0.5% p/p). Las dispersiones se emulsificaron a 24000 rpm usando un homogenizador de alta cizalla (Polytron PT 2100, Kinematica) y calentando la mezcla hasta 75 ± 2 °C. La cera se adicionó fundida y mezclada con el Tween 80. Para promover la gelificación de los polisacáridos, se adicionó al finalizar la emulsificación, el volumen correspondiente de una solución de $CaCl_2$ 60 mM para obtener una concentración final en la mezcla de 5 mM $CaCl_2$. Las emulsiones se vaciaron en placas de vidrio y se secaron a 45 °C durante 24 h. Las películas se acondicionaron a 22 ± 2 °C y $54 \pm 2\%$ de humedad relativa (HR) en un desecador con una solución saturada de $MgN_2O_6 \cdot 6H_2O$ durante 48 h, previo a la evaluación de sus propiedades mecánicas y de

transferencia de masa. Para la determinación de PVA se siguió la metodología estándar (ASTM E96-00), usando un gradiente de humedad de 75%. La PO_2 se determinó en un equipo de permeabilidad (VAC 2, Labthink) que opera bajo el principio manométrico ASTM D 1434, usando oxígeno puro (99.999%) como gas permeante. Con los datos de flux de vapor de agua u oxígeno se obtuvieron los valores de difusividad y permeabilidad de las películas. Las propiedades mecánicas de las películas se evaluaron en una máquina de pruebas mecánicas SINTECH 1/S (MTS, USA) de acuerdo al método estándar de la ASTM D882-91 (ASTM D882, 2003). Se evaluó el esfuerzo a la fractura (σ_f), módulo de Young (EM) y deformabilidad (E).

La inclusión de cera de candelilla en las películas disminuyó significativamente ($p < 0.05$) el esfuerzo a la fractura ($\sigma_f = 8.6$ a 6.1 MPa) de las películas con relación al tratamiento testigo (12.2 MPa). No se presentó efecto significativo de la concentración de CC en este parámetro. La presencia de CC en cantidades del 11 al 33% en base seca disminuyó significativamente la rigidez (EM = 100.7 a 78.5 MPa) de las películas sin efecto significativo en su deformabilidad (17.3 a 18.7%). Sin embargo, concentraciones en base seca del 55% CC (0.5%_{bh} CC) generó películas más rígidas (EM = 126.7 MPa), comparables incluso con el tratamiento testigo (129.5 MPa).

Por otro lado, el incremento de CC en las películas no generó cambios significativos en los valores de PVA. Se obtuvieron valores de 42.2 a 46.6×10^{-12} $gmol\ m^{-1}\ s^{-1}\ Pa^{-1}$. Esto se asume que es debido a la complejidad estructural que posiblemente adquieran las películas con partículas sólidas de cera inmersas en una matriz polimérica hidrofílica. Con relación a PO_2 , se observó un incremento de hasta 19 veces el valor de PO_2 del tratamiento testigo por la incorporación de CC en las películas. La disminución de la polaridad de la matriz estructural probablemente facilitó la solubilidad del O_2 , obteniéndose películas más permeables ($4 - 5.8 \times 10^{-15}$ $gmol\ m\ m^{-2}\ s^{-1}\ Pa^{-1}$) que el tratamiento testigo (0.3×10^{-15} $gmol\ m\ m^{-2}\ s^{-1}\ Pa^{-1}$) y con valores en el mismo orden de magnitud a las películas elaboradas con metilcelulosa-lípidos y películas plásticas de polietileno.

Se asume que la cera de candelilla y el PPX tienen un efecto plastificante en las películas. Se generaron películas flexibles, con propiedades mecánicas adecuadas para su uso en productos alimentarios. Sin embargo, es importante mejorar el proceso de emulsificación para generar películas con mejores propiedades de barrera a la humedad. Los valores de PVA son comparables con los obtenidos en otras películas biopoliméricas (proteína de suero-cera de abeja; goma de mezquite-cera de candelilla, caseinatos-cera de abeja), pero aún lejanos a los de películas de plásticos sintéticos. Los valores de PO_2 permiten sugerirlas en productos con baja o media actividad acuosa, siendo una alternativa en la sustitución parcial de los plásticos sintéticos empleados en alimentos.

Capítulo 1

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos lustros, las películas y los recubrimientos comestibles han llamado la atención debido a las ventajas que ofrecen con relación a las películas sintéticas. El concepto de “película comestible” representa un área de investigación estimulante para la ciencia de alimentos, debido a que el área de empaques alimentarios requiere propuestas innovadoras para generar materiales de propiedades de barrera adecuadas para cada tipo de alimento pero sin convertirse en otro medio de contaminación ambiental, como sucede actualmente con los empaques plásticos alimentarios.

Una película comestible se define como una capa delgada de algún material que proporciona una barrera a la humedad y al oxígeno entre el alimento y su entorno, además de poder ser consumida con el alimento sin ningún riesgo para la salud del consumidor. Por otra parte, los recubrimientos comestibles son capas delgadas de un material no tóxico y fácilmente ingerible que se forma directamente sobre un alimento, mientras que las películas son estructuradas preformadas y colocadas posteriormente en el alimento o entre los componentes de éste (Bourlieu *et al.*, 2008). Por lo tanto, la principal ventaja de las películas y recubrimientos comestibles es que pueden ser ingeridas con el alimento empacado. Aún si no son consumidas, estas películas no contaminan el ambiente, puesto que son elaboradas a partir de sustancias poliméricas naturales que se degradan rápidamente, en comparación con los materiales poliméricos sintéticos derivados del petróleo (*vgr.* polietileno, polipropileno, policloruro de vinilo (PVC), poliestireno (unicel)).

Recientemente la organización *Greenpace* reportó efectos dramáticos en la contaminación de los océanos en los últimos 30 a 40 años, como consecuencia de la introducción en las sociedades mundiales de materiales plásticos sintéticos (Allsopp *et al.*, 2007). De acuerdo a esta organización, existen numerosos estudios que han mostrado que los plásticos constituyen entre el 60% y el 80% del total de los desechos en los océanos. Estos materiales proceden principalmente de los envases de alimentos y bebidas que los bañistas a menudo dejan tirados en las playas y costas; y de plásticos ligeros que llegan a los océanos desde las zonas urbanas del interior a través de los sistemas de drenaje pluvial que desembocan en los ríos y en los mares. El plástico no sólo constituye un material de lenta descomposición que puede generar problemas de enmallado de especies marinas por su acumulación en los mares, sino que su ingesta y los productos de su lenta degradación, como bisfenol A (que interfiere en el sistema reproductivo de animales) y monómeros de estireno (cancerígenos), se asocian a problemas serios que ponen en riesgo muchas especies animales, incluyendo al hombre (Barry, 2008).

El desarrollo de bioplásticos o materiales a base de biopolímeros, que puedan sustituir al menos parcialmente a los plásticos sintéticos, ha sido un reto. Es necesario seguir investigaciones que conlleven al diseño de materiales que ofrezcan propiedades mecánicas competitivas con los plásticos sintéticos y adicionalmente cumplan la función de actuar como barrera a la transferencia de solutos entre el alimento y su ambiente circundante. Actualmente, el control de la transferencia de masa, y específicamente la transferencia de humedad, todavía es un reto para mantener la calidad de productos frescos o procesados como frutas, carne y productos marinos. La pérdida de humedad de estos productos afecta sus propiedades físicas, lo cual limita su vida de anaquel. Por otra parte en productos sensibles a la oxidación, una barrera para el oxígeno retrasa las reacciones oxidativas o las evita.

Las propiedades funcionales que ofrecen las películas comestibles dependen de los componentes de los cuales estén elaboradas. De forma general las películas elaboradas a partir de hidrocoloides presentan propiedades de barrera a gases, observándose más permeables al dióxido de carbono que al oxígeno, pero presentan poca resistencia a la transferencia de humedad debido a su naturaleza hidrofílica (Fernández, 2000). En relación con sus propiedades mecánicas, la mayoría de las biopelículas a base de proteínas o polisacáridos presentan propiedades mecánicas aceptables, pero aún pobres en comparación con las películas sintéticas.

Los polisacáridos tienen adecuadas propiedades filmogénicas, las cuales se busca aprovechar para la elaboración de películas comestibles, los más usados son los polímeros de cadena larga entre los que destacan: almidón, celulosas, pectinas, alginatos, gelana, quitosano y carrageninas. Por otro lado, las proteínas presentan buenas propiedades formadoras de películas, y la permeabilidad al vapor de agua de éstas es pobre, pero superior a la presentada por películas a base de polisacáridos. Las proteínas utilizadas tradicionalmente son el colágeno y la gelatina, pero hoy en día existen numerosos trabajos de películas a partir de una gran variedad de proteínas tanto de origen animal como vegetal. Las ventajas y desventajas que presentan cada una de las películas biopoliméricas han llevado a la creación de mezclas o películas compuestas, generando películas biopoliméricas más eficientes. Por ejemplo, las películas a base de polisacáridos y proteínas se han mezclado con lípidos para mejorar sus propiedades de barrera a la humedad (Quezada-Gallo *et al.*, 2000; Bourlieu *et al.*, 2008). La creación de películas hidrofóbicas puede llevarse a cabo a través de laminación –*películas bicapa*– o por emulsificación. Entre los compuestos lipídicos más eficientes para abatir la permeabilidad al vapor de agua de las películas biopoliméricas se encuentran los ácidos grasos y las ceras (Quezada-Gallo *et al.*, 2000; Bourlieu *et al.*, 2008). Entre las ceras naturales que se han evaluado en películas biopoliméricas están la cera de abeja, cera de carnauba y cera de candelilla (Debeaufort y Voilley, 2009.).

La gelana y las pectinas son polisacáridos que se han usado para elaborar películas comestibles debido a su capacidad de formar geles que propician la formación de películas cohesivas (Yang y Paulson, 2000; Maftoonazad *et al.*, 2007; Nieto, 2009). En este trabajo se utiliza el polisacárido péctico extraído de la cáscara del xoconostle (*Opuntia* sp.) variedad manzano, mezclado con gelana como polímeros responsables de la matriz estructural de películas comestibles. La mezcla de ambos polisacáridos, con la inclusión de glicerol como plastificante, tween como emulsificante y cera de candelilla, forma películas con propiedades mecánicas aceptables para ser investigadas como posibles películas de interés en empaques alimentarios. Se considera importante evaluar las propiedades mecánicas y de transferencia de masa de las películas elaboradas con polisacáridos tipo pectina de la cáscara de xoconostle con la finalidad de aprovechar este fruto que crece en climas áridos y semiáridos de nuestro país, muchas veces de forma silvestre, lo cual coadyuvaría a valorar este fruto poco industrializado. Por otra parte, la cera de candelilla es un cultivo que se ha convertido en una de las principales actividades económicas en el Desierto de Chihuahua (Instituto de la Candelilla, 2010), por lo que se considera necesario apoyar la diversificación del uso de este producto mexicano en el sector alimentario.

Capítulo 2

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Películas y recubrimientos comestibles

La calidad de los productos alimenticios depende de las propiedades organolépticas, nutricionales y microbiológicas de éstos; las cuales están sujetas a cambios dinámicos durante el almacenamiento y distribución de los mismos. Estos cambios se originan principalmente por dos razones: por las interacciones entre los alimentos y su medio ambiente y/o debido a la migración de sus componentes (Debeaufort y Voilley, 2009).

El uso intensivo de materiales sintéticos (plásticos no biodegradables) como constituyentes de empaques de alimentos, ha producido a nivel mundial un problema serio tras la acumulación de residuos sólidos. Buscando reducir el impacto en la contaminación ambiental que esto genera, se han sugerido alternativas viables, entre las cuales está el desarrollo de materiales de empaques alimentarios elaborados a partir de compuestos comestibles, reciclables y/o biodegradables. Entre éstos se encuentran los denominados “películas o recubrimientos comestibles”, los cuales permiten minimizar el impacto ambiental, así como ser una opción innovadora para proteger y conservar alimentos.

El desarrollo de películas comestibles y/o biodegradables, no está diseñado con el propósito de reemplazar completamente a los materiales de empaque sintéticos, sino busca una acción conjunta. El desarrollo de películas biodegradables con propiedades mecánicas similares a las de los plásticos sintéticos es todavía un reto.

Además de los problemas ambientales asociados al uso de plásticos sintéticos como material de empaque, se han reportado problemas de salud o alteraciones al organismo humano, debido a la exposición de diversos componentes de empaques plásticos (ejem. algunos monómeros residuales, estabilizantes, plastificantes y los componentes de la condensación) que pueden migrar a los alimentos (Dangaran *et al.*, 2009). Por otra parte, los bioplásticos son actualmente mucho más costosos que la mayoría de los polímeros derivados del petróleo, por lo que la sustitución de estos últimos probablemente resulte en el aumento de los costos de envasado. El celofán, una película biodegradable derivada de la celulosa, se inventó hace mucho tiempo (*circa* 1908), pero realmente no ha competido con los plásticos sintéticos. Algunos aspectos de películas biopoliméricas que aún requieren de mayor investigación son las capacidades de sellado al calor y a la impresión (Nieto, 2009).

Según Pavlath y Orts (2009) las películas y recubrimientos comestibles, tales como la cera, se han utilizado en diversas frutas durante siglos para evitar la pérdida de humedad y para crear una superficie brillante con fines estéticos. En la mayoría de los casos, el término de película y recubrimiento se utilizan indistintamente para indicar que la superficie de un alimento está cubierta por una capa relativamente delgada de material de composición determinada. Sin embargo, el término “película” se diferencia ocasionalmente de “recubrimiento” por la idea de que el primero es un material independiente de envasado, mientras que un recubrimiento se aplica y se forma directamente en la superficie de los alimentos.

Una película comestible se define como una capa delgada de algún material que proporciona una barrera a la humedad y al oxígeno entre el alimento y su entorno, además de poder ser consumida con el alimento sin ningún riesgo para la salud del consumidor (Bourlieu *et al.*, 2008). Éstas están localizadas en la superficie del alimento o como una capa entre los diferentes compuestos del alimento, que provee protección a la transferencia y al estrés mecánico, tal como se describe en

la Figura 1 (Debeaufort y Voilley, 2009). Dichas películas son elaboradas a partir de sustancias poliméricas naturales que se pueden consumir sin ningún riesgo y que en ocasiones pueden llegar a aportar algunos nutrientes. Por otra parte, los recubrimientos comestibles son capas delgadas de un material no tóxico y fácilmente ingerible que se forma directamente sobre un alimento, estos materiales son aplicados en forma líquida sobre el alimento por inmersión, aspersion o goteo; mientras que las películas son estructuradas preformadas y colocadas posteriormente en el alimento o entre los componentes del alimento (Bourlieu *et al.*, 2008).

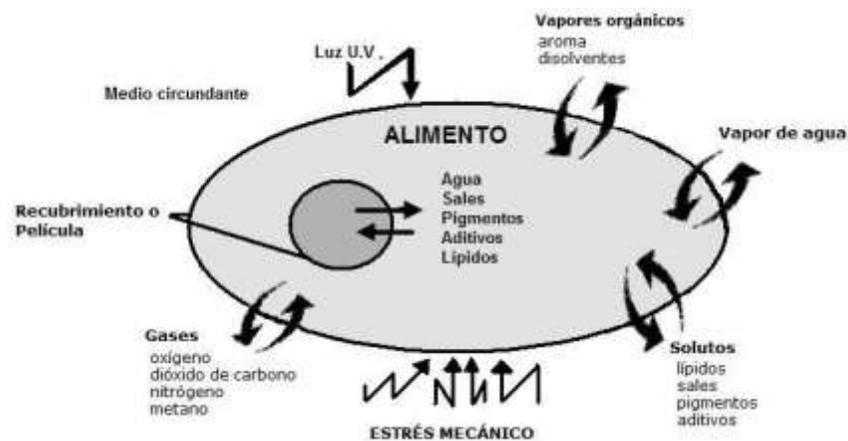


Figura 1. Transferencias que pueden ser potencialmente controladas por barreras comestibles (modificado de Debeaufort *et al.*, 1998).

Las películas comestibles pueden ser el reemplazo y/o fortalecimiento de las capas naturales de alimentos para evitar pérdidas de humedad, además de permitir de manera selectiva el intercambio de gases importantes como el oxígeno, el dióxido de carbono y el etileno, que están involucrados en los procesos de la respiración. Una película o recubrimiento también puede proporcionar esterilidad a la superficie y evitar la pérdida de otros componentes importantes. En general, su espesor es inferior a 0.3 mm (Pavlath y Orts, 2009).

En los últimos 20 años han sido patentados alrededor de 45 tipos de empaques comestibles. Sólo durante el 2006, se publicaron 174 artículos científicos enfocados a empaques comestibles. Muchos de estos trabajos abordaron la transferencia del vapor de agua en empaques comestibles. Sin embargo, existen otras aplicaciones potenciales. Por ejemplo, un recubrimiento puede ser usado para encapsular compuestos de aroma y sabor, antioxidantes, agentes antimicrobianos, pigmentos, iones que previenen reacciones de oscurecimiento, o sustancias nutritivas como las vitaminas (Pavlath y Orts, 2009).

La mayoría de alimentos que se consumen provienen directamente de la naturaleza, donde muchos de ellos pueden ser consumidos inmediatamente. Sin embargo, con el incremento en el sistema de transporte, almacenamiento y el abastecimiento los supermercados cada vez más grandes; los alimentos no se consumen sólo en el huerto, en el campo, en la casa, o cerca de instalaciones de procesamiento. Durante los pasos que se requieren en la manipulación, el almacenamiento y el transporte; los productos alimenticios comienzan a deshidratarse, se deterioran, pierden la apariencia, sabor y su valor nutritivo se afecta. Si no se provee de una protección especial, pueden ocurrir daños en horas o días, incluso si el daño no es visible inmediatamente (Pavlath y Orts, 2009).

Las películas y recubrimientos comestibles han atraído la atención de numerosos investigadores, lo que ha llevado a que hoy en día exista una gran diversidad de trabajos sobre el desarrollo, tecnología de elaboración, formulación, caracterización y sus posibles aplicaciones. Para que las películas comestibles puedan ser aplicadas como empaques en alimentos deben cumplir algunos requisitos (Cuadro 1). De forma general las sustancias que se utilicen para la formación de las películas deben ser insípidas, o tener el menor sabor como sea posible y si presentan un sabor particular éste debe ser compatible con el alimento (Guilbert *et al.*, 2006).

Cuadro 1. Requisitos y ventajas de las películas comestibles (Guilbert *et al.*, 2006).

VENTAJAS	CONDICIONES REQUERIDAS
Consumo directo con el producto Materiales poco costosos	Palatabilidad Propiedades sensoriales compatibles con la naturaleza del alimento
Posibilidad de embalaje individual de pequeños trozos	Buenas propiedades mecánicas y de barrera
Posibilidad de empleo en el interior del alimento, por ejemplo, entre distintos componentes de un alimento heterogéneo o de una mezcla	Estabilidad fisicoquímica, bioquímica y microbiana suficiente
Reducción o suspensión del embalaje no comestible	Tecnología simple
Disminución de la contaminación medio ambiental	Ausencia de toxicidad
Mejora de las propiedades mecánicas, sensoriales, nutricionales y de conservación:	Composición acorde con la reglamentación relativa a la aplicación alimentaria.
Retardo de la transferencia de agua, gases, grasas y solutos. Disminución de las pérdidas de sustancias volátiles (aromas).	Termoestable y/o buena adhesión a la superficie del alimento.
Mejora la cohesión, conservación de la integridad del alimento; manipulación fácil.	Funcional en las condiciones de empleo. Sin contaminantes.
Protección frente a contaminantes microbianos u otros, y frente a agentes externos (H ₂ O, O ₂ , etc.).	
Agentes de soporte y control de la retención de aditivos (aromas, colorantes, antioxidantes, antimicrobianos).	

