



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN,
CAMPO 1

“COMPARACIÓN DE GRUPOS HIDRÓFOBOS
EN LA SUPERFICIE DE PELÍCULAS
COMESTIBLES A BASE DE SUERO DE LECHE Y
GOMA DE MEZQUITE MEDIANTE EL ÁNGULO
DE CONTACTO”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERO EN ALIMENTOS

PRESENTA:
PORRAS GODINEZ MARTÍN RAMÓN

ASESOR: I. Q. GUADALUPE FRANCO RODRÍGUEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Índice.

Resumen.	4
Introducción.	5

CAPÍTULO I PELÍCULAS COMESTIBLES.

1.- Generalidades de películas comestibles.	6
1.1 Historia.	6
1.2 Requerimientos para su uso.	6
1.3 Funciones.	7
1.4 Composición.	9
1.5 Formación.	11
1.6 Propiedades.	12
1.7 Formas de aplicación.	15
1.8 Aplicaciones alimentarias.	15
1.9 Perspectivas a futuro.	17
2.- Proteína aislada de suero de leche y goma de mezquite.	17
2.1 Proteína aislada de suero de leche (WPI).	17
2.2 Propiedades de películas a base de WPI.	19
2.3 Goma de mezquite (GM).	20
2.4 Propiedades de las películas de goma de mezquite.	22
2.5 Películas comestibles a base de WPI y GM.	22

CAPÍTULO II PROPIEDADES FÍSICAS Y DE SUPERFICIE.

3.-Análisis térmico.	24
3.1 Análisis calorimétrico (DSC).	25
3.2 Análisis termogravimétrico (TGA).	27
4.- Microestructura.	29
5.-Ángulo de contacto.	30
5.1 Técnicas de medición.	31
5.2 Ángulo de contacto ideal.	33
5.3 Ángulo de contacto real y aparente.	33
5.4 Naturaleza de las superficies y ángulo de contacto.	35

CAPÍTULO III DISEÑO EXPERIMENTAL.

6.-Objetivo general.	36
7-Objetivos particulares.	36
8.-Materiales.	37
9.-Diseño experimental y métodos.	38

CAPÍTULO IV RESULTADOS Y CONCLUSIONES.

10.- Análisis de resultados y discusión.	47
11.- Conclusiones.	72
12.- Bibliografía.	74

Índice de figuras, gráficos y cuadros.

Figura 1	Efecto barrera de los recubrimientos comestibles aplicados a alimentos.	8
Figura 2.	Estructura propuesta para goma de mezquite (GM)	21
Figura 3	Microcalorimetro (DSC).	26
Figura 4	Representación grafica de un análisis DSC.	27
Figura 5	Equipo termogravimetrico T.A. INSTRUMENTS ^{MR}	28
Figura 6	Representación grafica de un análisis TGA.	28
Figura 7	Microscopia de fuerza atómica (AFM).	29
Figura 8	Ángulo de contacto.	30
Figura 9	Método de la gota dispuesta.	31
Figura 10	Equipo TANTEC Contac Angle Meter.	32
Figura 11	Tensión interfacial.	32
Figura 12	Estado de energía mínima.	32
Figura13	Ángulo de contacto real y aparente.	33
Figura 14	Histéresis de ángulo de contacto.	34
Figura 15	Obtención de Recubrimientos WPI-GM.	40
Figura 16	Zonas de medición para análisis DSC.	43
Figura 17	Zonas de medición en análisis de microestructura.	44
Figura 18	Zonas de medición para análisis TGA.	44
Figura 19	Equipo TANTEC Contac Angle Meter [Partes]	45
Figura 20	Zonas de medición para ángulo de contacto.	46
Figura 21	Medición para ángulo de contacto.	46
Figura 22	Película WPI-GM.	47
Figura 23	Microestructura WPI-GM 1%.	59
Figura 24	Microestructura WPI-GM 3%.	59
Figura 25	Microestructura WPI-GM 5%.	60
Figura 26	Microestructura WPI-GM 7%.	61
Figura 27	Microestructura WPI-GM 9%.	61
Gráfico 1	Comparativo DSC en recubrimientos WPI y GM.	50
Gráfico 2	Comportamiento DSC en recubrimientos WPI-GM 9% S/D.	52
Gráfico 3	Comportamiento DSC en recubrimientos WPI-GM 7% S/D.	53
Gráfico 4	Comportamiento DSC en recubrimientos WPI-GM 5% S/D.	54
Gráfico 5	Comportamiento DSC en recubrimientos WPI-GM 3% S/D.	55
Gráfico 6	Comportamiento DSC en recubrimientos WPI-GM 1% S/D.	56
Gráfico 7	Comportamiento DSC en recubrimientos WPI-GM 9% D.	57
Gráfico 8	Termograma TGA en películas WPI-GM 1%.	62
Gráfico 9	Termograma TGA en películas WPI-GM 3%.	64
Gráfico 10	Termograma TGA en películas WPI-GM 5%.	65
Gráfico 11	Termograma TGA en películas WPI-GM 7%.	66
Gráfico 12	Termograma TGA en películas WPI-GM 9%.	68
Gráfico 13	Comparativo de ángulo de Contacto en películas D y S/D.	71
Cuadro 1	Posibles aplicaciones de recubrimientos comestibles.	10
Cuadro 2	Análisis térmico.	25