De acuerdo con Lin y Zhao (2007), a pesar de importantes beneficios del uso de recubrimientos comestibles para extender la vida útil de productos alimenticios, y la mejora de la calidad y la seguridad microbiológica de las frutas frescas y verduras mínimamente procesadas; las aplicaciones comerciales siguen siendo muy limitadas. Se requiere continuar las investigaciones tendientes a mejorar las propiedades mecánicas y de barrera; entre algunos retos que se han sugerido están la creación de nanocompuestos, la incorporación de lípidos al polímero de la matriz o la formación de nanolaminados, para que las películas biopoliméricas

puedan ser utilizadas más extensamente como películas comestibles y/o materiales de revestimiento.

La función más importante de las películas comestibles es el control del contenido de humedad y de la actividad de agua (a_w) de los alimentos mediante la reducción del intercambio (pérdida o ganancia) de humedad entre el alimento y el medio circundante, evitando grandes cambios, los cuales pueden afectar el color y textura de los alimentos. La naturaleza de la película o recubrimiento es de gran importancia ya que a una mayor hidrofiliidad del material con el que es elaborada la película, mayor será su permeabilidad al vapor de agua y menor será el control de humedad, por el contrario si el material utilizado es más hidrofóbico se presentan mejores propiedades de barrera ante la migración de humedad (Bourlieu *et al.*, 2008).

Las propiedades funcionales que ofrecen las películas comestibles dependen de los componentes de los cuales estén elaboradas. Dentro de las cuales se encuentran (Bourlieu *et al.*, 2008):

- Reducir la pérdida de humedad
- Reducir el transporte de gases (CO_2 y O_2)
- Reducir la migración de aceites y grasas
- Reducir el transporte de solutos
- Mejorar las propiedades mecánicas y de manejo de los alimentos
- Proveer integridad estructural a los alimentos
- Retener los componentes volátiles
- Contener aditivos

Los productos que son comestibles o están en contacto con los alimentos, deben ser generalmente reconocidos, por expertos calificados, como seguros en las condiciones de su uso previsto y de conformidad con las prácticas correctas de manufactura, *GRAS* por sus siglas en inglés (*Generally Recommended as Safe*). Estos materiales alimentarios “seguros”, por lo general deben tener la aprobación

de la Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos (FDA por sus siglas en Inglés) (Pavlath y Orts, 2009).

Los requisitos específicos de barrera y las especificaciones de los productos alimenticios determinarán el tipo de empaque a usar para situaciones particulares. Por ejemplo, los productos con altos contenidos de humedad necesitan de capas de compuestos lipídicos para evitar la pérdida de agua; mientras que aquéllos en los que se desea evitar su decoloración u oxidación necesitan barreras al oxígeno (Pavlath y Orts, 2009). La permeabilidad al agua y al oxígeno generalmente son inversamente proporcionales, por lo que muchas películas deberán ser de materiales compuestos con múltiples propiedades (no muy diferente de la protección propia de la madre naturaleza). Una película comestible ideal debe tener las siguientes características (Pavlath y Orts, 2009):

- No debe contener componentes tóxicos, alergénicos ni componentes no digestibles.
- Debe proveer al alimento estabilidad estructural y prevenir su deterioro mecánico durante el transporte, la manipulación y su exhibición.
- Debe tener una buena adhesión en la superficie del alimento para proveerle protección, proporcionando una cobertura uniforme.
- Debe proveer control de la migración de agua dentro y fuera del alimento.
- Debe proporcionar semi-permeabilidad para mantener un equilibrio interno de los gases involucrados en la respiración aeróbica y anaeróbica, lo que retarda la senescencia de productos agrícolas.
- Debe evitar la pérdida o absorción de los componentes que estabilizan el aroma, sabor, valor nutricional y las características organolépticas necesarias del alimento.
- Debe proporcionar estabilidad superficial, bioquímica y microbiológica, y también protección contra la contaminación, infestación de plagas, la proliferación de microbios, y otros tipos de deterioro.
- Debe mantener o mejorar la estética y los atributos sensoriales (aparición, sabor, etc.) del alimento.

- Puede servir como transporte para aditivos que otorgan sabor, aroma, fragancia, coloración, nutrientes y vitaminas; así como para la incorporación de antioxidantes y agentes antimicrobianos que pueden limitarse a la superficie.
- Su fabricación debe ser rápida y económica.

2.2 Materiales usados para la formulación de películas comestibles

Las películas biodegradables comestibles son elaboradas a partir de sustancias de origen natural, usualmente productos botánicos, proteínas de origen animal, biopolímeros microbianos y minerales (Cuadro 2); que pueden llegar a transformarse en compuestos de menor complejidad (CO_2 , H_2O y sales minerales) mediante una despolimerización o un proceso de degradación. Las propiedades de las películas comestibles dependen del tipo de componente que las constituyen (McHugh y Krochta, 1994).

De forma general, las películas que son elaboradas a partir de proteínas o polisacáridos, presentan buenas propiedades de barrera a gases y lípidos, observándose más permeables al dióxido de carbono que al oxígeno. Sin embargo, presentan poca resistencia a la transferencia al vapor de agua debido a su naturaleza hidrofílica. Por otra parte, la mayoría de las películas a base de proteínas y polisacáridos presentan propiedades mecánicas suficientes (Fernández, 2000).

Por otro lado, las proteínas presentan buenas propiedades formadoras de películas, y la permeabilidad al vapor de agua de éstas es pobre, pero superior a la presentada por películas a base de polisacáridos. Las proteínas utilizadas tradicionalmente son el colágeno y la gelatina, pero hoy en día existen numerosos trabajos de películas a partir de una gran variedad de proteínas tanto de origen animal como vegetal ya que se pueden obtener con relativa facilidad, además de

que algunas confieren un valor agregado a las películas, como ejemplo están las caseínas de la leche que además de tener buenas propiedades mecánicas tienen un excelente valor nutricional (McHugh y Krochta, 1994).

Cuadro 2. Polisacáridos, proteínas, lípidos y derivados usados para formar películas comestibles (Bourlieu *et al.*, 2008).

ORIGEN	POLISACÁRIDOS	PROTEÍNAS	LÍPIDOS
Botánico	<p>Celulosa y derivados,</p> <p>Almidones y derivados (fraccionada: amilosa, amilopectina, modificada: propiladas, acetiladas, almidones hidrolizados: dextrina, maltodextrina, jarabes de glucosa, almidón pregelatinizado)</p> <p>Pectina y pectinatos;</p> <p>Alginato, agar, carragenina, gomas (furcellarano, arábiga, guar, algarrobo, karaya, tamarindo)</p>	<p>Zeína del maíz, gluten de trigo y derivados (gliadinas y gluteninas).</p> <p>Proteína de soya y derivados (globulina 7s, globulina 11s).</p> <p>Arroz y proteína de mandioca</p> <p>Proteínas de guisantes, maní, pistache, algodón, girasol y proteína de soya.</p>	<p>Palma nativa o hidrogenada, palma de almendra, colza, maní, coco, aceite de algodón, manteca de cacao y sus derivados (obtenidos por fraccionamiento, esterificación, concentración y/o reconstitución: ácidos grasos y alcoholes, mono-, di-, y tri-glicéridos, manteca de cacao, substitutos de manteca de cacao, margarina, mantecas, lecitina, etc.).</p> <p>Ceras de carnauba, candelilla, salvado de arroz y fruta (manzana, bambú, azúcar, caña, cítricos), aceite de jojoba, terpenos cítricos, gomas, mentas y aceites esenciales de frutas cítricas.</p>
Animal	<p>Quitina, Quitosano</p>	<p>Colágeno, gelatina, proteínas de la carne, queratina, proteínas de pescado.</p> <p>Caseína, caseinatos</p> <p>Proteínas del lactosuero.</p> <p>Ovoalbúmina</p>	<p>Leche entera o fraccionada, manteca de cerdo, grasa de cebo y sus derivados (obtenidos por fraccionamiento, esterificación, concentración o reconstitución: ácidos grasos y alcoholes, mono-, di-, y tri- glicéridos, manteca de cacao, substitutos de manteca de cacao, margarina, mantecas, lecitina, etc.).</p> <p>Cera de abeja, esperma de ballena, cera china, goma laca.</p>
Microbiano	<p>Xantana, dextrano, pululano, gelana.</p>	<p>Quitosano</p>	
Mineral, fósiles o sintéticos			<p>Parafina, cera de polietileno, cera microcristalina</p> <p>Lignito, ceras de lignito</p>

2.2.1. Polisacáridos

Los polisacáridos son hidrocoloides de masa molar considerable, la mayoría de ellos son solubles en agua y se caracterizan por su estructura compleja y diversidad funcional. Cuando una solución de polisacárido es vertida sobre una superficie y se somete a un proceso de secado, forma películas que poseen características específicas de plasticidad, resistencia a la tensión, claridad y solubilidad. Estas características están determinadas por la extensión de enlaces de hidrógeno intermoleculares, los cuales dependen de los rasgos estructurales de los polisacáridos, entre los cuales se encuentran la presencia o ausencia de ramificaciones, grupos funcionales con carga, grado de sustitución y masa molar. Se ha observado que polisacáridos con alta masa molar y estructura lineal forman películas fuertes que se desmoldan fácilmente, mientras que los polisacáridos muy ramificados, aniónicos o no, forman películas débiles que se fragmentan cuando se intenta removerlas de la superficie donde se forma la película (Nieto, 2009).

En los polisacáridos aniónicos (*vgr.* alginato, carrageninas, pectina, gelana) la presencia de grupos cargados negativamente incrementa la polaridad y la solubilidad en agua de estos polímeros. Estos polisacáridos son filmogénicos, la carga negativa en sus moléculas evita la formación de estructuras fibrosas fuertes en la película seca. Dependiendo de la extensión y distribución de carga en las moléculas poliméricas, el polisacárido puede ser parcialmente soluble en agua (kappa-carragenina, iota-carragenina, pectina) o completamente soluble en agua (alginato, lambda carragenina, carboximetilcelulosa), estos últimos más aniónicos que los primeros; lo cual determinará también la solubilidad de la película formada. En general, los polisacáridos aniónicos forman estructuras lo suficientemente fuertes para mantener la película íntegra durante el desmolde de ésta. Por otra parte, entre mayor sea la sustitución o ramificación del polisacárido, mayor será el impedimento estérico para la asociación polímero-polímero, dando lugar a películas más débiles (Nieto, 2009).

2.2.1.1. Pectinas

Las pectinas son polisacáridos de origen vegetal, ampliamente usados en la industria alimentaria por su capacidad de gelificación y sus propiedades viscosificantes. Son extraídas principalmente del bagazo de manzana o cáscara de cítricos, aunque se han propuesto nuevas fuentes de pectina entre los que destacan la remolacha azucarera, el girasol y la cáscara de tuna (Lozada-Carbajal, 2007; Lira-Ortiz, 2009; Reséndiz-Vega, 2010). Las pectinas son polisacáridos de alto peso molecular y se encuentran en los tejidos vegetales, en donde funcionan como agentes de hidratación y material de unión de la red celulósica. Genéricamente el término “pectina” designa a la familia de polisacáridos estructurales constituyentes de la pared celular primaria de los vegetales; por definición, las pectinas son ácidos pectínicos con diferentes grados de esterificación y neutralización, que pueden contener de 200 a 1000 unidades de ácido galacturónico (Valdés-Martínez, 2006).

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, por sus siglas en inglés) y la normatividad de los Estados Unidos de América, estipulan que cualquier polisacárido denominado “pectina” debe contener por lo menos 65% de ácido galacturónico (Reséndiz-Vega, 2010). Las pectinas se han usado frecuentemente mezcladas con otros polímeros en la elaboración de películas (*vgr.*, pectina-polivinilalcohol, pectina cítrica y almidón, pectina-quitosano, pectina-ácido poliláctico, pectina con ceras) (Marshall y Coffin, 1998; Fishman y Coffin, 1998; Fishman *et al.*, 2000; Maftoonazad *et al.*, 2007), estas formulaciones han presentado propiedades mecánicas y de barrera aceptables, según el porcentaje de los componentes y la relación con el material alimenticio en estudio.

Gelificación de las pectinas

Las pectinas son moléculas de carga negativa, lo que las conduce primero a desplegarse, incrementando su radio de giro y así aumentar la viscosidad, y luego a rechazarse una con la otra. Estos factores concurren para mantener las moléculas en estado disperso, cuando se reducen las cargas de hidratación, los filamentos de pectinas se aproximan unos con otros y se enlazan entre sí, formando una red tridimensional amorfa, sólida, que retiene en sus mallas la fase líquida. Esta estructura tridimensional de pectina es mejor conocida como gel péctico. Las pectinas de bajo metoxilo pueden formar geles en presencia de calcio, mientras que las de alto metoxilo gelifican a pH ácido y en presencia de una concentración elevada de azúcar (Lira-Ortiz, 2009).

La gelificación de pectinas está determinada por varios factores como la temperatura, el tipo de pectina, el grado de esterificación, el grado de acetilación, pH, azúcar y otros solutos, y contenido de iones calcio (Lozada-Carbajal, 2007). La gelificación de pectinas de bajo metoxilo puede llevarse a cabo con cantidades de calcio inferiores a 0.1%; siempre que la longitud de las moléculas de pectina sea suficiente. No obstante que una pequeña cantidad de calcio adicional proporciona mayor rigidez al gel debido a que se favorecen las interacciones carboxilo-calcio, concentraciones de calcio altas pueden debilitar al gel, por lo que se debe conocer la concentración de saturación de calcio para cada tipo de pectina (Valdés-Martínez, 2006). Los geles de pectinas de bajo metoxilo son suaves, debido a la movilidad que pueden tener las moléculas de pectina en la red, lo cual es un indicativo de que el tipo de enlaces que se generan entre pectina-pectina son débiles y no permanentes (Reséndiz-Vega, 2010).

2.2.1.2 Gelana

La gelana es un polisacárido producido por el microorganismo aerobio *Sphingomonas elodea*. Su unidad estructural es el tetrasacárido (1→3)-β-D-

glucosa-(1→4)-β-D-ácido-glucurónico-(1→4)-β-D-glucosa-(1→4)-α-L-ramnosa-(1→) (Jansson y Lindberg, 1983). La gelana es un hidrocoloide capaz de formar, en medio acuoso, redes tridimensionales muy estables, lo que conlleva a generar una gama amplia de texturas y obtener una retención elevada de agua. En presencia de iones, principalmente divalentes, forma geles rígidos y transparentes. A diferencia de otros agentes gelificantes, la gelana es funcional a concentraciones muy bajas, porque es capaz de formar geles con todos los iones presentes en su medio (Sanderson, 1990). Estas características han propiciado el uso de gelana en la elaboración de películas biopoliméricas con propiedades mecánicas adecuadas para empaques o recubrimientos alimentarios (Yang y Paulson, 2000; León *et al.*, 2008; Oms-Oliu *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2010).

Gelificación de gelana

La gelana en solución presenta un cambio conformacional desordenado antes de efectuarse la gelificación:



Se ha sugerido que el mecanismo de gelificación de gelana se lleva a cabo en dos etapas. Un incremento de la concentración de cationes o la disminución de la temperatura promueve la transición de cadena aleatoria a dobles hélices (primera etapa) y la asociación de dobles hélices rígidas para formar agregados o geles (segunda etapa). Este mecanismo es ampliamente aceptado tanto para contraiones monovalentes como divalentes e involucra la formación de hélices como prerequisite para la gelificación (Shi, 1990). La temperatura del cambio conformacional *hebra-hélice*, prerequisite para la gelificación, depende principalmente de la concentración iónica total del medio y la naturaleza de los iones presentes (carga, tamaño del ión, etc.) (Shi, 1990). Se ha reportado que los geles de gelana elaborados con cationes divalentes son más rígidos que los correspondientes elaborados con cationes monovalentes. Este comportamiento se ha discutido en función de la formación de puentes carboxilo-M⁺-agua-M⁺-carboxilo, para la gelificación con cationes monovalentes (M⁺) y de puentes más

fuertes $-\text{Carboxilo-M}^{++}\text{-Carboxilo-}$, para la gelificación con cationes divalentes (M^{++}) (Chandrasekaran *et al.*, 1988). El comportamiento reológico de geles y soluciones de gelana ha sido estudiado por diversos autores con la finalidad de generar mayor conocimiento acerca de su funcionalidad en sistemas alimenticios. Algunos autores refieren que los geles formados por gelana son fuertes, firmes, quebradizos y con poca elasticidad, por lo que este polisacárido frecuentemente se usa mezclado con otros hidrocoloides en la industria de alimentos para diluir estas propiedades (Sanderson, 1990).

2.2.2. Plastificantes

Los plastificantes pueden definirse como compuestos de baja volatilidad que pueden ser añadidos a las películas y a los recubrimientos con la finalidad de modificar algunas de sus propiedades mecánicas y de permeabilidad. Reducen la fragilidad, imparten flexibilidad e incrementan la dureza y resistencia al corte de la película, ya que estos compuestos disminuyen las fuerzas intramoleculares de las cadenas adyacentes del polímero produciendo un decremento en las fuerzas de cohesión, tensión, temperatura de transición vítrea y de las propiedades de barrera de gases, solutos y vapor de agua. La influencia del plastificante depende de su concentración, estructura química, grado de dispersión en la película y del grado de interacción con el polímero. Los plastificantes deben ser compatibles con el polímero, de solubilidad similar al disolvente utilizado, estables en el sistema polímero-disolvente, entre otras propiedades. Adicionalmente se debe tomar en cuenta su higroscopicidad, color y sabor (Guilbert y Gontard, 1995).

La adición de plastificantes y la combinación de materiales (lípidos, hidrocoloides o mezclas de lípidos e hidrocoloides) es una práctica frecuente en la formulación de películas comestibles para superar los problemas asociados con el uso de un solo material formador de películas. La cohesión y flexibilidad de las películas comestibles están determinadas por el peso molecular, la ramificación y la polaridad de sus componentes. Las moléculas con baja polaridad y alta linealidad

tienden a producir películas con alto grado de cohesión y rigidez, lo cual genera películas muy quebradizas. Para este tipo de películas se requiere la presencia de agentes plastificantes para debilitar las fuerzas intermoleculares entre las cadenas de polímeros adyacentes, lo cual aumenta la flexibilidad y la resistencia a la fractura de dichas películas, particularmente cuando el producto es almacenado a baja humedad relativa o baja temperatura (Morillon *et al.*, 2002).

Los plastificantes con aplicaciones en alimentos incluyen: mono-, di-, oligosacáridos (principalmente glucosa y fructosa-jarabe de glucosa, miel); polioles (principalmente sorbitol, glicerol, derivados de glicerol y polietilenglicoles); lípidos y derivados (principalmente ácidos grasos, mono glicéridos, derivados del éster, fosfolípidos, surfactantes). Las concentraciones de plastificante utilizadas deben ser elegidas cuidadosamente, ya que éstos tienden a emigrar diluyendo y reblandeciendo la estructura de la película, dando como resultado películas con menor resistencia al agua (Guilbert y Gontard, 1995). Es importante también determinar, además de la concentración, el tipo de plastificante, ya que al modificarse las fuerzas moleculares en la matriz estructural también se puede afectar significativamente su funcionalidad de barrera a la transferencia de masa (Bósquez-Molina, 2003).

2.2.3 Aditivos

El uso de aditivos en películas comestibles tiene como propósito impartir diferentes propiedades (mecánicas, nutricionales, sensoriales) o realizar una función específica en los alimentos ya que son liberados de forma controlada de la película hacia éstos. Algunos aditivos que se han incorporado en películas comestibles son colorantes, vitaminas, antioxidantes, saborizantes, conservadores, enzimas, microorganismos probióticos, etc. (Cherry, 1999).

2.2.4 Agentes humectantes y emulsificantes

Los agentes emulsificantes y texturizantes se han usado para estabilizar los sistemas dispersos (Debeaufort y Voilley, 2009). En ocasiones es benéfico incluir agentes humectantes o surfactantes a la solución filmogénica para disminuir la tensión superficial y permitir un recubrimiento superficial mejor. Si la superficie a la que se aplica el recubrimiento no está lo suficientemente mojada por la solución filmogénica, la capa de recubrimiento resultante no se adhiere bien a la superficie de los alimentos. Las burbujas bajo la superficie pueden arruinar la apariencia del producto (Kramer, 2009).

2.3. Recubrimientos comestibles hidrofóbicos

Las barreras comestibles a base de sustancias hidrofóbicas como lípidos fueron desarrolladas específicamente para limitar la migración de humedad dentro del alimento. En el Cuadro 3 se proporciona una lista de sustancias hidrofóbicas usadas como componentes de películas comestibles y recubrimientos, estos datos se basan en investigaciones y patentes publicadas en los últimos 15 años (Debeaufort y Voilley, 2009).

Muchos compuestos podrían ser usados en la formulación de empaques comestibles. La decisión de cuál usar depende principalmente de la aplicación. Por ejemplo, han surgido muchas investigaciones en torno a recubrimientos para retardar la desecación de frutas frescas y vegetales. Las sustancias que se han usado frecuentemente para esta aplicación son las ceras. En el mismo sentido, en enología los corchos de las botellas de vino pueden ser recubiertos con cera de abeja y cera de parafina para prevenir el empapado del corcho y la liberación de los aromas del corcho al vino. Este método de recubrimiento ofrece una alternativa al uso de corchos de plástico en las botellas de vino. La manteca de cocoa y las películas a base de cocoa son generalmente usadas en confitería y en la industria

de panificación. Otro ejemplo son las películas que se usan para proteger pizzas, productos perecederos, cereales, rellenos de panificación, entre otros, para prevenir la migración de la humedad y la pérdida de sabores. No obstante que en la industria de los alimentos las lacas y los barnices se han usado para brindar apariencia superficial (color, brillo y lustre) y reducir la pegajosidad superficial, pocos estudios se han realizado para investigar los efectos de la aplicación de estas lacas y barnices en los alimentos (Debeaufort y Voilley, 2009).

Cuadro 3. Sustancias hidrofóbicas usadas como compuestos de barrera en películas o recubrimientos comestibles (Debeaufort y Voilley, 2009).

Aceites, grasas, manteca, margarina	Aceites de vegetales nativos y grasas de origen animal (cacauate, coco, palma, aceites de almendra, cacao, mantequilla de leche, manteca, sebo, etc.). Aceites y grasas fraccionadas, concentradas y/o reconstituidos (ácidos grasos mono-, di- y triglicéridos, sustitutos de la manteca de cacao, etc.) Aceites hidrogenados y/o transesterificados (margarina, mantecas, etc.)
Ceras	Ceras naturales de origen animal y vegetal: candelilla, carnauba, jojoba, abeja, ballenas. Ceras no naturales: parafinas, minerales, microcristalina, de polietileno oxidado o no oxidado
Resinas Naturales	Resina de asafétida (Medio Oriente), resina de benjuí (Sudeste asiático), chicle, resina de guaraná, mirra, olíbano (incienso), resina de opopánax (Irán), resina de styrax (Turquía, Suramérica).
Aceites esenciales y regaliz	Alcanfor, menta y aceites esenciales de cítricos, regaliz y glicirricina.
Emulsificantes y agentes surfactantes activos	Lecitina, mono- y diglicéridos, ésteres mono- y diglicéridos Ésteres de sacarosa, alcoholes grasos y ácidos grasos.

La naturaleza de la película o recubrimiento comestible es importante ya que a una mayor hidrofiliidad del material con el que es elaborada, mayor será su permeabilidad al vapor de agua y menor será el control de humedad. De esta forma, si el material es más hidrofóbico se presentan mejores propiedades de barrera ante la migración de la humedad (Bourlieu *et al.*, 2008). Los lípidos otorgan a las películas propiedades de barrera excelentes, principalmente al vapor de agua debido a su naturaleza hidrofóbica, baja polaridad y capacidad de formar una red molecular densa y ordenada. Sin embargo, carecen de integridad y

estabilidad estructural. La permeabilidad al vapor de agua de películas de lípidos incrementa con el aumento de la polaridad, ramificación e insaturación. Los lípidos utilizados comúnmente como materiales de barrera incluyen, por orden decreciente de acuerdo a su eficiencia:

- Ceras
- Lacas
- Ácidos grasos y alcoholes
- Glicéridos acetilados
- Cocoa y sus derivados

La clasificación de la eficiencia de los lípidos depende de la composición química de las moléculas (presencia de compuestos polares, tamaño de la cadena hidrocarbonada, el número de insaturaciones o acetilación). Para los componentes que tienen la misma naturaleza química, las propiedades de barrera se modifican debido al tamaño de la cadena, porque la parte polar de la molécula disminuye y no favorece la solubilidad en agua de la película. Por lo tanto, la eficacia como barrera a la humedad de los lípidos es (Debeaufort y Voilley, 2009):

Ceras> grasas sólidas>lecitina, acetoglicéridos>aceites líquidos

La eficiencia de los lípidos de barrera depende también de su estado físico (contenido de grasa sólida a la temperatura de uso de la película, forma de los cristales, etc.). En efecto, muchos lípidos existen en forma cristalina y cada cristal individual es impermeable al vapor de agua. El flujo de agua permea principalmente entre los cristales y la disposición de éstos tiene consecuencias importantes en las propiedades de barrera del material. Por consiguiente, el grado de migración de humedad puede ser frenado en cierta manera con un temperado adecuado, que induce a una estructura más eficiente contra la migración de la humedad. Del mismo modo, en una fase continua lipídica el vapor migra con más facilidad en la fase líquida de la grasa del producto. Por lo tanto, la cantidad de

grasa en estado sólido a la temperatura del producto influye claramente en la tasa de migración de humedad (Ghosh *et al.*, 2004; Kester y Fennema, 1986).

Los recubrimientos y películas elaboradas con la combinación de sustancias hidrofóbicas y sustancias hidrofílicas básicamente pueden tener dos formas: una cubierta en bicapa o un recubrimiento emulsificado. Aunque se ha reportado que las películas laminadas en bicapa son más eficaces como barrera contra la transferencia de agua (Kester y Fennema, 1989; Quezada Gallo *et al.*, 2000), su proceso de elaboración es más complicado (4 pasos: 2 aplicaciones y 2 etapas de secado) por lo cual la industria alimentaria se inclina por el uso de formulaciones emulsificadas en las que los lípidos (aceites o ceras) y las sustancias formadoras de matrices estructurales están asociadas en una emulsión.

En las películas y recubrimientos comestibles obtenidos por emulsificación, la transferencia de masa ocurre a través de la matriz estructural, la cual constituye la fase continua en la emulsión, así que el material permeante (gases o vapor de agua) seguirá una trayectoria que estará determinada por el tamaño y la forma en que se encuentren dispersadas las partículas hidrofóbicas en el sistema.

Cuando el tamaño de las partículas hidrofóbicas es pequeño y su distribución es homogénea, entonces la tortuosidad del recubrimiento es mayor ofreciendo una mayor resistencia a la permeación, dado que las moléculas tendrán que recorrer un camino más complejo. Cuando la distribución no es homogénea y la emulsión presenta inestabilidad de floculación o coalescencia, entonces se forman zonas altamente hidrofílicas en donde la difusión del permeante encuentra poca resistencia, es decir, la permeabilidad es mayor y, debido a la hidratación, aumenta la probabilidad de una pérdida de estabilidad estructural del recubrimiento (Bósquez-Molina, 2003). En la Figura 2 se describen los tipos de estructuras de películas a base de lípidos.

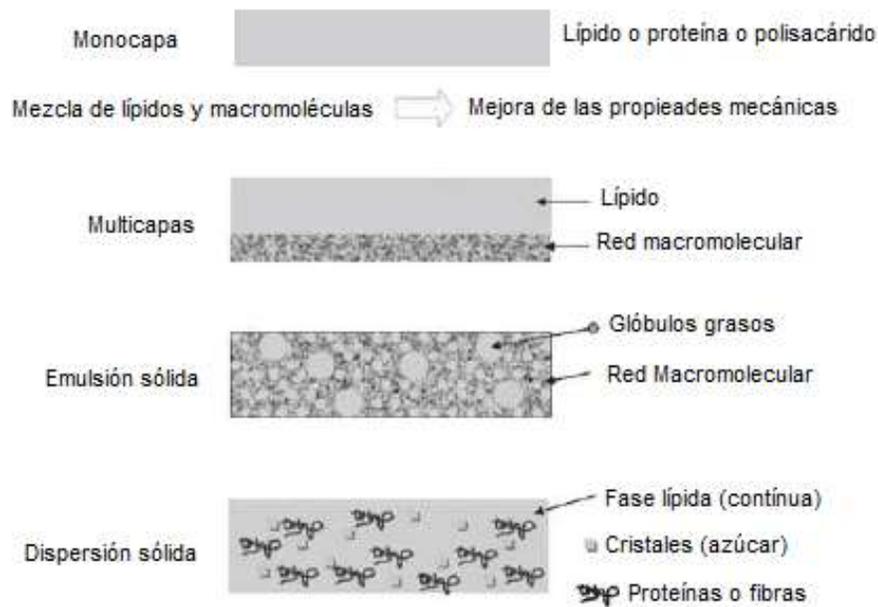


Figura 2. Posibles estructuras de películas compuestas a base de lípidos (Debeaufort y Voilley, 2009).

2.3.1 Ceras comestibles

A pesar de que no existe una definición satisfactoria para el término “cera”, el cual se usa para una variedad de productos de origen mineral, botánico y animal que contienen varios tipos de material graso, todas las ceras tienden a contener ésteres de ácidos grasos de cadena larga con alcoholes grasos de cadena larga. Dependiendo de su procedencia, además, pueden incluir hidrocarburos, esteroides, aldehídos alifáticos, alcoholes primarios y secundarios, triglicéridos, dioles, cetonas, etc. La parafina seguida de la cera de candelilla y las ceras microcristalinas, y eventualmente por la cera de abeja, son consideradas las ceras comestibles más eficientes como barreras a la humedad (Morillon *et al.*, 2002).

El uso de ceras comestibles para cubrir algunas frutas por inmersión es uno de los métodos más antiguos de tecnología de barreras, este método fue practicado desde principios del siglo XII en China con el propósito de retardar la transpiración en limones, naranjas y se sigue utilizando en pimentones, manzanas, peras, etc.

(Hagenmaier, 2005). El recubrimiento con ceras naturales fundidas en la superficie de frutas y vegetales ayuda a prevenir la disminución de la humedad, específicamente durante los cambios estación. Las ceras parafinadas y la cera de candelilla son algunas de las ceras preparadas y usadas en tales aplicaciones (Tharanathan, 2003). Los revestimientos superficiales con cera también reducen la abrasión de la superficie de las frutas durante su manipulación y mejora su apariencia por la impartición de brillo superficial. Sin embargo, si la permeabilidad a gases de la capa no es la adecuada, la cera puede dar lugar a la creación de una atmósfera anaerobia que induce sabores desagradables y el deterioro del producto (Baldwin *et al.*, 1995).

Las ceras son las sustancias más eficientes para la reducción de la permeabilidad a la humedad, debido a su alta hidrofobicidad causada por su alto contenido de cadenas largas de grasas, alcoholes y alcanos. La sustancia más eficiente es la cera de abeja, seguida del esteril alcohol, acetil-acil glicerol, alcanos (hexatriacontano), triglicéridos y los ácidos grasos. Esta clasificación puede ser explicada por hidrofobicidad molecular, la cual se define por el grado de interacción con el agua. Las ceras suelen presentar un sistema ortorrómbico de cristalización, favorecido por una velocidad baja de enfriamiento, y posiblemente una pequeña fracción de cristales hexagonales. La cera de carnauba es más dura que las otras ceras, por lo que se adiciona a éstas para mejorar la dureza y el brillo. La cera de candelilla solidifica lentamente y presenta una rigidez intermedia entre la cera de carnauba y la cera de abeja. La cera de abeja es relativamente más flexible y se considera un material viscoelástico (Shellhamer *et al.*, 1997).

2.3.2. Cera de candelilla

El nombre común de la planta, “Candelilla”, parece provenir de la forma particular de los tallos del arbusto largos, rectos, erectos y recubiertos de cera los cuales presentan la apariencia de pequeñas velas (“candles” en el idioma Inglés). Algunas otras versiones indican que la hierba de Candelilla se quemaba

directamente para iluminación, haciendo las funciones propias de una vela. La planta de Candelilla pertenece a la familia de las Euforbiáceas, nombre común de una extensa familia de plantas con flores de aspecto similar a los cactus de quienes se diferencian claramente por el látex lechoso que contienen las Euforbiáceas. La planta crece normalmente en zonas de clima semi-desértico, principalmente en laderas de suelo calcáreo, en forma de arbustos de un tamaño aproximado de 90 cm de diámetro (Instituto de la Candelilla, 2010).

La explotación comercial de la planta de Candelilla, para la producción de cera, se remonta a los primeros años del siglo XX, llegando a convertirse en una de las principales actividades económicas en el sector mexicano del desierto de Chihuahua. La cera de candelilla es una sustancia compleja de origen vegetal. Es dura, quebradiza y fácil de pulverizar. Sin refinar es de apariencia opaca. Su color puede variar desde café claro hasta amarillo, dependiendo del grado de refinación y blanqueo. Su superficie puede alcanzar altos niveles de brillo al ser refinada, siendo ésta una de las propiedades más apreciadas en la cera de candelilla para diversas aplicaciones de especialidad. Disuelve bien los colorantes básicos, es insoluble en agua, pero altamente soluble en acetona, cloroformo, benceno y otros solventes orgánicos.

La mayoría de los constituyentes de la cera de candelilla son componentes naturales que se encuentran en los vegetales y en las frutas (Cuadro 4). Su composición química se caracteriza por un alto contenido de hidrocarburos (alrededor del 50%) y una cantidad relativamente baja de ésteres volátiles. Su contenido de resina puede llegar hasta 40% en peso, lo cual contribuye a sus propiedades adhesivas. Puede endurecer otras ceras sin aumentar significativamente el punto de fusión de la mezcla (Instituto de la Candelilla, 2010).

Cuadro 4 .Composición típica de la cera de candelilla (Candelilla.org, 2004)

(% Peso)	Cruda	Refinada
Hidrocarburos	46	57
Alcoholes libres	13	14
Ácidos libres	7	7
Ésteres simples	2	21
Ésteres hidroxilados	8	8
Ésteres ácidos	10	0

La cera de candelilla presenta una contracción muy baja, por lo cual es utilizada en fundición de precisión. Es muy adhesiva y encuentra aplicaciones en la formulación de cosméticos, pulidores y brillos para muebles, piel, automóviles y pisos. Mezclada con otras ceras se utiliza en acabados para piel, textiles y cordones, para lubricantes y grasas, adhesivos donde la resina elimina el acabado resbaladizo y para recubrimientos de papel y cartón. Puede endurecer otras ceras sin aumentar significativamente el punto de fusión de la mezcla (Instituto de la Candelilla, 2004). En el Cuadro 5 se presentan las principales propiedades fisicoquímicas de la cera de candelilla.

Cuadro 5. Propiedades fisicoquímicas de la cera de candelilla (Candelilla.org, 2004).

	Cruda	Refinada
Valor de acidez	12-24	12-22
Valor de yodo	19-45	14-27
Número de saponificación	43-65	35-87
Punto de fusión	66-71 °C	67-79 °C
Índice de refracción	1.456 a 71 °C	1.455-1.462 a 85 °C
Material no saponificable	65-67	67-77
Gravedad específica	0.982	0.885
Punto de flama	241 °C	-----

Existen diferentes tipos de productos de cera de candelilla, los cuales se diferencian básicamente en su presentación y grado de refinación. Tradicionalmente se han manejado en el mercado las siguientes presentaciones:



Figura 3. Diferentes presentaciones de la cera de candelilla en el mercado (Instituto de la Candelilla, 2010).

La cera de candelilla presenta una gran diversidad de aplicaciones, siendo actualmente utilizada en más de 20 industrias distintas en todo el mundo, principalmente en la Unión Europea, los Estados Unidos y Japón. Sus propiedades distintivas le confieren la categoría de material esencial para la fabricación de cosméticos, tintas, adhesivos, recubrimientos, emulsiones, pulimentos y productos farmacéuticos. La cera de candelilla es reconocida por la Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos (FDA por sus siglas en Inglés), como una sustancia natural segura- GRAS, *Generally Recognized As Safe*- para su aplicación en la industria alimenticia, por lo cual es ampliamente utilizada en diversos sectores del ramo; por ser un buen plastificante se utiliza en la fabricación de goma de mascar. Sus propiedades de retención de aceites le permiten conservar mejor los sabores, por lo que este producto de cera natural ha demostrado sus ventajas sobre la mayoría de las ceras sintéticas que se utilizan en esta industria (Instituto de la Candelilla, 2010).

La cera de candelilla se ha usado para incrementar la vida de anaquel de frutos frescos (lima, limón, plátano, aguacate, manzana), en forma de recubrimiento, (Paredes-López *et al.*, 1974; Bósquez-Molina, 2003) o en películas comestibles (Bósquez-Molina y Vernon Carter, 2005; Saucedo-Pompa *et al.*, 2007; Saucedo-Pompa *et al.*, 2009). En algunos de estas investigaciones se han incluido antioxidantes a las películas elaboradas con cera de candelilla, las cuales extendieron la vida útil de frutos recién cortados e incrementaron su capacidad antioxidante y calidad nutricional con relación al fruto testigo (Saucedo-Pompa *et al.*, 2007; Saucedo-Pompa *et al.*, 2009).

La cera de candelilla también se ha usado para mejorar las propiedades de barrera a la humedad en películas elaboradas con goma de mezquite (Bósquez-Molina *et al.*, 2005). En los trabajos reportados por Bósquez-Molina *et al.* (2005) se concluye que existe una relación estrecha entre las propiedades de barrera al vapor de agua y la microestructura de los recubrimientos, ya que los recubrimientos con morfología superficial más uniforme y menos defectos (fracturas, poros) exhibieron valores bajos de permeabilidad al vapor de agua. En lo que respecta a su potencial de aplicación, se encontró que en el caso de limones Persa recubiertos con películas elaboradas con goma de mezquite, cera de candelilla y plastificante; exhibieron un 20% menos pérdida fisiológica de peso con respecto a los frutos sin recubrimiento. Además, retuvieron su color verde y no presentaron alteración alguna en los parámetros fisicoquímicos de calidad evaluados durante 25 días de almacenamiento.

2.4. Propiedades de barreras de recubrimientos y películas comestibles con lípidos

2.4.1. Efecto de la estructura de las películas en las propiedades de barrera

Existen diferentes técnicas para elaborar películas (vaciado en placa, extrusión) y recubrimientos comestibles (aspersión, lecho fluidizado, inmersión), las cuales

dependen de las propiedades del material a usar. Las películas de lípidos y ceras pueden ser formadas a través de la solidificación de éstos previamente fundidos. Los biopolímeros en solución pueden formar películas alterando las condiciones de ésta (cambios en el pH, adición de sales, adición de calor, etc) (Debeaufort *et al.*, 1998).

La técnica de vaciado en placa –*solvent casting*–, es la preferida para elaborar películas de proteínas y polisacáridos para trabajos de investigación, debido a que es la más económica y efectiva. Se usan en esta técnica soluciones biopoliméricas diluidas mezcladas con el plastificante y/o aditivos, las cuales son vaciadas en superficies niveladas que pueden ser desde cajas de Petri hasta moldes más elaborados para trabajar en lote o en continuo. Posteriormente las soluciones se secan bajo condiciones ambientales o de humedad relativa controlada. El método de secado puede afectar significativamente las propiedades físicas finales de la película, las cuales incluyen: morfología de la película, apariencia y propiedades mecánicas y de barrera (Pérez-Gago y Krochta, 2000).

Las películas comestibles que contienen lípidos pueden ser obtenidas usando técnicas como la emulsificación o laminado. Algunos autores han estudiado el efecto de la técnica de preparación de la película en las propiedades de barrera de ésta. Se ha reportado que la eficiencia de la barrera generalmente se mejora cuando la estructura de la película es homogénea, independientemente de la naturaleza del material hidrofóbico (Martín Polo *et al.*, 1992). Esta homogeneidad puede lograrse cuando las películas contienen una capa continua de lípidos, obtenida ya sea por una técnica bicapa (técnica de laminado) o después de la estabilización de la emulsión antes y durante el proceso de secado (técnica de emulsificación) (Debeaufort y Voilley, 2009; Jiménez *et al.*, 2010).