Cuadro 3	Formulación empleada en recubrimientos WPI-GM.	39
Cuadro 4	Relación WPI y Goma de Mezquite (%).	41
Cuadro 5	Valores de pH para GM en solución.	41
Cuadro 6	Valores de pH para WPI en solución.	49
Cuadro 7	Valores de pH en soluciones WPI-GM.	49
Cuadro 8	Análisis DSC en películas WPI _{S/D} y GM _{S/D}	51
Cuadro 9	Análisis DSC en película WPI-GM 9% _{S/D}	52
Cuadro 10	Análisis DSC en película WPI-GM 7% _{S/D}	53
Cuadro 11	Análisis DSC en película WPI-GM 5% _{S/D}	54
Cuadro 12	Análisis DSC en película WPI-GM 3% _{S/D}	55
Cuadro 13	Análisis DSC en película WPI-GM 1% _{S/D}	57
Cuadro 14	Rugosidad (A) en películas WPI-GM _{S/D}	58
Cuadro 15	Resumen TGA en películas WPI-GM 1%.	63
Cuadro 16	Resumen TGA en películas WPI-GM 3%.	64
Cuadro 17	Resumen TGA en películas WPI-GM 5%.	66
Cuadro 18	Resumen TGA en películas WPI-GM 7%.	67
Cuadro 19	Resumen TGA en películas WPI-GM 9%.	68
Cuadro 20	Ángulo de contacto en películas WPI-GM _{S/D}	69
Cuadro 21	Ángulo de contacto en películas WPI-GM _D	70

Resumen.

En el presente trabajo se ha evaluado la compatibilidad de los compuestos: proteína aislada de suero de leche (WPI) y goma de mezquite (GM) mediante la formación de recubrimientos comestibles como una medida orientada a la conservación de alimentos. Entre otros términos se puede argumentar que una de las funciones de mayor interés de las películas comestibles en el proceso de conservación, es la reducción de la pérdida de humedad debido a que se deben de mantener ciertos niveles de a_w [8], por otra parte un exceso favorece el crecimiento de microorganismos, modifica la integridad estructural y apariencia. Con el fin de estudiar nuevas técnicas en el manejo de biopolímeros, este trabajo se ha orientado hacia el estudio y recopilación de herramientas que faciliten la aplicación de recubrimientos comestibles con permeabilidad selectiva acorde a las necesidades del producto.

En base a su estructura tridimensional, se sabe que la WPI contiene cadenas de aminoácidos hidrofóbicos en la parte interna de la macromolécula, mientras que los grupos polares se encuentran en el exterior de su estructura [43]. En base a ello se ha evaluado el grado de humectación a través del ángulo de contacto sobre películas comestibles variando el tratamiento térmico de las soluciones formadoras, logrando así una desnaturalización proteínica mediante tratamiento térmico.