En películas emulsionadas el contenido de lípidos, así como el tamaño de partículas de lípido y su distribución en la matriz hidrofílica determinan la permeabilidad al vapor de agua de las películas. Sin embargo, a pesar de que

existe una reducción de la permeabilidad al vapor de agua al aumentar el contenido de lípido, en algunos estudios se ha observado que esta disminución se mantiene hasta ciertos niveles de concentración del material lipídico, a partir de la cual las propiedades de barrera de la película no mejoran, incluso pueden disminuir (Koelsch y Labuza, 1992; Avena-Bustillos y Krochta, 1993; Sapru y Labuza, 1994; Shellhammer y Krochta, 1997), lo cual se ha atribuido a una incorrecta dispersión de la fase lipídica por exceso de ésta.

2.4.2. Efecto del grosor de la película

Un incremento en la permeabilidad al vapor de agua en la película al aumentar el espesor de ésta indica afinidad por el agua debida a la presencia de compuestos hidrofílicos en la formulación. La resistencia de los lípidos a la transferencia de masa de gases, como el oxígeno, se debe principalmente a la estructura de la película, entre más densa y compacta es más difícil la difusión y más baja la permeabilidad. En el caso de la resistencia a la transferencia de humedad, el fenómeno es más complejo, existen factores como la difusión y la sorción (Debeaufort y Voilley, 2009).

2.4.3. Efecto del gradiente de humedad

La fuerza motriz para la transferencia de humedad en las películas es la de presión de vapor o la diferencia en la actividad de agua entre ambas superficies de la película. Entre mayor es este gradiente de humedad, mayor será la velocidad de transferencia de masa, si no existe interacciones entre agua y película. En el caso de películas hidrofílicas, la permeabilidad se incrementa cuando existen niveles altos de humedad relativa, lo cual se atribuye a la sorción de humedad, dando lugar a la plastificación de la red polimérica. En este escenario la difusión de agua se facilita. Aún en películas hidrofóbicas, la presencia de partículas hidrofílicas o grupos polares, afectan su eficiencia a la barrera contra la humedad (Debeaufort y Voilley, 2009).

2.4.4. Efecto de la temperatura

La temperatura ejerce un efecto importante en todos los fenómenos termodinámicos y cinéticos, y por lo tanto afecta la transferencia de humedad. Los coeficientes de difusividad y permeabilidad de películas varían de acuerdo a la ecuación de Arrhenius (Ec. 1 y 2), siempre y cuando no existan modificaciones en la estructura de la película por efecto de la temperatura.

$$D = D_0 \exp\left(-\frac{E_{a,D}}{RT}\right) \quad (1)$$

$$P = P_0 \exp\left(-\frac{E_{a,P}}{RT}\right) \dots\dots(2)$$

En las Ecuaciones 1 y 2, $E_{a,D}$ y $E_{a,P}$ son las energías aparentes de activación de los fenómenos de difusión y permeación, respectivamente; D_0 y P_0 son valores de referencia de difusividad y permeabilidad, respectivamente; R es la constante de los gases ideales y T es la temperatura absoluta (Debeaufort y Voilley, 2009).

2.5. Propiedades mecánicas de películas elaboradas con polisacáridos y lípidos

Las propiedades mecánicas de películas y recubrimientos dependen de las interacciones que tienen lugar entre la matriz polimérica y los aditivos presentes, lo cual afecta la estabilidad y flexibilidad de estas películas. Las propiedades mecánicas de las películas plásticas laminadas usualmente se caracterizan a través de pruebas de tensión, en donde los parámetros que se determinan de acuerdo al procedimiento estándar de la *American Society for Testing and Materials* (ASTM D882-91) son:

- a) Esfuerzo de tensión (*tensile strength*): fuerza o carga máxima dividida por el área de la sección transversal original de la película.
- b) Esfuerzo a la fractura (*tensile strength at break*): fuerza o carga aplicada en el momento de la fractura de la película dividida por el área de sección transversal original de la película.

Nota: En muchos casos ambos esfuerzos son idénticos.

- c) Porcentaje de elongación (*percent elongation at break*): extensión de la película al momento de la fractura dividida por la longitud inicial de ésta (o por la distancia inicial entre las pinzas de tensión). El resultado se expresa en porcentaje.
- d) Esfuerzo de cedencia (*yield strength*), donde sea aplicable, se calcula dividiendo la carga en el punto de cedencia del material dividida por el área de sección transversal original de la película.
- e) Porcentaje de elongación en el punto de cedencia, en donde sea aplicable se calcula dividiendo la extensión en el punto de cedencia por la longitud original de la película (o por la distancia inicial entre las pinzas de tensión). El resultado se expresa en porcentaje.
- f) Módulo Elástico: se calcula trazando una recta tangente en la sección lineal inicial de la curva fuerza-extensión, el valor de la pendiente se considera el módulo elástico.

La caracterización mecánica de las películas comestibles se lleva a cabo en máquinas *Instron* o texturómetros. Estos parámetros se relacionan con la capacidad de estiramiento de la película y es bien conocido que las condiciones ambientales durante la elaboración, almacenaje y uso de estos materiales afectan sus propiedades mecánicas; de tal forma que la vida de anaquel de estos productos se define en términos de la preservación de las propiedades mecánicas, particularmente la elongación de la película (García *et al.*, 2009).

Se ha reportado que las películas plastificadas son más dúctiles que las no plastificadas, lo cual se asocia a que las moléculas de bajo peso molecular del material plastificante interfieren con la asociación de cadenas de polímeros, disminuyendo la rigidez de la red y generando una estructura menos ordenada (Donhowe y Fennema, 1993; Debeaufort y Voilley, 1997; Pinotti *et al.*, 2007; García *et al.*, 2009). Las propiedades mecánicas de películas comestibles dependen fuertemente de las condiciones usadas en los ensayos (i.e. velocidad de extensión o comprensión, geometría de la muestra, tipos de pinzas de tensión y

condiciones ambientales), por lo que es difícil realizar una comparación entre distintos autores debido a que las condiciones experimentales usadas en cada trabajo varían, aún cuando se siguen procedimientos estándares. Por lo que es recomendable reportar las condiciones ambientales y de ensayo durante la tensión de las películas.

2.6. Xoconostle

El fruto más conocido de *Opuntia* son las tunas, que son frutas de cáscara delgada con una jugosa pulpa dulce. En algunas regiones de México hay otra fruta *Opuntia*, localmente llamada “xoconostle”, la cual tiene una piel gruesa y comestible, succulenta y ácida con una pulpa pequeña. Su nombre común se deriva del Náhuatl: xococ (ácido) y nochtli (nopal). En el 2005 se reportaron 8 especies de xoconostle que crecen en las nopaleras silvestres en las regiones semi-áridas de México (García-Pedraza *et al.*, 2005). Sólo en el estado de México se estiman 1,300 hectáreas de cultivo de xoconostle en seis municipios que incluyen a Texcoco y a San Martín de las Pirámides (García-Pedraza *et al.*, 2005).

El xoconostle es una fruta cilíndrica con baya piriforme, presenta una depresión apical o recipiente, llamado “ombigo”, contiene una proporción muy pequeña de pulpa, y un pericarpio grueso, fresco y ácido (pared del fruto que consiste en dos capas: exocarpio y mesocarpio, o "piel" o "concha" de la fruta) (Peña-Valdivia *et al.*, 2009). Se ha estudiado la cáscara de diversas especies de xoconostle, reportando valores de pH entre 3.1 y 4.5, el contenido de proteína cruda va de 2.2 a 3.4%, el contenido de lípidos está en el intervalo de 0.8 a 1.2%, el xoconostle es rico en carbohidratos totales: 9.1 a 15%, su contenido de fibra es de 11.6 a 14.4% y también es rico en minerales como el sodio y el potasio con rangos de 5.9 a 14.4 mg/100 g) y de 1,451.8- 3,328.7 mg/100 g, respectivamente (García-Pedraza, *et al.*, 2005).

En México, las plantas de *Opuntia* spp. se han usado de forma para el tratamiento alternativo de Diabetes mellitus. Pimienta-Barrios *et al.* (2008) evaluaron el efecto de la ingestión de la cáscara del fruto del xoconostle y concluyeron que el consumo habitual de dicha cáscara puede ser útil para controlar la glucosa sérica en individuos con Diabetes mellitus tipo 2; además de que en personas sanas puede coadyuvar a prevenir estados de hiperglucemia y niveles altos de colesterol y triglicéridos que pueden relacionarse con síndrome metabólico.

Capítulo 3

3. HIPOTESIS, OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN

3.1. Hipótesis

Los polisacáridos pécticos de xoconostle (*Opuntia* sp.) en combinación con el polisacárido gelana y glicerol como plastificante, formarán películas flexibles y de propiedades mecánicas adecuadas para ser usadas como empaques alimentarios comestibles. La adición de cera de candelilla a la formulación de las películas mejorará las propiedades de barrera de éstas, lo cual se indicará principalmente a través de la reducción a la permeabilidad al vapor de agua. Será posible determinar una concentración de cera en la película que no afecte significativamente sus propiedades mecánicas y que genere propiedades de barrera aceptables para empaques alimentarios.

3.2. Objetivos

3.2.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de la cera de candelilla en las propiedades mecánicas y de transferencia de masa de películas comestibles biopoliméricas, elaboradas con polisacáridos extraídos de la cáscara de xoconostle (*Opuntia* sp.) variedad manzano, gelana de bajo acilo y glicerol como plastificante, para determinar su potencial como empaques alimentarios comestibles.

3.2.2. Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la concentración de cera de candelilla en las propiedades mecánicas de películas biopoliméricas formuladas con polisacáridos extraídos de la cáscara de xoconostle-gelana de bajo acilo-glicerol-cera de candelilla, a través de pruebas de tensión uniaxial.
- Evaluar el efecto de la concentración de cera de candelilla en las propiedades de transferencia de masa de películas biopoliméricas formuladas con polisacáridos extraídos de la cáscara de xoconostle-gelana de bajo acilo-glicerol-cera de candelilla, a través de pruebas de permeabilidad al oxígeno y permeabilidad al vapor de agua.

3.3. Justificación

Una de las innovaciones en el empaque de los alimentos han sido los “recubrimientos y películas comestibles” elaborados por polímeros de fuentes naturales (i.e. polisacáridos, proteínas y/o lípidos); los cuales recubren al alimento actuando como barrera a la transferencia de oxígeno, humedad y compuestos volátiles. Para la formación de estos materiales se necesita un componente capaz de constituir una matriz estructural con suficiente cohesión. En muchos casos ésta se elabora a partir de materiales poliméricos abundantes en la naturaleza o de subproductos descartables de la industria alimentaria (almidones, pectinas, celulosas, proteína de suero de leche, gelatina, caseinatos, etc), lo cual ofrece la oportunidad de disminuir los desperdicios convirtiéndolos en una fuente de materia prima.

La búsqueda de películas con mejoras en las propiedades de barrera y mecánicas, ha dado lugar al desarrollo de películas multicomponentes en donde las proteínas o polisacáridos forman una red continua y cohesiva, y los lípidos formen una barrera a la humedad (Quezada-Gallo *et al.*, 2000). El diseño y

desarrollo de películas biopoliméricas con determinadas propiedades de barrera a la humedad y gases es objeto de investigaciones como una alternativa a los empaques de plásticos derivados del petróleo. Aún cuando las cualidades tecnológicas y de producción de biopolímeros no son todavía equiparables con las de los polímeros sintéticos tradicionales, éstos pueden entrar en el mercado debido a la demanda creciente por empaques amigables con el medio ambiente.

Las pectinas son polisacáridos que se han usado para elaborar películas comestibles debido a su capacidad de formar geles que propician la formación de películas cohesivas. La industria de las pectinas se ha centrado en los cítricos; sin embargo, es posible extraer polisacáridos pécticos con propiedades filmogénicas de fuentes no convencionales, lo cual puede ser atractivo desde el punto de vista económico y científico. Se ha reportado la extracción de pectinas del amaranto, remolacha azucarera, tejocote, jícama, mango, durazno, nopal, tuna, etc. (Contreras-Esquivel *et al.*, 2007; Ovodov, 2009). En este trabajo se propone la extracción de polisacáridos pécticos de la cáscara del xoconostle tomando como referencia trabajos previos del Cuerpo Académico de Biotecnología Agroalimentaria de la UAEH (Lozada-Carbajal, 2007; Lira-Ortiz, 2009). Los experimentos preliminares realizados para el establecimiento de este trabajo de investigación demostraron que es posible extraer de la cáscara de xoconostle (*Opuntia* sp) variedad manzano, polisacáridos tipo pectina que gelifican en presencia de calcio. Los geles de este polisacárido forman películas con propiedades mecánicas aceptables para ser evaluadas en este trabajo de investigación. Por lo tanto se considera importante evaluar las propiedades filmogénicas de los polisacáridos tipo pectina de la cáscara de xoconostle con la finalidad de aprovechar este fruto que crece en climas áridos y semiáridos de nuestro país, muchas veces de forma silvestre. Lo cual coadyuvaría a valorar este fruto poco industrializado.

Capítulo 4

4. MATERIALES Y METODOLOGÍA

4.1. Materiales

Se utilizó polisacárido péctico extraído de la cáscara de xoconostle (*Opuntia* sp.) variedad Manzano, cosechado en Otumba estado de México. El xoconostle utilizado se obtuvo en el mes de marzo del 2010, el cual fue seleccionado de acuerdo a su estado de madurez comercial. El xoconostle fue cortado de forma transversal y posteriormente se realizó un corte longitudinal (Figura 4) en la parte media del mismo para extraer la pulpa.

Con la finalidad de inactivar enzimas que pudieran afectar la estructura del polisacárido extraído, se realizó un escalde o blanqueamiento de la cáscara del xoconostle, para esto se troceó en pequeños cubos de aproximadamente 0.5 cm por lado, para así obtener una mayor superficie de contacto. La cáscara en forma de cubos fue colocada en un lienzo de tela organza sobre un baño de agua en ebullición (escalde con vapor) durante 20 minutos, procurando mover de forma homogénea los cubos de cáscara cada 4 minutos, transcurridos los 20 minutos los trozos se enfriaron a temperatura ambiente y se conservaron en congelación para su uso posterior.



Figura 4. Corte longitudinal de los frutos de xoconostle usados en este estudio

Para la elaboración de las películas se usaron gelana de bajo acilo grado alimentario (Kelcogel, Kelco, lote #4E0783A), Glicerol anhidro (J.T. Baker, 616C65), Tween 80 (Merck), Cloruro de calcio perlas (J.T. Baker, 91%, C19622) y cera de candelilla donada por el Instituto de la candelilla (Candelilla Real® 7833, Multiceras, Monterrey, México).

4.2. Extracción de polisacárido péctico de la cáscara de xoconostle

La extracción de polisacáridos pécticos se realizó usando cáscaras de xoconostle escaldadas y congeladas. El proceso de extracción fue una modificación del llevado a cabo por Lira-Ortíz (2009), el cual se efectuó en medio acuoso, mediante procesos discontinuos a nivel tanque agitado de 5 L con un volumen de operación de 3 L (Figura 5). Se usó una relación cáscara húmeda/medio acuoso de 30g/100 mL, utilizando agua destilada durante el proceso. El proceso consistió en dos etapas. La primera se realizó a 70 °C durante 2 horas con 350 rpm de agitación y sin control de pH. Concluido el tiempo de esta etapa, las cáscaras en suspensión se separaron desechando el extracto, éstas fueron re-suspendidas en una solución acuosa de EDTA con una concentración de 0.5% (p/v) a 70 °C durante 2 horas, a 350 rpm (pH de la mezcla=4.01). El residuo agotado se separó de la solución acuosa filtrando a través de un lienzo de organza, los polisacáridos extraídos se recuperaron del medio de extracción utilizando etanol frío al 96% v/v en una relación 1:1.5 extracto filtrado-etanol (Figura 6a).



Figura 5. Proceso de extracción fraccionada de polisacáridos pécticos en tanque agitado.

El polisacárido precipitado se separó de la solución acuosa filtrando ésta con tela de organza doblada. Se obtuvo un precipitado de apariencia esponjosa (Figura 6b), al cual se le realizaron varios lavados con etanol, hasta deshidratar el polímero (Figura 6c). Posteriormente se secó en un horno con convección a 45 °C durante 24 horas. El polisacárido seco (Figura 7a) se trituró en un mortero hasta formar un polvo fino (Figura 7b) y se almacenó bajo resguardo de humedad, para su posterior uso en la elaboración de películas comestibles. El rendimiento de extracción fue de 5.43% base seca.



Figura 6. Recuperación del polisacárido péctico de xoconostle del medio de extracción a) precipitación con etanol, b) polisacárido recuperado, c) lavado con etanol.

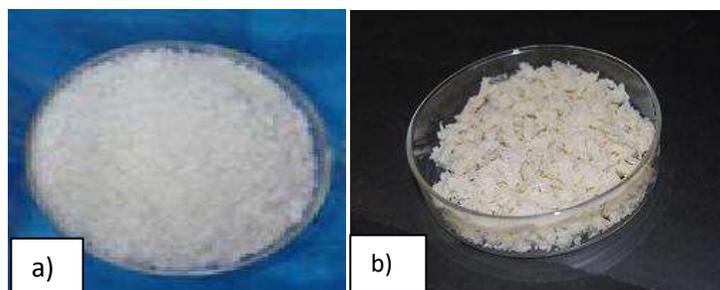


Figura 7. a) Polisacárido péctico húmedo de cáscara de xoconostle y b) Polisacárido péctico seco de cáscara de xoconostle.

4.3. Elaboración de películas biopoliméricas

Se formularon mezclas en medio acuoso de polisacárido péctico de xoconostle (0.4% p/p), gelana de bajo acilo (0.5% p/p), glicerol (1% p/p), Tween 80 (1% p/p) y

cera de candelilla (0, 0.1, 0.3 y 0.5% p/p). Las dispersiones se emulsificaron a 24000 rpm usando un homogenizador de alta cizalla (Polytron PT 2100, Kinematica) y calentando la mezcla hasta 75 ± 2 °C. La cera se adicionó fundida y mezclada con el Tween 80. Para promover la gelificación de los polisacáridos, se adicionó al finalizar la emulsificación, el volumen correspondiente de una solución de CaCl_2 60 mM para obtener una concentración final en la mezcla de 5 mM CaCl_2 . Las emulsiones se vertieron en moldes de vidrio diseñados para tal efecto (298x227x3 mm). Los geles obtenidos, después del enfriamiento de las dispersiones a temperatura ambiente, se secaron en un horno de convección a 45 °C durante 24 h. Transcurrido este tiempo las películas secas (Figura 8) se acondicionaron a 22 ± 2 °C y $54\pm 2\%$ de humedad relativa (HR) en un desecador con una solución saturada de $\text{MgN}_2\text{O}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ durante 48 h, previo a la evaluación de sus propiedades mecánicas y de transferencia de masa. En el Cuadro 6 se describe la formulación de cada tratamiento experimental.

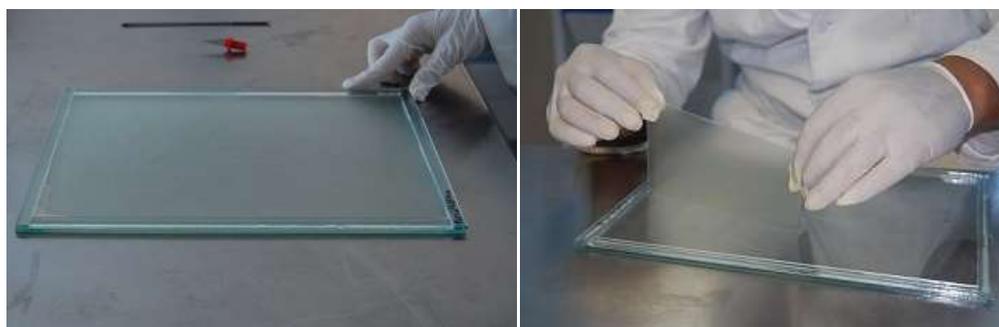


Figura 8. Desmolde de películas elaboradas con polisacárido péctico de xoconostle, gelana, glicerol y cera de candelilla.

Cuadro 6. Formulación de los distintos tratamientos evaluados en este trabajo (% p/p)

Tratamiento	PPX	Gelana	Glicerol	Tween 80	Cera candelilla
Testigo	0.4	0.5	1	1	0.00
T1	0.4	0.5	1	1	0.10
T2	0.4	0.5	1	1	0.30
T3	0.4	0.5	1	1	0.50

PPX: polisacárido péctico de xoconostle.

4.4. Evaluación de propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas de las películas se evaluaron en una máquina de pruebas mecánicas SINTECH 1/S (MTS, USA) con una celda de carga de 100 N. Estas pruebas se realizaron en el Laboratorio de Reología y Propiedades Mecánicas de Materiales del Depto. de Alimentos y Biotecnología de la Facultad de Química de la UNAM. Se llevaron a cabo pruebas de tensión uniaxial a temperatura ambiente (25 °C) de acuerdo al método estándar de la ASTM D882-91 (ASTM D882, 2003). Las películas previamente acondicionadas se cortaron en listones de 8 cm de largo por 1 cm de ancho, los cuales se sujetaron a las mordazas de tensión en la máquina de pruebas mecánicas, usando una separación entre mordazas de 5 cm. La velocidad de extensión fue de 150 mm/min. Se probaron de 9 a 12 muestras por cada formulación de película. A partir de los datos fuerza-tiempo proporcionados por el software del equipo, se calcularon los siguientes parámetros:

Incremento en la longitud de la película en cada instante de tiempo:

$$\Delta L(t) = vt \quad (3)$$

En donde v es la velocidad de separación de las mordazas y t es el tiempo. La deformación de Cauchy (ϵ_C) se determinó con la Ecuación 4.

$$\epsilon_C = \frac{\Delta L}{L_0} \quad (4)$$

En donde L_0 es la longitud inicial de las películas (5 cm). El porcentaje de elongación de las películas se determinó como el valor de ϵ_C , expresado en %, en el punto de fractura.

Partiendo de los datos experimentales el área transversal inicial (A_0) de la película se determinó el área transversal ($A(t)$) en cada instante de tiempo, considerando volumen constante de la muestra:

$$A(t)L = (A_0)(L_0) = \text{Volumen} \quad (5)$$

$$A(t) = \left[\frac{(A_0)(L_0)}{L} \right] \quad (6)$$

En donde L es la longitud total de las películas en cada instante de tiempo:

$$L = vt + L_0 \quad (7)$$

El esfuerzo verdadero se calculó como:

$$\sigma_V = \frac{F(t)}{A(t)} \quad (8)$$

Y la deformación verdadera o deformación de Hencky se determinó con la Ecuación (9):

$$\varepsilon_H = \int_{L_0}^L \frac{dL}{L} = \ln \left[\frac{L}{L_0} \right] \quad (9)$$

En todos los ensayos de tensión, se analizaron los datos de fuerza-tiempo para generar los respectivos esfuerzo verdadero (σ_V) y deformación de Hencky (ε_H), éstos son parámetros normalizados que suprimen el efecto de diferencias en el área transversal y longitud inicial de las muestras. Las propiedades mecánicas que se consideraron para caracterizar las películas de PPX-gelana-cera candelilla fueron:

- a) Esfuerzo de fractura en la extensión (σ_f): valor de esfuerzo verdadero en el momento de la fractura del material.
- b) Porcentaje de elongación: incremento de la longitud de la película al instante de la fractura, expresado en porcentaje.
- c) Módulo de Young (EM): pendiente inicial (zona lineal) de la gráfica esfuerzo-deformación. Este valor se determinó a través del ajuste de los datos experimentales de esfuerzo y deformación a una función polinomial cúbica de la forma:

$$\sigma_V = a_0 + a_1\varepsilon + a_2\varepsilon^2 + a_3\varepsilon^3$$

A partir de regresión no lineal usando el programa Sigma Plot® Ver. 11, se determinó el valor de “ a_1 ”, el cual se consideró como el módulo de Young, de acuerdo a lo sugerido en la literatura para materiales con zona lineal estrecha (Gunasekaran y Ak, 2003).

4.5. Evaluación de las propiedades de transferencia de masa

4.5.1. Permeabilidad al vapor de agua

La permeabilidad al vapor de agua (PVA) se determinó usando el método gravimétrico estándar ASTM E96-00 (ASTM E96, 2003), el cual consiste en evaluar la tasa de ganancia de masa de agua en la película en función del tiempo. Se usaron frascos de vidrio (59.2 mm de largo, 42.56 mm diámetro) con gel sílica como agente absorbente (0% HR), dejando un espacio libre de 1.6 a 1.8 cm sobre la superficie del frasco. Esta medición se realizó con un vernier y se registró para el análisis posterior de los resultados. Los frascos preparados con sílica gel se secaron en estufa a 100 °C durante al menos 24 horas. Las películas acondicionadas en temperatura y humedad relativa (22±2 °C, y 54±2% HR) se colocaron sobre la apertura de los frascos preparados con sílica gel, sellando la película al frasco con silicón líquido frío, como se muestra en la Figura 9. Los frascos preparados con las películas se pesaron (peso inicial) y se colocaron en una cámara ambiental (SHEL LAB, Modelo HC3OR) pre-acondicionada a 75±2% HR y 23±2 °C (Figura 10). Periódicamente, los frascos preparados con las películas fueron extraídos cuidadosamente de la cámara ambiental, usando un desecador acondicionado a 75% HR con una solución acuosa saturada de NaCl, se pesaron rápidamente en una balanza analítica (OHAUS Adventure AR1530) y se regresaron a la cámara ambiental, usando el desecador acondicionado a 75% HR para transportarlos. Estas determinaciones se realizaron a intervalos de 60 minutos durante 8 horas. Se hicieron cuatro determinaciones por cada formulación de película. Los datos de ganancia en peso *versus* tiempo fueron analizados como se muestra en el Anexo I.

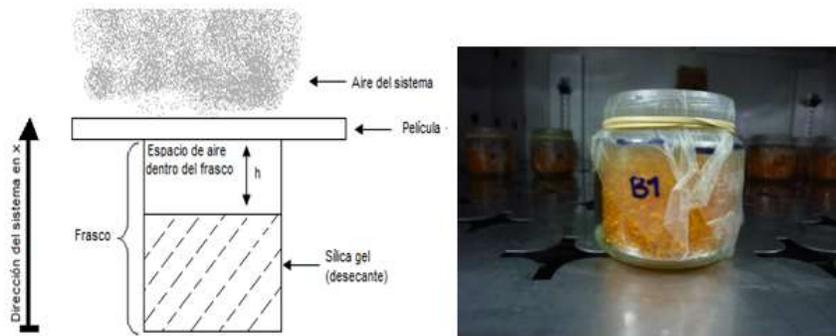


Figura 9. Sistema usado para la determinación de la permeabilidad al vapor de agua en las películas.



Figura 10. Películas ensambladas en frascos con agente absorbente, y colocadas en cámara ambiental para la determinación de la permeabilidad al vapor de agua por el método gravimétrico.

4.5.2. Permeabilidad al oxígeno

La permeabilidad al oxígeno (PO_2) se determinó a través del método manométrico ASTM D1434 (ASTM D1434-32, 1998) en un equipo de permeabilidad a gases (Labthink, Modelo VAC 2, China) (Figura 11). Las películas previamente acondicionadas (22 ± 2 °C y $54 \pm 2\%$ HR) se cortaron en forma circular, diámetro 8.5 cm, con un accesorio del equipo de permeabilidad a gases (Figura 12). Las películas cortadas se colocaron entre la cámara de alta y baja presión del equipo (Figura 11c). Sobre una pieza circular de papel filtro se colocó cada película y se cerraron las cámaras con una abrazadera. Con una bomba de vacío acoplada al

equipo de permeabilidad se generó vacío en la cámara de baja presión. Se inyectó oxígeno grado investigación (34161, INFRA®) a 101.3 kPa a través de la cámara de alta presión. Bajo el gradiente de presión generado, el oxígeno permea a la cámara de baja presión a través de la película y el equipo registra la presión de la cámara de baja presión durante el tiempo que dura la prueba. A partir de estos datos se determinó la velocidad de transmisión del gas y los valores de difusividad y permeabilidad de las películas. En el Anexo II se muestra el análisis de resultados. Se usaron 6 películas de cada formulación para la determinación de PO_2 .

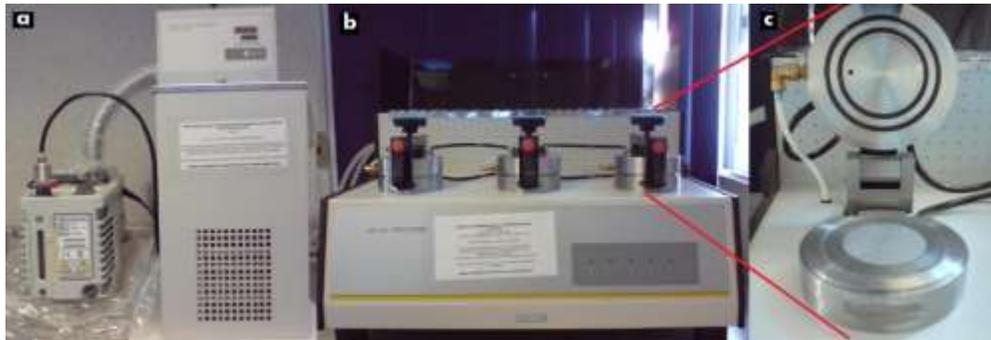


Figura 11. (a) Recirculador con control de temperatura y bomba de vacío acoplados (b) Equipo de permeabilidad VAC-2 Labthink. (c) Cámara de permeabilidad del equipo VAC-2 con una película instalada previo a su determinación de permeabilidad (Terrazas-Hernández, 2011).



Figura 12. Cortador de películas (Labthink, China).

4.6. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos en las propiedades mecánicas y de transferencia de masa fueron examinados por medio de un análisis de varianza (ANOVA) a fin de determinar diferencias significativas entre las formulaciones. Se usó la prueba de comparación múltiple de medias LSD para determinar diferencias significativas a un nivel de significancia de $\alpha=0.05$.

Capítulo 5

5. RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1. Propiedades mecánicas

En el Cuadro 7 se presentan los valores promedio de las propiedades mecánicas evaluadas en las películas. El espesor de las películas fue de 54 a 88 μm , sin diferencia significativa entre los tratamientos. El esfuerzo máximo a la fractura (σ_f) en pruebas de tensión disminuyó significativamente con la inclusión de cera de candelilla (CC) en la formulación. Sin embargo, aunque el esfuerzo a la fractura disminuyó al incrementar la concentración de CC, no fue estadísticamente significativo el decremento. La deformación máxima a la fractura (ϵ_f) sólo disminuyó significativamente en las películas con 0.5% CC, esta disminución fue cercana al 45% con respecto al tratamiento T1, el cual presentó la máxima deformación a la fractura. El módulo de Young (EM), que caracteriza la rigidez de las películas, sigue una tendencia de descenso significativo con el incremento de CC. Sin embargo, al aumentar la concentración de CC hasta 0.5%, contrario a lo esperado, se observa mayor rigidez comparado con los tratamientos T1 y T2, y estadísticamente igual al tratamiento testigo. El porcentaje de elongación (E) que presentaron las películas previo a su fractura, tiene una tendencia a disminuir con el incremento de CC, pero estadísticamente sólo el tratamiento con mayor concentración de CC (T3) fue diferente e inferior en ~46%, tomando como referencia T1 el cual mostró el valor mayor de elongación.

Se ha reportado que la incorporación de ciertos materiales lipídicos en películas hidrofílicas tiene un efecto adverso en las propiedades mecánicas y ópticas, aunque pueden mejorar las propiedades de barrera a la humedad (Yang y Paulson, 2000). En películas a base de caseinatos, a las cuales se les ha incluido cera de abeja o mezclas cera de abeja-ácido oleico, se ha reportado que la adición

de estos lípidos a la matriz estructural de caseinato, reduce los valores de esfuerzo a la fractura y de los módulos de Young, e incrementa la elongación de las películas (Fabra *et al.*, 2010). También se ha reportado que el estado físico de los lípidos, el tipo de cristal que forman en estado sólido, sus propiedades viscoelásticas y la estructura que adoptan en las películas afectan las propiedades mecánicas de éstas (Shellhamer *et al.*, 1997; Bósquez-Molina, 2003). Las ceras han generado en películas a base de caseinatos y aislado de proteína de suero, un incremento en los valores de esfuerzo a la fractura y módulo de Young cuando éstas se usan en proporciones altas (>40% bs), es decir incrementan la rigidez de las películas disminuyendo su capacidad de estiramiento (valores menores de elongación) (Pérez-Gago y Krochta, 2001; Fabra *et al.*, 2008).

Cuadro 7. Propiedades mecánicas de películas elaboradas con polisacárido péctico de xoconostle (0.4%), gelana (0.5%), glicerol (1%) y cera de candelilla en distintas concentraciones. Valores promedio \pm desviación estándar (n=5). Tensión uniaxial ($v_e=150$ mm/min).

Muestra	Espesor (mm)	σ_f (MPa)	ϵ_f	EM (MPa)	E (%)
Testigo	0.064 \pm 0.005a	12.251 \pm 2.067b	0.159 \pm 0.034b	129.497 \pm 17.815c	17.354 \pm 4.075b
T1*	0.070 \pm 0.012a	8.680 \pm 1.590a	0.177 \pm 0.049b	100.728 \pm 17.629b	18.703 \pm 4.642b
T2	0.088 \pm 0.007a	7.229 \pm 1.317a	0.163 \pm 0.029b	78.526 \pm 13.877a	17.728 \pm 3.384b
T3	0.054 \pm 0.005a	6.088 \pm 0.095a	0.097 \pm 0.015a	126.677 \pm 16.950c	10.154 \pm 1.700a

*T1: 0.1 % Cera candelilla (CC); T2: 0.3% CC; T3: 0.5% CC.

σ_f : esfuerzo a la fractura; ϵ_f : deformación de la película en el punto de fractura; EM: módulo de Young; E: elongación. Letras distintas (a, b, c, d) en las columnas indican valores significativamente diferentes (ANOVA, seguida de comparación de medias, prueba LSD; $p<0.05$).

En las películas evaluadas en el presente trabajo de investigación, la presencia de cera de candelilla en cantidades del 11 al 33% en base seca (T1 y T2, respectivamente) debilitó a las películas sin efecto significativo en su deformabilidad (% elongación). Sin embargo, concentraciones en base seca del 55% de cera de candelilla (T3) generó películas más rígidas, comparables incluso con el tratamiento testigo (sin cera). Este comportamiento es similar a lo reportado por otros autores que han estudiado el efecto de la inclusión de ceras naturales en

las propiedades de películas biopoliméricas (Yang y Paulson, 2000; Pérez-Gago y Krochta, 2001; Fabra *et al.*, 2008). A diferencia de los ácidos grasos como el ácido oleico, que fluye a temperatura ambiente favoreciendo la flexibilidad y deformabilidad de la película, las ceras son sólidas y generan una fase dispersa más rígida en las películas, reduciendo su deformabilidad (Fabra *et al.*, 2008). Este efecto es más evidente cuando la concentración de cera en las películas es proporcionalmente alta. Fabra *et al.* (2008) lo observaron cuando la concentración de cera de abeja en sus películas fue mayor al 40% y en películas con proteína de suero-cera de abeja fue notorio en aquéllas con 60% de cera en base seca (Pérez-Gago y Krochta, 2001). Mientras que en películas con ácido oleico como material lipídico, el incremento de la concentración de éste genera una progresiva reducción en σ_f y EM (Yang y Paulson, 2000; Fabra *et al.*, 2008; Vargas *et al.*, 2009).

En el Cuadro 8 se presentan algunos datos de propiedades mecánicas en películas biopoliméricas con ceras o lípidos en su composición. Es importante resaltar, que las propiedades mecánicas dependen fuertemente de las condiciones experimentales como son: la velocidad de extensión, las condiciones ambientales y de acondicionamiento, y el análisis de datos. Por lo tanto, la comparación de resultados entre los diferentes grupos de investigación debe ser conservadora.

Las películas estudiadas en este trabajo presentaron valores de esfuerzo a la fractura bajo condiciones de tensión en el mismo orden de magnitud e incluso ligeramente superiores a los reportados para películas de caseinato de sodio con cera de abeja (Fabra *et al.*, 2008); caseína ácida-cera de candelilla y caseína ácida-cera de carnauba (Chick y Hernández, 2001), aislado de proteína de suero-cera de abeja (Pérez-Gago y Krochta; 2001). Se observa en el Cuadro 8 que las películas elaboradas con proteína de soya y ceras naturales son más débiles de acuerdo a los valores de esfuerzo a la fractura. Mientras que las películas de quitosano-ácido oleico (Vargas *et al.*, 2009) y gelana-cera de abeja (Yang y

Paulson, 2000) presentaron valores de σ_f muy cercanos a los obtenidos en el presente trabajo de investigación.

Con relación al módulo de Young (EM) que representa la rigidez de la película, es importante resaltar que no todos los trabajos, de películas con lípidos en su composición, lo reportan. En la mayoría de los reportes que incluyen EM, la metodología para su determinación no es clara. En el presente trabajo se usó una regresión no lineal para obtener la pendiente en la zona lineal de esfuerzo-deformación (ver materiales y métodos). Esta zona es muy estrecha y es difícil obtener la pendiente, posiblemente esto sea un factor limitante para reportar dicho valor con poca varianza. Comparando los resultados de este trabajo con los resumidos en el Cuadro 7, las películas con polisacárido de xoconostle-gelana-cera de candelilla son menos rígidas que las obtenidas con proteína de suero-cera de abeja (Pérez-Gago y Krochta, 2001), quitosano-ácido oleico (Vargas *et al.*, 2009) y caseinatos-cera de abeja (Fabra *et al.*, 2008); comparables con algunas elaboradas con caseinato-ácido oleico (Fabra *et al.*, 2008), proteína de suero lácteo-cera de abeja (Min *et al.*, 2009) y proteína de soya-mezclas de ácido oleico con cera de abeja (Monedero *et al.*, 2009).

El porcentaje de elongación (E) que se ha reportado en películas con lípidos (Cuadro 8) muestra un decremento con la incorporación de los componentes lipídicos (Yang y Paulson, 2000; Chick y Hernández, 2001; Pérez-Gago y Krochta, 2001; Fabra *et al.*, 2008 y Monedero *et al.*, 2009). El porcentaje de elongación de las películas de este estudio va del 10-19%, inferior a los valores reportados para películas con ácido oleico (Fabra *et al.*, 2008), elaboradas a base de caseína ácida (Chick y Hernández, 2001) y películas laminadas (Sobral *et al.*, 2008; Min *et al.*, 2009). Comportándose entonces dentro de los rangos reportados por Monedero *et al.*, (2009), quienes aplicaron en sus formulaciones cera de abeja.