El ángulo de contacto está en función, entre otros factores de la naturaleza química de la superficie y de las propiedades físicas como la rugosidad. Con la finalidad de evaluar los efectos de estas variantes en la determinación del ángulo sobre los recubrimientos se ha realizado un estudio apoyado en técnicas de calorimetría como DSC (calorimetría diferencial de barrido) y TGA (análisis termogravimétrico), un estudio más basado en análisis AFM (microscopía de fuerza atómica) presenta la microestructura de estos recubrimientos, como un soporte en los datos obtenidos para ángulo de contacto expresado mediante el grado de hidratación.

De los datos obtenidos se destaca que la presencia de goma de mezquite proporciona flexibilidad y disminuye la opacidad de los recubrimientos obtenidos, sin embargo en concentraciones extremas favorece la formación de agregados proteolíticos formando regiones químicamente heterogéneas y aumento de la rugosidad promedio. Se encontró también que la mayor concentración de grupos hidrófobos de superficie se obtiene en recubrimientos que se han sometidos a un tratamiento térmico de desnaturalización y aumenta ligeramente al aumentar la proporción de goma de mezquite. Finalmente los recubrimientos sin tratamiento térmico presentaron limitada resistencia en el sistema de humectación evaluado presentando pobres niveles de ángulo de contacto aun en concentraciones superiores de GM.

Introducción.

La conservación de los alimentos representa un área de particular interés ya que ofrece la disponibilidad de sus nutrientes alargando la vida útil en periodos de escasos. Para la mayoría de los alimentos la disponibilidad de agua representa un factor clave durante los periodos de almacenamiento, en este sentido el uso de recubrimientos comestibles con permeabilidad selectiva permite un adecuado almacenamiento de acuerdo a las condiciones, periodo, naturaleza química y necesidades del producto optimizando con ello los procesos de conservación.

El grado de hidratación y la permeabilidad al agua y al oxígeno que existe en los alimentos de forma natural pueden ser modificados mediante el uso de películas comestibles, las cuales han adquirido una importancia significativa ya que pueden actuar, entre otras funciones, como barrera a la transferencia de materia y con ello la migración de humedad.

Aunque el ángulo de contacto prueba es una prueba rápida y directa, es necesario establecer las condiciones que pueden modificarla y bajo estas consideraciones se puede obtener información confiable acerca de las necesidades de uso y almacenamiento de alimentos frescos y procesados.

Para poder demostrar la importancia del grado de hidratación y su posible modificación en películas comestibles es necesario realizar avances tanto en su desarrollo y su caracterización como en sus aplicaciones sobre alimentos, a pesar de que la información técnica disponible para la elaboración de películas comestibles es relativamente amplia, no es universal para todos los productos, lo que implica un reto para el desarrollo y aplicación de recubrimientos y películas específicas. Este estudio surge a partir de la investigación que se ha realizado sobre películas comestibles basadas en proteína aislada de suero de leche (WPI) y goma de mezquite (GM) y tiene como objetivo la profundización éste estudio, así como considerar sus posibles aplicaciones alimentarias.

Así, en este trabajo, se exponen los estudios y pruebas realizadas en películas comestibles obtenidas por emulsificación empleando como componentes principales dos productos naturales producidos en México: La proteína aislada de suero de leche (WPI) y goma de mezquite (GM). Estos estudios comprenden pruebas de hidratación a partir del ángulo de contacto para recubrimientos basados en proteína desnaturalizada y sin desnaturalizar, análisis de microestructura y análisis térmico para diferentes concentraciones de polisacárido-proteína.

CAPÍTULO I PELÍCULAS COMESTIBLES.

1.- Generalidades de las películas comestibles.