Cuadro 8. Propiedades mecánicas de algunas películas biopoliméricas con ceras naturales y/o ácidos grasos en su composición

Película	Condiciones de prueba	Espesor (mm)	σ_f (MPa)	EM (MPa)	E (%)	Referencias
Gel/Gli/CA 2%Gel/4% Gli (bh) CA: 0, 7.5, 14.3, 20, 25% de sólidos de película. Emulsiones, preparación por vaciado en placa. Secado a 40 °C, 48 h.	ASTM D882-3. Máquina Universal Instron (4502, Instron Corp.).Tiras de 25x80 mm, pre- acondicionadas a 54% HR. $v_e=300$ mm/min		0%CA: 29 7.5%CA: 22.5 14.3%CA: 20.5 20%CA: 17.5 25%CA: 15	NR	0%CA: 33.5 7.5%CA: 32 14.3%CA: 33 20%CA: 30.5 25%CA: 32.5	Yang y Paulson 2000
ACa/Sor/CC (% bs) 50% ACa 35-40% Sor 10, 15% CC Emulsiones, preparación por vaciado en placa. Secado a 23±2 °C, 50±5% HR.	ASTM D882-3. Máquina Universal Instron (4201, Instron Corp.).Tiras de 25x80 mm, acondicionadas a 50±5% HR y 23±2 °C $v_e=500$ mm/min.		10%CC:5.2±1.4 15%CC: 8.3±2.5	NR	10%CC: 71±26 15%CC: 37±12	Chick y Hernández, 2001
ACa/Sor/Cn (% bs) 50% ACa 35-40% Sor 10, 15% Cn Emulsiones, preparación por vaciado en placa. Secado a 23±2 °C, 50±5% HR.	ASTM D882-3. Máquina Universal Instron (4201, Instron Corp.).Tiras de 25x80 mm, acondicionadas a 50±5% HR y 23±2 °C $v_e=500$ mm/min.		10%Cn:6.0±0.9 15%Cn: 7.9±0.4	NR	10%Cn: 55±21 15%Cn: 31±5	Chick y Hernández, 2001

WPI/Gli/CA (% bh) 10/3.3/2 10/3.3/6 Emulsiones, preparación por vaciado en placa. Secado a 40 °C, 40% HR.	ASTM D882-97. Máquina Universal Instron (1122, Instron Corp.).Tiras de 15x100 mm, acondicionadas a 53% HR, 23 °C, 48 h, $v_e=50$ mm/min.	0.130 a 0.200	8-10.5 (10/3.3/2) 3.5-5 (10/3.3/6)	500-550 (10/3.3/2) 380-430 (10/3.3/6)	2.9-5 (10/3.3/2) 1.2-3 (10/3.3/6)	Pérez-Gago y Krochta, 2001.
NaCas/Gli/AO (proporción bs) 1:0.3:AO AO: 0-0.75 Emulsiones, preparación por vaciado en placa. Secado a 20 °C, 45% HR, 24 h.	ASTM D882. Máquina Universal (TA:XTplus, Stable Micro Systems).Tiras de 25x100 mm, pre-acondicionadas a 58% HR, 5 °C durante 4 días. $v_e=50$ mm/min	NR	14.4±0.6 (1:0.3:0) 5.5±0.5 (1:0.3:0:0.25) 2.9±0.3 (1:0.3:0:0.5) 1.8±0.2 (1:0.3:0:0.75)	850±10 (1:0.3:0) 169±15 (1:0.3:0:0.25) 84±13 (1:0.3:0:0.5) 41± 6 (1:0.3:0:0.75)	4±0.6 (1:0.3:0) 32±4 (1:0.3:0:0.25) 28±2 (1:0.3:0:0.5) 24± 5 (1:0.3:0:0.75)	Fabra <i>et al.</i> , 2008
NaCas/Gli/CA (proporción bs) 1:0.3:AO AO: 0-0.75 Emulsiones, preparación por vaciado en placa. Secado a 20 °C, 45% HR, 24 h.	ASTM D882. Máquina Universal (TA:XTplus, Stable Micro Systems).Tiras de 25x100 mm, pre-acondicionadas a 58% HR, 5 °C durante 4 días. $v_e=50$ mm/min	NR	14.4±0.6 (1:0.3:0) 2.8±0.7 (1:0.3:0:0.25) 3.2±0.2 (1:0.3:0:0.5)	850±10 (1:0.3:0) 193±37 (1:0.3:0:0.25) 222±9 (1:0.3:0:0.5)	4±0.6 (1:0.3:0) 3.5±0.7 (1:0.3:0:0.25) 5.2±1.3 (1:0.3:0:0.5)	Fabra <i>et al.</i> , 2008
SPI/Gli/CA (% bh) 5% SPI/2.5% Gli pH 10.5 Películas laminadas bicapa	NR	0.087±0.01 4	2.70±0.19	NR	197.9±23.4	Sobral <i>et al.</i> , 2008.

SPI/Gli/Cn (% bh) 5% SPI/2.5% Gli pH 10.5 Películas laminadas bicapa	NR	0.094±0.09	2.18±0.34	NR	177.6±33.6	Sobral <i>et al.</i> , 2008.
WPI/Gli/CA (proporción peso seco) 1:0.5:0.5 1:0.5:1 Secado a 23±2 °C, 35±5% HR, 32 h. Películas laminadas bicapa.	ASTM D882-01. Máquina Universal Instron (1122, Instron Corp.).Tiras de 8x50 mm, acondicionadas a 52±2% HR. $v_e=50$ mm/min.	NR	2.5-3.6	57-133	45-71	Min <i>et al.</i> , 2009.
SPI/Gli/AO-CA (% bh) 8:2.4:AO-CA Proteína:lípido =0.25 y 0.5 AO:CA=100:0; 95:5; 85:15; 70:30; 50:50; 30:70 y 0:100 Emulsiones, preparación por vaciado en placa. Secado a 20 °C, 45% HR, 24 h.	ASTM D882. Máquina Universal (TA:XTplus, Stable Micro Systems).Tiras de 25x100 mm, pre-acondicionadas a 58% HR, 20 °C durante 4 días. $v_e=50$ mm/min	0.099-0.113	3.1 1.3 4.8 4.8 3 1.8	90 40 270 350 105 50	30 25 15 8 33 26.5	Monedero <i>et al.</i> , 2009.
Qui/AO (1%p/p:1% v/p)	ASTM D-882, 2001.Tiras de 10x2.54cm, 58.8% HR, 5 °C, $V_{lu}=50$ mm/min,	0.054	18 ± 5	495 ± 282	15 ± 8	Vargas, <i>et al.</i> , 2009.

σ_T : Esfuerzo a la fractura o esfuerzo último en tensión, EM: Módulo de Young, E: elongación, Gel: Gelana, Gli: glicerol, CA: Cera de abeja, ACa: Caseína ácida, Sor: sorbitol, Cn: cera de carnauba, CC: cera de candelilla, NaCas: caseinato de sodio, AO: ácido oleico, SPI: aislado de proteína de soya, Qui: quitosano, WPI: aislado de proteína de suero lácteo; v_e : velocidad de extensión, NR: No reportado

5.2. Evaluación de las propiedades de transferencia de masa

5.2.1. Permeabilidad al vapor de agua

En el Cuadro 9 se presentan los valores promedio de las propiedades de transferencia de masa: permeabilidad al vapor de agua (PVA) y permeabilidad al oxígeno (PO_2) evaluadas en las películas de este trabajo. Contrario a lo esperado, el incremento en la concentración de cera de candelilla en las películas no causó cambios estadísticamente significativos en los valores de PVA. Aunque, estos valores se encuentran dentro de los rangos obtenidos por algunos autores en películas elaboradas con proteína de suero-cera de abeja (Pérez-Gago y Krochta, 2001), goma de mezquite-cera de candelilla (Bósquez y Vernon, 2005) y caseinato de sodio-cera de abeja (Fabra *et al.*, 2008; 2010) (ver Cuadro 10).

Cuadro 9. Permeabilidad de películas elaboradas a partir de polisacárido péctico de xoconostle (0.4%), gelana (0.5%), glicerol (1%) y cera de candelilla en distintas concentraciones. Valores promedio \pm desviación estándar.

Muestra	Espesor (mm)	PVA $\times 10^{12}$ (gmol m m^{-2} s $^{-1}$ Pa $^{-1}$)	Espesor (mm)	$PO_2 \times 10^{15}$ (gmol m m^{-2} s $^{-1}$ Pa $^{-1}$)
Testigo	0.075 \pm 0.011b	42.234 \pm 6.74a	0.066 \pm 0.008a	0.300 \pm 0.05 a
T1	0.075 \pm 0.003b	46.615 \pm 5.51a	0.071 \pm 0.012a	5.849 \pm 1.02 d
T2	0.080 \pm 0.005b	44.405 \pm 9.86a	0.079 \pm 0.009a	5.379 \pm 0.69 c
T3	0.065 \pm 0.004a	45.541 \pm 4.33a	0.069 \pm 0.009a	4.003 \pm 0.95 b

PVA: Permeabilidad al vapor de agua (n=4). PO_2 : Permeabilidad al oxígeno (n=6). Letras distintas (a, b, c, d) en las columnas indican valores significativamente diferentes (ANOVA, seguida de comparación de medias, prueba LSD; $p < 0.05$).

La no efectividad de la cera de candelilla en la disminución de la PVA de las películas a base de polisacárido péctico de xoconostle (PPX) y gelana, pudo deberse a distintos fenómenos, entre los más factibles de acuerdo a observaciones cualitativas y lo reportado en otras películas con ceras en su composición (Cuadro 10), están la dificultad de generar emulsiones estables. La

incorporación de la cera en las soluciones acuosas de polisacáridos fue complicada debido a que se debía incorporar la cera fundida, haciendo uso de alta cizalla y de un emulgente (Tween 80). Sin embargo, posiblemente la emulsión formada antes y después del proceso de secado no fue estable y no generó películas homogéneas. Algunos autores han reportado que la inclusión de ceras dificulta la dispersión del lípido en la matriz polimérica generando distorsiones o “defectos” en ésta que dan origen a espacios mayores en la microestructura de la película, lo cual favorece la difusión de agua gaseosa a través de ella (Donhowe y Fennema, 1993; Yang y Paulson, 2000; Chick y Hernández, 2001; Bósquez-Molina, 2003).

Otro factor importante es la cantidad de plastificante en la película. Está documentado que las moléculas usadas como plastificantes actúan incrementando los espacios intermoleculares entre cadenas poliméricas mejorando la flexibilidad de las películas (Guilbert y Gontard, 1995). Sin embargo, es posible que en las formulaciones usadas en este trabajo, el PPX esté actuando como plastificante disminuyendo la rigidez de los geles de gelana, los cuales se caracterizan por ser fuertes con una microestructura muy compacta (Rodríguez-Hernández *et al.*, 2003). Estudios que se realizaron en paralelo a este trabajo (Reyna-Jaen, 2011) mostraron que el polisacárido PPX tiene una fracción importante de proteína (>10%) y azúcares neutros (glucosa, ramnosa, xilosa, galactosa, arabinosa) que pudiesen formar ramificaciones en la estructura principal del polisacárido, como se ha reportado para polisacáridos pécticos extraídos de la cáscara de tuna (Reséndiz-Vega, 2010). De acuerdo a estos hallazgos, posiblemente el PPX actúe no sólo como reforzador polimérico sino que sus ramificaciones y la fracción de proteína presente pudiesen actuar, ya sea como rellenos o zonas de irregularidades en la matriz gelificada de gelana, o como polímero interpenetrado en la red de gelana, debilitando su estructura y generando una matriz polimérica menos compacta en donde las partículas sólidas de cera no estén homogéneamente distribuidas, por lo que su acción como barrera a la humedad se limita o incluso no se ejerce.

Cuadro 10. Permeabilidad al vapor de agua y al oxígeno de algunas películas biopoliméricas.

Película	Condiciones experimentales			PVA x10 ¹² (gmol m ⁻² s ⁻¹ Pa ⁻¹)	PO ₂ x 10 ¹⁵ (gmol m ⁻² s ⁻¹ Pa ⁻¹)	Referencia
	HR (%)	T (°C)	Espesor película (mm)			
Cera de parafina	0/100	25	NR	0.033	NR	Debeaufort y Voilley, 2009.
Cera de abeja	0/100	25	NR	0.011	NR	Debeaufort y Voilley, 2009.
Quitosano/AM	0	25	0.032	NR	77.47	Wong <i>et al.</i> , 1992
Gluten de trigo/Gli/CA	91	25	0.140	NR	688339	Gontard <i>et al.</i> , 1996
Gel/Gli/CA 29/14/57 Películas emulsionadas	54	24	0.090	NR	0.039	Yang, 1997
Gel/Gli/CA 2%Gel/4% Gli (bh) Películas emulsionadas	54	22±2	0.07-0.09	0% CA →23.15 7.5% CA →18.52 14.3% CA →13.88 20% CA→10.8	NR	Yang y Paulson, 2000.
ACa/Sor/candelilla (% bs) 50%/35%/15% Películas emulsionadas	0/50	37.8	0.111±0.009	0.377	0.00032	Chick y Hernández, 2001.
ACa/Sor/Carnauba (% bs) 50%/35%/15% Películas emulsionadas	0/50	37.8	0.111±0.009	0.600	0.00028	Chick y Hernández, 2001.
WPI/Gli/CA (% bh) 10/3.3/2 10/3.3/6	53	20	0.13-0.20	WPI/GLI/CA=60:20:20 19.25 - 38.58 WPI/GLI/CA=30:10:60 16.97 - 32.40	NR	Pérez-Gago y Krochta, 2001.

<p>Películas emulsionadas preparación por vaciado en placa. Secado a 40 °C, 40% HR.</p> <p>Metilcelulosa/AE 5% AE 40% AE</p>	0	25	0.193 0.200	<p>WPI/GLI/CA=60:20:20 15.43 – 27.00 WPI/GLI/CA=30:10:60 27.77 – 16.97</p> <p>NR</p>	3.34 9.0	Ayranci y Tunc, 2003
<p>Cera candelilla/Goma mezquite</p>	15/92		0.219±0.028	47.83	NR	Bósquez y Vernon 2005.
<p>Quitosano/Sorbitol</p>	65	27	----	0.2515	11359.8	Srinivasa <i>et al.</i> , 2006.
<p>NaCas/Gli/CA (proporción bs) (1:0.3:0.25) Películas emulsionadas preparación por vaciado en placa. Secado a 20 °C,45% HR, 24 h.</p>	58	5	0.10	40.12	NR	Fabra <i>et al.</i> , 2008.
<p>NaCas-CaCas/Gli/AO- CA</p>	58	5	NR	<p>AO:CA=50:50 46.3 a 61.7 AO:CA=70:30 23.15 a 61.7</p>	NR	Fabra <i>et al.</i> , 2010.
<p>SPI/Gli/CA (% bh) 5% SPI/2.5% Gli pH 10.5 Películas laminadas bicapa</p>	59	20	0.087	0.666	NR	Sobral <i>et al.</i> , 2008.
<p>SPI/Gli/Cn</p>	59	20	0.080	6.83	NR	Sobral <i>et al.</i> , 2008.

(% bh) 5% SPI/2.5% Gli pH 10.5 Películas laminadas bicapa SPI/Gli/Sf	59	20	0.094	4.22	NR	Sobral <i>et al.</i> , 2008.
(% bh) 5% SPI/2.5% Gli pH 10.5 Películas laminadas bicapa SPI/Gli/AO-CA	58	5	0.099 – 0.119	AO-CA (1:0.25) 60.02 - 61.72	NR	Monedero <i>et al.</i> , 2009.
(% bh) Proteína:lípido 1:0.25 y 1:0.5 Películas emulsionadas preparación por vaciado en placa.Secado a 20 °C, 45% HR, 24 h.				AO-CA (1:0.50) 55.55 – 61.72		

PVA: permeabilidad al vapor de agua, PO₂: permeabilidad al oxígeno T: Temperatura; HR: Humedad relativa; AM: monoglicéridos acetilados; AE: ácido esteárico; Gel: Gelatina, Gli: glicerol, CA: Cera de abeja, Aca: Caseína ácida, Sor: sorbitol, Cn: cera de carnauba, CC: Cera de candelilla, NaCas: caseinato de sodio, AO: ácido oleico, SPI: aislado de proteína de soya, Qui: quitosano, WPI: aislado de proteína de suero lácteo; CaCas: Caseinato de calcio,, NR: No reportado.

5.2.2. Permeabilidad al oxígeno

Con respecto a la permeabilidad al oxígeno, las películas evaluadas en el presente trabajo si presentaron diferencias significativas por efecto de la inclusión de cera de candelilla. En el Cuadro 9 se observa que la permeabilidad se incrementa en una orden de magnitud con respecto al testigo. Desafortunadamente, existen aún pocos reportes de permeabilidad al oxígeno de películas biopoliméricas compuestas a base de lípidos, debido posiblemente a que la técnica requiere instrumentación más precisa. En el Cuadro 10, el cual presenta películas con ceras y/o ácidos grasos en su composición, se observa que menos del 50% de los trabajos de investigación encontrados, principalmente en los últimos 10 años, no cuenta con datos de permeabilidad al oxígeno (PO_2). Resaltan los datos de las películas estudiadas por Chick y Hernández (2001), quienes reportan valores muy bajos, desproporcionados comparados con los datos para otras películas biopoliméricas, las cuales resultan muy permeables al oxígeno comparadas con las películas sintéticas.

Las permeabilidades al oxígeno de las películas PPX-Gelana-cera candelilla fueron similares en orden de magnitud a lo encontrado por Ayranci y Tunc (2003), para películas de metilcelulosa con lípidos. De igual forma, el incremento en la concentración de lípido generó un aumento en la permeabilidad al oxígeno en las películas, posiblemente por un efecto de incremento de solubilidad del mismo.

Con la finalidad de comparar los resultados de permeabilidad al oxígeno con aquellos de películas plásticas alimentarias, se llevaron a cabo determinaciones de PO_2 en películas de polipropileno (PP), bolsas de polietileno (PE) y películas metalizadas (PM), todas grado alimentario, comercializadas para empaquetar alimentos. Los datos se presentan en el Cuadro 11.

Cuadro 11. Permeabilidad al oxígeno de películas comerciales alimentarias. Determinaciones realizadas a 25 °C en el equipo de permeabilidad a gases VAC 2 (Labthink®, China).

Película	*PO ₂ x 10 ¹⁵ (gmol m ⁻² s ⁻¹ Pa ⁻¹)
Polietileno de baja densidad, grado alimentario	42.690
Polipropileno, grado alimentario	4.767
Película metalizada, grado alimentario	0.229

*PO₂: Permeabilidad al oxígeno

Las películas evaluadas en este trabajo de investigación fueron menos permeables al oxígeno, en una orden de magnitud, a las películas de polietileno de baja densidad y presentaron valores de PO₂ muy cercanos (T3 y T2) a los obtenidos para películas de polipropileno (Cuadro 11). Por otra parte, el tratamiento testigo de este trabajo (películas sin cera) presentó valores muy cercanos a los valores obtenidos para películas metalizadas, usadas para proteger alimentos susceptibles a la oxidación.

Por tanto, estas películas pueden ser utilizadas en el empaque de alimentos que deben protegerse del oxígeno como alimentos ricos en aceites esenciales, carnes procesadas (embutidos, carnes curadas, carnes ahumadas), salmón, quesos madurados, snacks, nueces, cacahuates, etc; ya que en estos productos la barrera al oxígeno debe ser lo suficiente para garantizar la vida útil deseada. Adicionalmente, estas películas pudiesen tener propiedades de barrera a otros gases como compuestos volátiles de aroma, lo cual las hace atractivas para seguir las estudiando.

Capítulo 6

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES PARA FUTURAS INVESTIGACIONES

6.1. Conclusiones

Se obtuvieron películas flexibles y de propiedades mecánicas adecuadas para ser usadas como empaques alimentarios comestibles. La adición de cera de candelilla a la formulación de las películas, en concentraciones del 11 al 55% en base seca, no tuvo un efecto significativo en las propiedades de permeabilidad al agua de las películas, debido posiblemente a la formación de estructuras complejas en donde las partículas sólidas de cera de candelilla no se encuentran homogéneamente distribuidas.

Fue difícil comparar los valores de permeabilidad al oxígeno de las películas evaluadas en este trabajo con lo reportado en la literatura, debido a que estos valores son muy sensibles a condiciones experimentales como temperatura, gradiente de presiones, espesor de películas y método usado para cuantificar el gas permeante. Los valores de permeabilidad al oxígeno de las películas fueron notoriamente inferiores a los reportados para películas a base de proteínas de trigo y de quitosano. Los valores de permeabilidad al oxígeno fueron similares a los presentados en películas de polipropileno e incluso películas metalizadas alimentarias (películas sin cera). Por lo tanto las películas formuladas con polisacáridos estructurales de xoconostle pueden ser una opción para valorarse como empaques alimenticios en productos susceptibles a la oxidación.