1.1 Historia.

La aplicación de las películas comestibles para protección de los alimentos con el fin de prolongar su vida de anaquel no es nada nuevo [1], se menciona que desde los siglos XII y XIII en China se utilizaban ceras para recubrir a los cítricos retardando su desecación. En el siglo XVI sucedía que en el recubrimiento de las frutas se llevaba a cabo con parafinas previniendo la pérdida de humedad del alimento [2]. Sin embargo en los últimos 50 años se ha intensificado el estudio y se ha reportado el uso de las películas comestibles para extender el tiempo de vida de anaquel, incrementar la calidad debido a la frescura, para productos congelados y procesados [3]. Las propiedades que ofrecen las películas comestibles dependen de los componentes de los cuales están elaborados [4]. Las películas pueden estar compuestas por: 1) proteínas (gelatina, caseína, etc.), 2) celulosa, almidón o materiales con base en dextrina, 3) alginatos y gomas. 4) ceras, lípidos o derivados de los monoglicéridos y 5) la mezcla de cualquiera de estos grupos ha generado un particular interés [1].

Definición.

Las películas comestibles se definen como una o varias capas delgadas de un material que puede ser consumido por los seres vivos y que a la vez pueden actuar como barrera a la transferencia de agua, gases y solutos de alimentos [6]. Algunos autores [5] definen a las películas comestibles como una capa continua y delgada de material comestible formada sobre (como cubierta) o colocada entre los componentes de los alimentos, y proveen un medio para acarrear ingredientes de los alimentos o aditivos además de mejorar el manejo de los mismos.

1.2 Requerimientos para el uso de películas comestibles.

Actualmente no existe una legislación que regule y especifique el uso de películas comestibles, por lo tanto, no se sabe si considerarlos como ingredientes de los alimentos o como aditivos. Todo depende de la aplicación que se les otorgue a estas películas; si mejora la calidad nutricional del alimento se considera como nutriente, de lo contrario se considera aditivo.

Invariablemente de cómo se considere, una de las limitaciones más importantes de este tipo de sustancias viene impuesta por el hecho de que se ingieren con el alimento al que protegen. Se recomienda [7] que las películas deben tener tan poco sabor como sea posible o de lo contrario deben tener un sabor compatible con el alimento al cual se está recubriendo, sin embargo, para compatibilizar sus funciones protectoras con su aptitud para el consumo, las películas comestibles deben poseer las siguientes características.

- No toxicidad.
- Propiedades sensoriales compatibles con la naturaleza del alimento.
- Solubilidad y dispersabilidad en su preparación y posterior consumo.
- Suficiente estabilidad microbiológica, bioquímica y físico-química.

- Bajo coste de la materia prima y facilidad de aplicación.
- Buena adhesión a la superficie del alimento.
- Propiedades mecánicas adecuadas.
- Alta eficiencia de protección y barrera.

1.3 Funciones de las películas.

Se menciona [4] que las películas comestibles no están diseñadas con la finalidad de reemplazar los materiales de empaques sintéticos ni a las películas no comestibles, se dice que la importancia de las películas comestibles recae en la capacidad de actuar como un conjunto para mejorar la calidad del alimento en general, extender el tiempo de vida de anaquel y mejorar la eficiencia económica de los materiales de empaque.

En muchas aplicaciones de alimentos, la función más importante de las películas comestibles es la reducción de la pérdida de humedad debido a que se deben de mantener ciertos niveles de a_w ya que éste representa factor de suma importancia en la calidad y seguridad del alimento [8]. Algunas de las propiedades funcionales que desempeñan las películas comestibles aplicadas en alimentos son:

- 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.

[4]

A continuación se describen algunas de las funciones así como las ventajas en el uso y consumo de películas comestibles:

Barrera a la transferencia de materia.

La presencia de una película y/o recubrimiento comestible sobre un alimento para regular el intercambio molecular con el exterior del mismo puede proporcionar un aumento de su calidad y vida útil. En la Figura 1, se muestra esquemáticamente todos los posibles intercambios que se pueden producir entre el alimento recubierto y el medio exterior.