6.2. Recomendaciones para futuras investigaciones

Con base a los hallazgos de este trabajo de investigación se sugieren continuar las investigaciones en este tema debido a los beneficios a mediano plazo que resultarán del uso de materiales biodegradables comestibles. Entre los posibles temas que deberían abordarse están:

- Mejorar el método de emulsificación de las soluciones filmogénicas para la elaboración de las películas, podría hacerse uso de equipo de homogenización a través de altas presiones como el usado para homogenizar leche, para disminuir el tamaño de partícula (lípidos dispersos) y obtener una distribución homogénea de los componentes. Realizar también las mediciones pertinentes como distribución de tamaño de partícula y estabilidad de las emulsiones en función de las condiciones de preparación de las películas.
- Realizar observaciones a través de microscopía electrónica para conocer la distribución superficial de los componentes de la película o incluso la distribución interna a través de cortes transversales. Esto permitiría verificar si se forman o no regiones con coalescencia de lípidos y relacionar esta información con las propiedades de permeabilidad y mecánicas.
- Evaluar la funcionalidad de estas películas en sistemas alimenticios.

Capítulo 7

7. ANEXOS

ANEXO I

Permeabilidad al vapor de agua

La permeabilidad al vapor de agua (PVA) fue calculada de acuerdo con el método estándar ASTM E96 (ASTM E96, 2003), el cual consiste en evaluar la tasa de ganancia de masa de agua en la película en función del tiempo. Se usaron como "celdas de medición" frascos de vidrio de 59.2 mm de largo y 42.56 mm diámetro conteniendo gel sílica como agente absorbente (0% HR). La sílica se colocó dentro de cada uno de los frascos dejando un espacio libre de 1.6 a 1.8 cm (Figura 13). Las películas se colocaron en los frascos como se muestra en la Figura 14, usando silicón líquido para sellarlas a la boca del frasco.

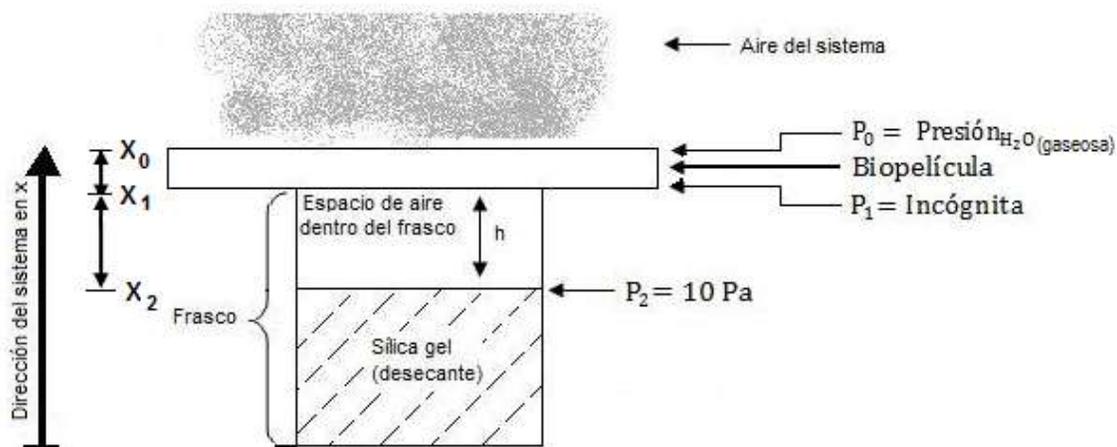


Figura 13. Diagrama de las celdas de medición usadas para determinar PVA en películas.



Figura 14. Celdas de medición con películas durante las pruebas de PVA.

Las celdas de medición con las películas se colocaron en una cámara ambiental acondicionada a 75% HR, 23 °C. El incremento de peso de las celdas de medición se evaluó periódicamente. Una gráfica de ganancia de peso *versus* tiempo se obtuvo en cada unidad experimental y se determinó la pendiente ($m = g/s$):

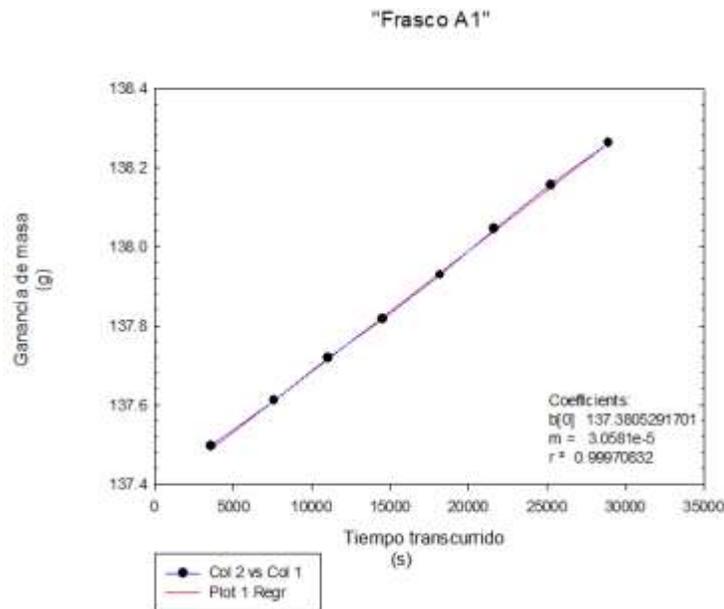


Figura 15. Ejemplo de gráfico de ganancia de peso en función del tiempo en las celdas de medición de PVA en las películas.

La pendiente en todas las unidades experimentales fue un valor constante en el intervalo de tiempo del experimento (8 h). Por lo tanto el análisis de datos para la transferencia de masa que se presenta a continuación se realizó en el estado estacionario (flux de masa constante).

El flux de masa de agua gaseosa (N_{H_2O} , g/(s·m²)) en cada unidad experimental se determinó con el valor de la pendiente, m (g/s) y el área de transferencia de masa, A (m²). La temperatura (23 °C) y la humedad relativa (HR, 75%) de la cámara ambiental permanecieron constantes durante el experimento.

$$N_{H_2O} = \frac{m}{A} \dots(10)$$

La presión del agua gaseosa a 23 °C se consultó en Tablas de vapor (Smith *et al.*, 2000), mientras que la presión parcial del vapor de agua en la cámara ambiental, P_0 (ver Figura 13) se obtiene multiplicando la presión del agua gaseosa a 23 °C, por la humedad relativa (HR) que existe en la cámara.

$$P_0 = P_{H_2O,23^\circ C} (0.75) \dots(11)$$

A partir de la Ley de Fick para la difusión de gases:

$$N_{H_2O} = \frac{D_{H_2O,P}}{RT} \frac{dP}{dx} \quad (12)$$

En donde:

N_{H_2O} es el flux molar de agua gaseosa

$D_{H_2O,P}$ es la difusividad de agua gaseosa a través del espesor (Δx) de la película

$\frac{dP}{dx}$ es el gradiente de presión parcial de agua gaseosa en el espesor de la película (X_1-X_0). Fuerza motriz para la transferencia de agua gaseosa a través de la película.

Para el cálculo de la difusividad de agua gaseosa en la película es necesario conocer los valores de presión parcial de agua en la superficie de la película en contacto con el aire estancado, P_1 . Por lo tanto se realizan los cálculos de P_1 en la capa de aire estancado de espesor h , conociendo el valor de la difusividad del

agua gaseosa en aire estancado, D_{H_2O} y la presión P_2 que se asume igual a 10 kPa, valor cercano a cero.

Para el cálculo de la presión P_1 (ver Figura 13), se parte de la consideración de que el aire estancado en el espacio libre dentro del frasco tiene comportamiento ideal. Por lo tanto la concentración de gases en el espacio de aire estancado es:

$$c = \frac{P_T}{RT} \dots(13)$$

En donde P_T es la presión atmosférica a las condiciones ambientales de la ciudad de Tulancingo, Hgo., la cual fue igual a 81.46 kPa.

La difusividad del agua en el aire estancado (D_{H_2O}) se calculó con la Ecuación 14 (Gennadios *et al.*, 1994), D_{H_2O} se expresa en cm^2/s .

$$D_{H_2O} = 0.26 \left[\frac{T}{298} \right]^{1.8} \dots(14)$$

La Ley de Fick, para el espacio de aire estancado (Figura 13) se reescribe:

$$N_{H_2O} = \frac{D_{H_2O} (P_1 - P_2)}{RT (x_2 - x_1)} \dots(15)$$

A partir de deducción propuesta por Bird (Bird *et al.*, 2003), ejercicio 17.2 “Difusión a través de una película gaseosa estancada”:

$$N_{H_2O} = D_{H_2O} \frac{P_T}{RT} \ln \frac{P_2}{P_1} \dots(16)$$

Donde P_T es la presión total del sistema. Despejando P_1 :

$$P_1 = \frac{P_2}{\text{EXP} \left[\frac{(N_{H_2O})(\Delta x)}{(P_T)D_{H_2O,P}} \right]} \dots(17)$$

La difusividad de agua gaseosa a través de la película se determina despejando $D_{H_2O,P}$ de la Ecuación 17, conociendo los valores de P_1 y P_0 , así como el flux de agua que atraviesa la película, N_{H_2O} .

$$N_{H_2O} = \frac{D_{H_2O,P}}{RT} \frac{(P_1 - P_0)}{\Delta x} \dots(18)$$

La permeabilidad de la película se determina con la Ecuación 19

$$N_{H_2O} = P \frac{(P_1 - P_0)}{\Delta x} \dots(19)$$

$$P = N_{H_2O} \frac{\Delta x}{(P_1 - P_0)}$$

ANEXO II

Permeabilidad al oxígeno

Las pruebas de permeabilidad al oxígeno se llevaron a cabo en el equipo VAC-V2 Permeability Tester (Labthink, China), el cual mide la tasa de transferencia del gas permeante a través de una película (principio manométrico ASTM D 1434). El equipo opera bajo las normas ISO 2556, ISO 15105-1, ASTM D1434, GB 1038, JIB K7126-A. La Figura 16 muestra un esquema del principio de operación del equipo. La película a evaluar se coloca entre dos cámaras selladas cuyas presiones son diferentes. Las moléculas de gas atraviesan la película desde la región de alta presión (cámara de alta presión) hasta la cámara de baja presión. El equipo detecta continuamente el cambio en la presión de la cámara de baja presión y se determina la velocidad de transmisión de gas a través de la película.

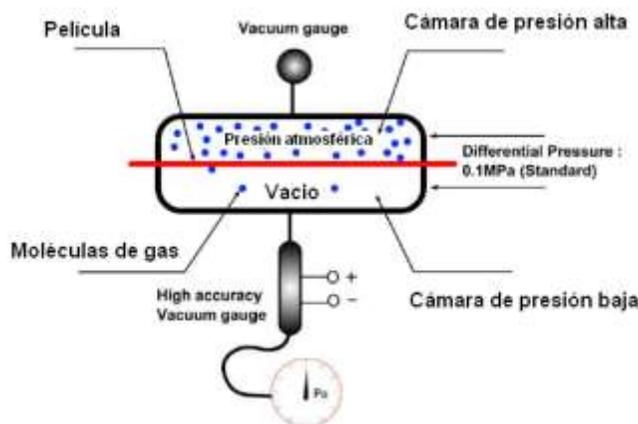


Figura 16. Esquema del funcionamiento del equipo Medidor de Permeabilidad de Gas, VAC 2 (Labthink, China).

Los cálculos para las determinaciones de permeabilidad al oxígeno se realizaron de forma manual, considerando los siguientes datos que reporta el equipo al finalizar la prueba:

- Presión en la cámara de alta presión (P_A)
- Presión inicial en la cámara de baja presión (P_{B0})
- Presión final en la cámara de baja presión (P_{Bf})
- y el tiempo transcurrido hasta el final de la prueba (t).

La temperatura (T) se controló a 25 °C usando un baño recirculador acoplado al equipo de permeabilidad.

Los parámetros que se mantienen constantes durante las pruebas de permeabilidad fueron:

La presión en la cámara de alta presión (P_A)= 101,325 Pa

El volumen de la cámara de baja presión (V_C)= 219 cm³

Área de transferencia (A)= 38.48 cm²

El Cuadro 12 muestra, a manera de ejemplo, los datos experimentales de las determinaciones en las películas T2. El equipo reporta una gráfica de la evolución de la presión de la cámara de baja presión con respecto al tiempo. En la Figura 17 se reproduce la gráfica experimental de una de las determinaciones en las películas T2. Se puede observar que el tiempo transcurrido en esta prueba fue de 479 s, reportando una P_{B0} de 0.82 Pa y una P_{Bf} de 119.18 Pa.

Cuadro 12. Datos experimentales en la prueba de permeabilidad al oxígeno para las películas T2¹.

RÉPLICA	Espesor (m)	P_{B0} (Pa)	P_{Bf} (Pa)	Tiempo (s)
1	7.32E-05	0.27	69.32	186
2	6.83E-05	0.55	80.55	201
3	8.58E-05	0.82	119.18	479
4	9.17E-05	0.41	105.62	431
5	7.17E-05	0.55	99.45	290
6	8.35E-05	0.27	81.64	340

¹ Polisacárido de xoconostle=0.4% p/p; gelana=0.5% p/p; glicerol= 1% p/p; Tween 80 = 1%; Cera de candelilla= 0.30%

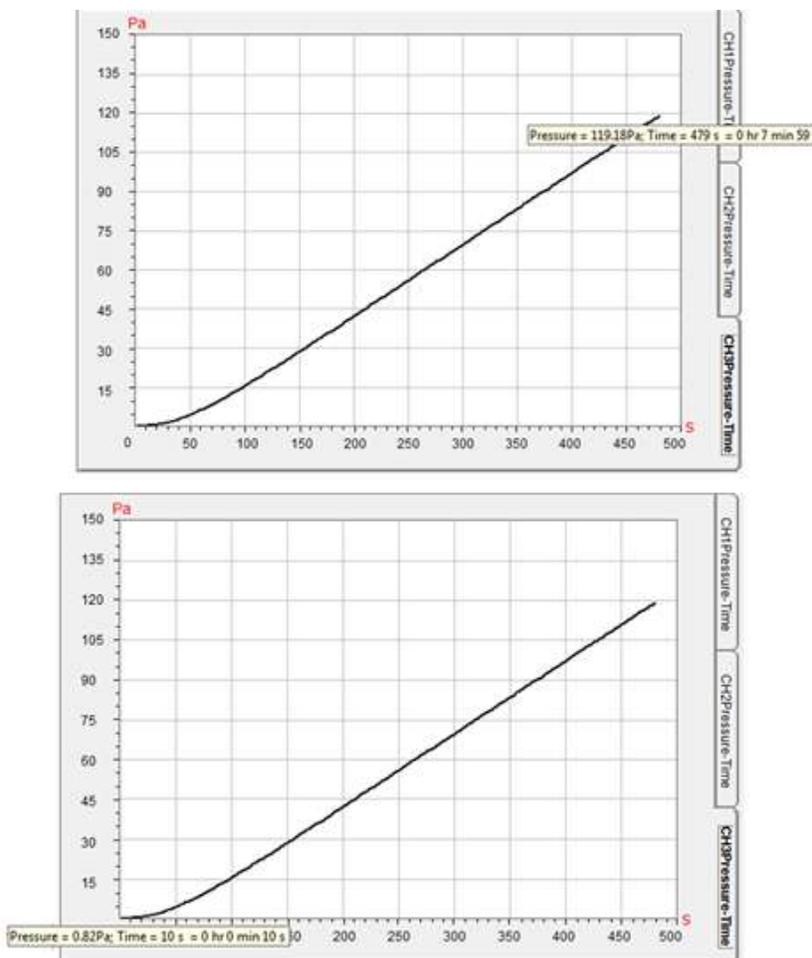


Figura 17 Datos experimentales de presión detectada en la cámara de baja presión a lo largo del tiempo en pruebas de permeabilidad al oxígeno en muestras de películas T2 (réplica 3).

A partir de la Ley de Fick para la difusión:

$$N_{O_2} = D_{O_2P} \frac{dc}{dx} \quad (20)$$

En donde:

N_{O_2} es el flux molar de oxígeno

D_{O_2P} es la difusividad de oxígeno en la película

$\frac{dc}{dx}$ es el gradiente de concentración molar de oxígeno en el espesor de la película

Considerando comportamiento de gas ideal del oxígeno, la concentración molar de oxígeno se calcula con la Ecuación 22:

$$n = \frac{PV}{RT} \dots(21)$$

En donde:

n es el número de moles de oxígeno que permean la película

P es la presión que se registra en la cámara de baja presión

V es el volumen que ocupa el oxígeno (volumen de la cámara de baja presión, $V_C=2.19 \times 10^{-4} \text{ m}^3$)

R es la constante universal de los gases ideales ($=8.31434 \text{ m}^3 \text{ Pa gmol}^{-1} \text{ K}^{-1}$)

T es la temperatura absoluta ($=298.15 \text{ K}$)

Por lo tanto la concentración de oxígeno se determina:

$$c = \frac{n}{V} = \frac{P}{RT} \dots (22)$$

Sustituyendo 22 en la ecuación 20:

$$N_{O_2} = \frac{D_{O_2P}}{RT} \frac{dP}{dx} \dots (23)$$

Por lo tanto la difusividad de la película es:

$$D_{O_2P} = \frac{(RT)N_{O_2} \Delta x}{\Delta P_{\ln}} \quad (24)$$

En donde Δx es el espesor de la película y ΔP_{\ln} es un promedio logarítmico de las presiones definido de acuerdo a la Ecuación 25. Se hace uso de este promedio debido a que el gradiente de presión entre la cámara de alta y la de baja no es constante.

$$\Delta P_{\ln} = \frac{(P_A - P_{B0}) - (P_A - P_{Bf})}{\ln \left(\frac{(P_A - P_{B0})}{(P_A - P_{Bf})} \right)} \dots (25)$$

El flux molar de oxígeno que atraviesa la película se determina:

$$N_{O_2} = \frac{n_{O_2}}{(A)(t)} \dots (26)$$

El número de moles de oxígeno (n_{O_2}) que atraviesan la película es la diferencia entre los moles iniciales y finales que existen en la cámara de baja presión:

$$n_{O_2} = \frac{(P_{Bf} - P_{B0})V_C}{RT} \dots(27)$$

A es el área de transferencia, la cual es constante e igual a $38.48 \times 10^{-4} \text{ m}^2$, y t es el tiempo que dura el experimento. Considerando los datos experimentales para la réplica 3 de la película T2 (Cuadro 12):

$$n_{O_2} = \frac{(119.18 \text{ Pa} - 0.82 \text{ Pa})(2.19 \times 10^{-4} \text{ m}^3)}{(8.314 \text{ Pa m}^3 \text{ gmol}^{-1} \text{ K}^{-1})(298.15 \text{ K})} = 1.046 \times 10^{-5} \text{ gmol}$$

$$N_{O_2} = \frac{1.046 \times 10^{-5} \text{ gmol}}{(38.48 \times 10^{-4} \text{ m}^2)(479 \text{ s})} = 5.674 \times 10^{-6} \frac{\text{gmol}}{\text{m}^2 \text{ s}}$$

$$\Delta P_{\ln} = \frac{(101325 - 0.82) - (101325 - 119.18)}{\ln\left(\frac{(101325 - 0.82)}{(101325 - 119.18)}\right)} = 101264.98 \text{ Pa}$$

$$D_{O_2,P} = \frac{(8.314 \text{ Pa m}^3 \text{ gmol}^{-1} \text{ K}^{-1})(298.15 \text{ K})(5.674 \times 10^{-6} \text{ gmol m}^{-2} \text{ s}^{-1})}{(101,264.98 \text{ Pa})} (8.58 \times 10^{-5} \text{ m})$$

$$D_{O_2,P} = 1.191 \times 10^{-11} \frac{\text{m}^2}{\text{s}}$$

Para determinar el coeficiente de permeabilidad, P , se considera la Ley de Henry:

$$c = (S)(p) \dots(28)$$

Donde p es la presión parcial del gas permeante, c la concentración del gas y S es el coeficiente de solubilidad. El coeficiente de solubilidad está en función de la temperatura y puede ser una función de la presión de vapor (o concentración del permeante disuelto). Sustituyendo Ecuación 28 en Ley de Fick (Ecuación 20), considerando S constante:

$$N_{O_2} = D_{O_2,P} \frac{Sdp}{dx} \dots(29)$$

El coeficiente de permeabilidad incluye tanto las propiedades cinéticas como las propiedades termodinámicas del sistema polímero-permeante y representa a la

propiedad de transporte de masa global. El coeficiente de permeabilidad, P se relaciona con D y S de la siguiente forma:

$$P = (S)(D) \dots(30)$$

Por lo tanto, la Ecuación 29 en términos del coeficiente de permeabilidad se escribe:

$$N_{O_2} = D_{O_2P} \frac{Sdp}{dx} = P_{O_2P} \frac{dp}{dx} \dots(31)$$

De la Ecuación 31, la permeabilidad de la película queda definida:

$$P_{O_2P} = \frac{N_{O_2} \Delta x}{\Delta P_{ln}} \dots(32)$$

En donde, de forma análoga al cálculo de difusividad, el gradiente de presión, dp , se determina con un promedio logarítmico (Ecuación 25) y Δx es el espesor de la película.