El uso de un recubrimiento con baja permeabilidad al vapor de agua contribuye a retrasar la deshidratación superficial de los productos frescos como frutas, verduras y carnes [9] o en productos congelados [10], de la misma forma en productos secos como galletas, un recubrimiento proporciona protección frente a la absorción de humedad manteniendo así sus características.

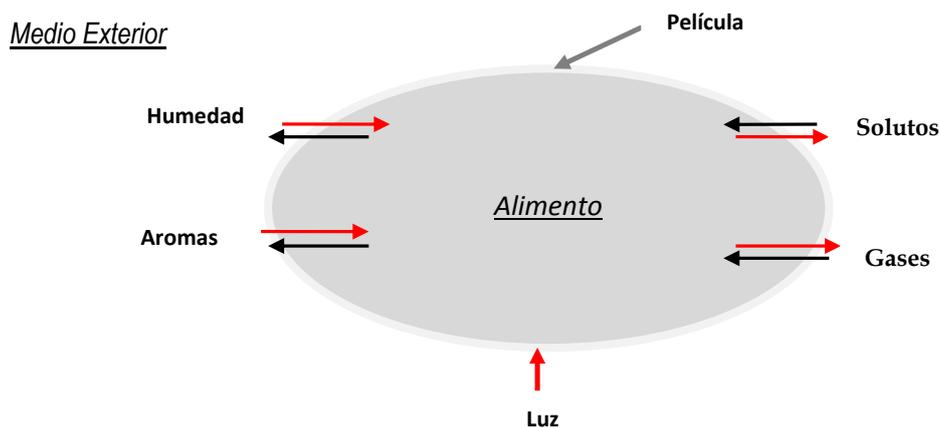


Figura 1 Efecto barrera de los recubrimientos comestibles aplicados a alimentos. [7]

El control del oxígeno permite proteger a los componentes de los alimentos susceptibles a ser oxidados como lípidos, pigmentos, vitaminas y aromas prolongando la vida útil de frutas y verduras al retrasar la maduración y la senescencia [11]. Las películas comestibles también presentan protección frente a la penetración de solutos o disolventes en el alimento que pueden ocasionar toxicidad o la aparición de olores indeseados [7].

Además, las películas y recubrimientos comestibles pueden ser aplicados exteriormente sobre la superficie del alimento, pero también pueden ser aplicadas dentro de un alimento heterogéneo donde nos permite separar sus distintos componentes con marcada diferencia en su actividad de agua (pizzas, galletas o pastelería con una guarnición de trozos de frutas), permitiendo mantener así sus respectivas propiedades de textura [12]. Los efectos de la luz y de las radiaciones ultravioleta que pueden acelerar las reacciones que transcurren vía radicales libres también pueden ser reducidos con el uso de recubrimientos. En la mayoría de los casos esta protección se produce mediante la adición de pigmentos a dichos recubrimientos comestibles [7].

Resistencia mecánica.

Una película comestible puede mejorar sus propiedades mecánicas dando mantenimiento a la integridad estructural de los productos alimenticios. Estos recubrimientos pueden incluso proporcionar protección física a alimentos susceptibles de dañarse durante el transporte, como frutas frescas y vegetales [13].

Portador de aditivos activos.

Las películas comestibles pueden incorporar aditivos en el alimento con el fin de mejorar su conservación o sus propiedades fisicoquímicas y organolépticas. Los aditivos, transportados en el recubrimiento pueden controlar fenómenos que se producen con mayor intensidad en la superficie de los alimentos, tales como el crecimiento microbiano, el enranciamiento oxidativo y el pardeamiento enzimático. Debido a la creciente demanda de frutas y verduras frescas y cortadas, esta aplicación resulta interesante para evitar el pardeamiento ocasionado por la aceleración del metabolismo en tejido dañado.

Se puede también incorporar vitaminas con el fin de enriquecer nutricionalmente al alimento, agentes que mejoren la textura como el CaCl_2 [14], o agentes reguladores del crecimiento como la poliamina para retrasar la maduración y senescencia de frutas y vegetales [15].

Mejora de las características sensoriales y apariencia del producto.

Puesto que el recubrimiento forma parte del alimento y es consumido como tal, sus atributos sensoriales son muy importantes para determinar la aceptación del producto ya que pueden interferir con el aroma, sabor y textura del alimento. También es interesante que la envoltura mejore, o como mínimo no altere otras características sensoriales del producto como el color, el brillo, la transparencia o la adhesividad.

1.4 Composición de las películas comestibles.

Las propiedades funcionales de las películas comestibles dependen de la naturaleza de sus componentes y de su composición o estructura. Por lo tanto, la elección de la sustancia formadora de la película y/o de sus aditivos dependerá del objetivo que se busca, de la naturaleza del alimento a proteger y del método de aplicación. Los materiales utilizadas en la fabricación de los recubrimientos comestibles son de naturaleza muy diversa y comprenden tanto hidrocoloides (proteínas y polisacáridos), lípidos o mezclas de estos [16].

Hidrocoloides.

Los hidrocoloides se caracterizan por su diversidad, abundancia y generalmente por su bajo costo, porque cada vez existe una mayor tendencia a utilizarlos para la formación de películas comestibles. Atendiendo en su composición se clasifican en proteínas: como proteína aislada de suero lácteo, zeína de maíz, gluten de trigo, caseína, albumina de huevo, etc. y carbohidratos: almidones, gomas como la del mezquite, pectinas, alginatos, derivados de celulosa, quitosan entre otras.

Debido a sus propiedades físicas los recubrimientos de hidrocoloides poseen propiedades mecánicas deseables, útiles para mejorar la integridad estructural de productos frágiles [16], aunque los recubrimientos de proteína necesitan la adición de plastificantes para mejorar la resistencia y elasticidad [17]. Por otro lado la solubilidad en agua caliente se presenta como una ventaja para situaciones en donde el alimento se consume tras previo calentamiento, puesto que el recubrimiento se disolvería y no alteraría sus propiedades.

Lípidos.

Dentro de este grupo se incluyen, principalmente, las ceras, resinas, ácidos grasos y monoglicéridos. Los recubrimientos lipídicos se emplean debido a sus excelentes propiedades como barrera frente a la humedad, ya sea en forma de capas protectoras de la superficie o como barrera entre dos comportamientos de un alimento heterogéneo. Así mismo pueden compartir otras funciones tales como ser soporte de aditivos liposolubles, añadir brillo en productos de confitería y proteger contra la abrasión de superficies de frutas durante su transporte o almacenamiento [16].

Sin embargo para la aplicación de películas a base de lípidos se deberá de controlar la concentración de oxígeno durante procesos prolongados de almacenamiento ya que estas cubiertas son susceptibles a la rancidez en altas concentraciones del mismo. Su uso en forma pura está limitado, ya que no tienen suficiente integridad estructural ni durabilidad. Su fragilidad hace que requieran ser empleados con una matriz que actué de soporte. Generalmente esa matriz está formada por hidrocoloides dando lugar a films compuestos.

Compuestos.

Estos recubrimientos se formulan para combinar las ventajas de los componentes lipídicos de hidrocoloides y disminuir los inconvenientes de cada uno de ellos. En general los lípidos aportan la resistencia al vapor de agua y los hidrocoloides la permeabilidad selectiva al dióxido de carbono y al oxígeno, la duración del recubrimiento y la buena cohesión estructural o integral de la película [18]. Por tanto, el éxito de estos productos está en la formación de una estructura cohesiva con buenas propiedades de barrera frente a la transferencia de humedad.

Dependiendo de cuales vayan a ser las aplicaciones potenciales de las películas, serán apropiados los de una u otra clase. En la siguiente tabla se resume de forma general el tipo de película apropiado que se debe de utilizar dependiendo de la aplicación final [13].