Para el mismo ejemplo, réplica 3 de película T2, la permeabilidad es:

$$P_{O_2P} = \frac{N_{O_2}}{\Delta P_{ln}} \Delta x = \frac{(5.674 \times 10^{-6} \text{ gmol m}^{-2} \text{ s}^{-1})(8.58 \times 10^{-5} \text{ m})}{101,264.98 \text{ Pa}}$$

$$P_{O_2P} = 4.807 \times 10^{-15} \frac{\text{gmol m}}{\text{m}^2 \text{ s Pa}}$$

Capítulo 8

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allsopp, M., Walters, A., Santillo D. y Johnston. 2007. Contaminación en los océanos del mundo. Greenpace. pp 50.
- ASTM D1434-32, 1998. Standard Test Method for Determining gas permeability characteristics of plastic film and sheeting. Annual Book of ASTM. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.
- ASTM D882-91. 2003. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. Annual Book of ASTM. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.
- ASTM E96-00. 2003. Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials. Vol 4.06, 868-876.
- Ayranci, E., Tunc, S. 2003. A method for the measurement of the oxygen permeability and the development of edible films to reduce the rate of oxidative reactions in fresh foods. *Food Chemistry*, 80, 423-431.
- Avena-Bustillos, R.J.; Krochta, J.M. 1993. Water vapor permeability of caseinate-based edible films as affected by pH, calcium crosslinking and lipid content. *Journal of Food Science*, 58, 904-907.
- Baldwin, E.A., Nisperos-Carriedo, M.O, Baker, R.A. 1995. Use of edible coatings to preserve quality of lightly (and slightly) processed products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35, 509-524.
- Barry, C. 2008. Plastic Breaks Down in Ocean, After All And Fast. National Geographic News.
- Bird, B.R., Stewart, W.E. y Lightfoot, E.N. (2003). Fenómenos de Transporte, Capítulo 16: Difusividad y mecanismos del transporte de materia. Editorial Reverté, S.A. impreso en México. pp. 17-2 a 17-14.
- <http://news.nationalgeographic.com/news/2009/08/090820-plastic-decomposes-oceans-seas.html>. Último acceso: 27 de mayo de 2011.
- Bósquez-Molina, E., 2003. Elaboración de recubrimientos comestibles formulados con goma de mezquite y cera de candelilla para reducir la cinética de deterioro en fresco del limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka). Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana.
- Bósquez-Molina, E., Vernon Carter, E. J. 2005. Efecto de plastificantes y calcio en la permeabilidad al vapor de agua de películas a base de goma de mesquite y cera de candelilla. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 4, 157-162.
- Bourlieu, C., Guillard, V., Vallès-Pamiès, B., Gontard, N. 2008. Edible Moisture Barriers for Food Product Stabilization. En *Food Materials Science*, Springer, New York. Estados Unidos de América., pp 547-575.

- Chandrasekaran, R., Puigjaner, L. C., Joyce, K. L., y Arnott, S. 1988. Cation interactions in gellan: An X-ray study of the potassium salt. *Carbohydrate Research*, 181, 23-40.
- Cherry, J. P. 1999. Improving the Safety of Fresh Produce with Antimicrobials. *Food Technology*, 53, 54-59.
- Chick, J., Hernández, R.J. 2002. Physical, thermal and barrier characterization of casein-wax-based edible films. *Journal of Food Science*, 67, 1073-1079.
- Contreras-Esquivel, J.C., Espinosa-Pérez, J.D., Montañez, J.C., Charlez-Rodríguez, A.V., Renovato, J.; Aguilar, C.N., Rodríguez-Herrera, R., Wicker, L. 2007. Extraction and characterization of Pectin from novel sources. En *Advances in Biopolymers*, ACS Symposium Series, Vol. 935, American Chemical Society, 215-229.
- Dangaran K., Tomasula P.M. y Qi P. 2009. Structure and Function of Protein-Based: Edible Films and Coatings. En: *Edible Films and Coatings for Food Applications*. M. E. Embuscado, K. C. Huber (eds). Springer New York, Estados Unidos de América., pp 27-56.
- Debeaufort, F. , Quezada-Gallo, J.A., Voilley, A. 1998 Edible films and coatings: Tomorrow's packagings: A review. *Critical Reviews in Food Science*, 38, 299 – 313.
- Debeaufort, F., Voilley, A. 1997. Methylcellulose-based edible films and coatings: 2. Mechanical and thermal properties as a function of plasticizer content . *Journal of Agriculture and. Food Chemistry*. 45, 685-689.
- Debeaufort F. y Voilley A. 2009. Lipid-Based Edible Films and Coatings. En: *Edible Films and Coatings for Food Applications*. M. E. Embuscado, K. C. Huber (eds). Springer New York, Estados Unidos de América, pp 135-167.
- Donhowe, I.G., Fennema, O. 1993. The effects of plasticizers on crystallinity, permeability and mechanical properties of methylcellulose films. *Journal of Food Process Preservation*. 17, 247-258
- Fabra M.J., Talens P. y Chiralt A. 2008. Tensile properties and water vapor permeability of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures. *Journal of Food Engineering*, 85, 393-400.
- Fabra, M.J., Talens, P., Chiralt, A. 2010. Influence of calcium on tensile, optical and water vapour permeability properties of sodium caseinate edible films. *Journal of Food Engineering*, 96, 356–364.
- Fernández M. 2000. Review: Active food packaging. *Food Science and Technology International*, 6, 97-108.
- Fishman, M.L., Coffin, D.R. 1998. Mechanical, microstructural and solubility properties of pectin/polyvinyl alcohol blends. *Carbohydrate Polymers*, 35, 195-203.
- Fishman, M.L., Coffin, D.R., Konstance, P.; Onwulata, C.I. 2000. Extrusion of pectin/starch blends plasticized with glycerol. *Carbohydrate Polymers*, 41, 317–325.
- García, M.; Pinotti, A.; Martino, M. y Zaritzky, N. 2009. Characterization of Starch and Composite Edible Films and Coatings. En: *Edible Films and Coatings for Food Applications*. M. E. Embuscado, K. C. Huber (eds). Springer New York, Estados Unidos de América, pp 169-210.

- García-Pedraza, L.G., Reyes-Agüero, J.A., Aguirre-Riverra, J.R., y Pinos-Rodríguez J.M. 2005. Preliminary Nutritional and organoleptic assessment of xoconostle fruit (*Opuntia* spp.) as a condiment or appetizer. *Italian Journal of Food Science*, 17, 333-340.
- Ghosh, V., Ziegler, G.R., Anantheswaran, R.C. 2004. Fat, moisture, and ethanol migration through chocolates and confectionary coatings. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42, 583-626.
- Gontard, N., Thibault, R., Cuq, B., Guilbert, S. 1996. Influence of relative humidity and film composition on oxygen and carbon dioxide permeabilities of edible films. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 44, 1064-1069.
- Guilbert S, Gontard N. 1995. Edible and biodegradable food packaging. En: Ackermann P, Jägerstad M, Ohlsson T. (eds). *Foods and packaging materials—Chemical interactions*. Cambridge, U.K. The Royal Society of Chemistry.
- Guilbert, S., Gontard, N., Cuq, B. 2006. Technology and application of edible protective films. *Packaging Technology and Science*, 8, 339–346.
- Gunasekaran, S. y Ak, M. M. 2003. Fundamental Rheological Methods. En *Cheese Rheology and Texture*. CRC Press. Boca Raton, London, New York, Washington, D.C, 31-112.
- Hagenmaier, R. 2005. A comparison of ethane, ethylene and CO₂ peel permeance for fruit with different coatings. *Postharvest Biology and Technology*, 37, 56-64.
- Instituto de la Candelilla. <http://www.candelilla.org/> último acceso: 10 de agosto de 2010.
- Jansson, P., y Lindberg, B. 1983. Structural studies of gellan gum, an extracellular polysaccharide elaborated by *Pseudomonas elodea*. *Carbohydrate Research*, 124, 135-139.
- Jiménez, A., Fabra, M.J., Talens, P., Chiralt, A. 2010. Effect of lipid self-association on the microstructure and physical properties of hydroxypropyl-methylcellulose edible films containing fatty acids. *Carbohydrate Polymers*, 82, 585–593.
- Kester, J. J., Fennema, O. R. 1986. Edible films and coatings: A Review. *Food Technology*, 12, 47-59.
- Kester, J.J., Fennema, O.R. 1989. Resistance of Lipid Films to Water Transmission. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 66, 1139-1146.
- Koelsch, C.M.; Labuza, T.P. 1992. Functional, physical and morphological properties of methyl cellulose and fatty acid-based edible barriers. *Lebensm. Wiss. u. Technol.*, 25, 404-411.
- Kramer M.E. 2009. Structure and Function of Polysaccharide Gum-Based Edible Films and Coatings. En *Edible Films and Coatings for Food Applications*. M. E. Embuscado, K. C. Huber (eds). Springer New York, Estados Unidos de América, pp 57-112.

- León, P. A., Lamanna, M. E., Gerschenson, L. N., Rojas A. M. 2008. Influence of composition of edible films based on gellan polymers on L-(+)-ascorbic acid stability. *Food Research International*, 41, 667-675.
- Lin, D., Zhao, Y. 2007. Innovations in the Development and Application of Edible Coatings for Fresh and Minimally Processed Fruits and Vegetables. *Comprehensive Reviews of Food Science and Food Safety*, 6, 1541-4337.
- Lira-Ortiz A. L. 2009. Estudio químico y reológico de polisacáridos tipo pectina extraídos de la cáscara de tuna (*Opuntia* spp.). Tesis de Licenciatura. Instituto de Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México.
- Lozada-Carbajal, M.A. 2007. Efecto de las condiciones de extracción en las propiedades reológicas de pectinas de la cáscara de tuna (*Opuntia* spp.). Tesis de Licenciatura. Instituto de Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México.
- Maftoonazad, N., Ramaswamy, H. S., Marcotte, M. 2007. Evaluation of factors affecting barrier, mechanical and optical properties of pectin-based films using response surface methodology. *Journal of Food Process Engineering*, 30, 539-563.
- Martín-Polo, M.; Mauguin, C.; Voilley, A. 1992. Hydrophobic films and their efficiency against moisture transfer. 1. Influence of film preparation technique. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 40, 407-412.
- Marsh K , Bugusu B. 2007. Food packaging – roles, materials, and environmental issues . *Journal of Food Science*, 72, R39 – R55.
- Marshall, L., Coffin, D. 1998. Mechanical, microstructural and solubility properties of pectin/poly (vinylalcohol) blends. *Carbohydrate Polymer*, 35, 195-203.
- McHugh, T. H, Krochta, J. M. 1994. Milk-Protein-Based Edible Films and Coatings. *Food Technology*, 48, 97-103.
- Min, S. C., Janjarasskul, T., Krochta, J. M. 2009. Tensile and moisture barrier properties of whey protein-beeswax layered composite films. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89, 251 –257.
- Monedero, F. M., Fabra M. J., Talens, P. y Chiralt, A. 2009. Effect of acid-beeswax mixture on mechanical, optical and water barrier properties of soy isolate based films. *Journal of Food Engineering*. 91, 509-515.
- Morillon, V., Debeaufort, F., Blond, G., Capelle, M., Voilley, A. 2002. Factors affecting the moisture permeability of lipid based edible films: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 42, 67-89.
- Nieto, M. B. 2009. Structure and Function of Polysaccharide Gum-Based Edible Films and Coatings. En: *Edible Films and Coatings for Food Applications*. M. E. Embuscado, K. C. Huber (eds). Springer New York, Estados Unidos de América, pp 57-112.
- Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O. 2008. Using polysaccharides-based edible coatings to enhance quality and antioxidant properties of fresh-cut melon. *LWT-Food Science and Technology*, 41, 1862-1870.
- Ovodov, Y. S. 2009. Current views on pectin substances, *Russian Journal of Biorganic Chemistry*, 35, 269-284.

- Paredes-López O, Camargo-Rubio E, Gallardo-Navarro Y. 1974. Use of coatings of candelilla wax for the preservation of limes. *Journal of Food Science and Food Agriculture*. 25, 1207–10.
- Pavlath, A. E., Orts, W. 2009. Edible Films and Coatings: Why, What, and How? En: *Edible Films and Coatings for Food Applications*. M. E. Embuscado, K. C. Huber (eds). Springer New York, Estados Unidos de América, pp 1-23.
- Peña-Valdivia, C. y Álvarez, A. R. 2009. Structural polysaccharides in xoconostle (*Opuntia matudae*) fruits with different ripening stages. *J. PACD*. 11, 26-44.
- Pérez-Gago, M.B, Krochta, J.M. 2000. Drying temperature effect on water vapor permeability and mechanical properties of whey protein–lipid emulsion films. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48, 2687 – 2692.
- Pérez-Gago, M.B, Krochta, J.M. 2001. Lipid particle size effect on water vapor permeability and mechanical properties of whey protein/beeswax emulsion films. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49, 996 –1002.
- Pimienta-Barrios, E., Méndez-Morán, L., Ramírez-Hernández, B. C., García de Alba-García, J. E., Domínguez-Arias, R.M. 2008. Effect of Xoconostle (*Opuntia joconostle* Web.) fruit consumption on glucose and seric lipids. *Agrociencia*. Colegio de Postgraduados. México. 42, 645-653.
- Pinotti, A., García, M. A., Martino, M. N., Zaritzky, N. E. 2007. Study on microstructure and physical properties of composite films based on chitosan and methylcellulose. *Food Hydrocolloids*, 21, 66-72.
- Quezada Gallo, J.-A., Debeaufort, F., Callegarin, F., and Voilley, A. 2000. Lipid hydrophobicity, physical state and distribution effects on the properties of emulsion-based edible films. *Journal of Membrane Science*, 180, 37-46.
- Reséndiz-Vega, F. 2010. Evaluación de las propiedades gelificantes de polisacáridos pécticos de tuna (*Opuntia* spp.) de potencial aplicación como aditivos alimentarios. Tesis de Licenciatura. Ingeniería en Alimentos. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo. México.
- Reyna-Jaen, N. Caracterización reológica de polisacáridos pécticos extraídos de cáscara de xoconostle (*Opuntia* sp.). Tesis de Licenciatura. Ingeniería en Alimentos. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo. México. (En proceso).
- Rodríguez-Hernández, A. I., Durand, S., Garnier, C., Tecante, A. y Doublier, J. L. 2003. Rheology-structure properties of gellan systems: evidence of network formation at low gellan concentrations. *Food Hydrocolloids*, 17, 621-628.
- Sanderson, G.R. 1990. Gellan Gum. En “Food Gels”, P. Harris (ed.), Elsevier Applied Science. Nueva York, Estados Unidos de América, pp. 201-232.
- Sapru, V.; Labuza, T. P. 1994. Disperse phase concentration effect on water vapor permeability in composite methylcellulose-steraric acid edible films. *Journal of Food Process Preservation*, 18, 359-368.
- Saucedo-Pompa, S., Jasso-Cantu, D., Ventura-Sobrevilla, J., Sáenz-Galindo, A, Rodríguez-Herrera, R., Aguilar, C. N. 2007. Effect of candelilla wax with natural antioxidants on the shelf life quality of cut fresh fruits. *Journal of Food Quality*, 30, 823–836.
- Saucedo-Pompa, S., Rojas-Molina, R., Aguilera-Carbó, A. F., Sáenz-Galindo, A., de La Garza, H., Jasso-Cantú, D., Aguilar, C. N. 2009. Edible film based on

- candelilla wax to improve the shelf life and quality of avocado, *Food Research International*, 42, 511–515.
- Shellhammer, T. H.; Krochta, J. M. 1997. Whey protein emulsion film performance as affected by lipid type and amount. *Journal of Food Science*, 62, 390-394.
- Shellhammer, T. H., Rumsey, T. R., Krochta, J. M. 1997. Viscoelastic properties of edible lipids. *Journal of Food Engineering*, 33, 305-320.
- Shi, X. 199). Relation entre la conformation et les propriétés d'un polysaccharide bactérien, le gellane. Tesis Doctorado. Université Joseph-Fourier, Grenoble, France.
- Smith, J. M., Van Ness, H. C. Abbott, M. M. 2000. Introducción a la Termodinámica en Ingeniería Química. Mc Graw Hill. México. D.F., pp 760-770.
- Singh, P. R.; Heldman, D. R. 2003. Mass Transfer En “ Introduction to Food Engineering”. Food Science and Technology, International Series. Academic Press. Gran Bretaña. Reino Unido., pp 523-524.
- Sobral P. Alvarado, J. de D., Zaritzky, N.E., Laurindo, J.B., Gómez-Guillén, C., Añón, M.C., Montero, P., Denavi, G., Molina Ortiz, S., Mauri, A., Pinotti, A., García, M., Martino, M.N.; Carvalho R. 2008. Films Based on Biopolymer from conventional and Non-conventional sources. En Food Engineering: Integrated Approaches. G. F. Gutiérrez-López, G. V. Barbosa-Cánovas, J. Welti-Chanes, E. Paradas-Arias (eds.). Springer New York, Estados Unidos de América, 193-223.
- Sohail, S. S., Wang, B., Biswas, M.A. S., Oh, J.H. 2006. Physical, Morphological, and Barrier Properties of Edible Casein Films with Wax Applications. *Journal of Food Science*, 71, 255-259.
- Srinivasa, P. C., Ramesh, M. N., Tharanathan, R. N. 2006. Effect of plasticizers and fatty acids on mechanical and permeability characteristics of chitosan films. *Food Hydrocolloids*, 21, 1113-1122.
- Terrazas-Hernández, J. A. 2011. Efecto de la concentración de ácido oleico en las propiedades mecánicas y de transferencia de masa de películas comestibles elaboradas con polisacáridos pécticos de tuna (*Opuntia albicarpa*) y gelana. Tesis de Licenciatura. Ingeniería en Alimentos. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo. México.
- Tharanathan, R. N. 2003. Biodegradable films and edible coatings: Past, present and future. *Trends in Food Science and Technology*. 14, 71-78.
- Valdés-Martínez S. (2006). Hidratos de Carbono. En “Química de los Alimentos”, S. Badui Dergal (ed), Pearson Addison Wesley, México D.F., pp. 92-96.
- Vargas, M., Albors, A., Chiralt, A., González-Martínez, C. 2009. Characterization of chitosan-oleic acid composite films, *Food Hydrocolloids*, 23, 536-547.
- Wong, D. W. S. Gastineau, F.A., Gregorski, K.S., Tillin, S.J., Pavlath, A.E. 1992. Chitosan-lipid films: Microstructure and surface energy. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 40, 540-544.
- Yang, L. 1997. Physicochemical Properties of Biodegradable/Edible Films Made with Gellan Gum. Master in Science Thesis. Technical University of Nova Scotia. Canadá.
- Yang, L., Paulson, A. T. 2000. Effects of lipids on mechanical and moisture barrier properties of edible gellan films. *Food Research International*. 33, 571-578.

Yang, L., Paulson, A. T., Nickerson, M.T. 2010. Mechanical and physical properties of calcium-treated gellan films. *Food Research International*, 43, 1439–1443.