Aplicación.	Tipo de recubrimiento apropiado.
Retardar la migración de humedad.	Lípidos compuestos.
Retardar la migración de gases.	Hidrocoloides, lípidos o compuestos
Retardar la migración de lípidos.	Hidrocoloides
Retardar la migración de solutos.	Hidrocoloides
Mejorar la estabilidad estructural.	Hidrocoloides, lípidos o compuestos
Retención de compuestos volátiles.	Compuestos
Transporte de aditivos alimenticios.	Hidrocoloides, lípidos

Cuadro 1 Posibles aplicaciones de recubrimientos comestibles [13].

Aditivos

Las formulaciones de las películas pueden incorporar otros componentes o aditivos con distintas funciones. Las películas pueden actuar como vehículos o portadores de ciertos aditivos con el fin de mejorar la conservación y/o propiedades fisicoquímicas y organolépticas de los alimentos [4]. En ciertas ocasiones también es necesaria la adición de otro tipo de aditivos que actúan mejorando las características del recubrimiento. Entre ellos destacan los plastificantes, los cuales confieren mayor flexibilidad a los recubrimientos y los hacen menos quebradizos [6], y los surfactantes que disminuyen la tensión superficial mejorando la mojabilidad del recubrimiento sobre el alimento.

a) **Plastificantes.**

Un plastificante se define como una sustancia no volátil con un alto punto de ebullición que cuando se añade a un polímero modifica las propiedades fisicoquímicas y mecánicas del mismo [19]. Los plastificantes funcionan debido a las fuerzas intermoleculares entre las cadenas poliméricas adyacentes, lo que hace que las películas sean más flexibles y con menor fuerza de tensión [20]. Esta reducción en las uniones internas implica a su vez una menor cohesión del conjunto y una malla estructural más espaciada que facilita la difusión de los gases y el vapor de agua a través de la película [21]. Los plastificantes más empleados en recubrimientos y películas comestibles son polioles (glicerol, sorbitol y polietilenglicol), oligosacáridos (sacarosa, glucosa y fructuosa) y lípidos (ácidos grasos y monoglicéridos) [5].

b) **Surfactantes.**

Los surfactantes se utilizan para estabilizar las emulsiones y mejorar la adhesión del recubrimiento al producto en el cual se aplica. Los surfactantes son agentes activos superficialmente que reducen la tensión superficial. Por su carácter anfifílico presentan una parte hidrofílica o polar y otra lipofílica o apolar. Por lo tanto al agregar surfactantes en una emulsión la fracción hidrofílica presenta afinidad por solventes polares y la fracción lipofílica mostrará tendencia por los solventes apolares [22].

4.5 Formación de películas comestibles.

Para la formación de películas comestibles se precisan compuestos que permiten formar estructuras continuas, cristalinas o amorfas. En dichas estructuras, la formación de fuerzas intermoleculares es de vital importancia para las características tecnológicas finales. Estas fuerzas serán de adhesión en la interacción película-alimento y de cohesión si se consideran las fuerzas existentes entre las moléculas de la película. Estas últimas condicionan las propiedades de un determinado material. Una mayor cohesión entre las moléculas de una película se traduce en una disminución de la flexibilidad de ésta y en consecuencia, de la porosidad lo que repercute sobre su permeabilidad [12]. Estos factores están directamente relacionados con el proceso de formación de la película comestible por lo que dependiendo de cómo se forme, la película tendrá unas características finales u otras. Se han desarrollado numerosas técnicas para la elaboración de los recubrimientos, bien como recubrimiento sobre la superficie de los alimentos, o bien separados como películas independientes [4].

Coacervación.

Implica un cambio de estado del polímero formador. En la coacervación se consigue la formación de la película mediante la precipitación del hidrocoloide debido a la modificación de alguna propiedad del disolvente como la aplicación de calor, alteraciones del pH, etc., o por adición de otro disolvente en el cual el polímero es insoluble [16].

Eliminación del solvente.

Se utiliza en aquellos materiales que se dispersan en soluciones acuosas. Después de la dispersión es necesaria la eliminación del solvente para la formación de las películas sólidas. Tanto el tiempo, la temperatura y la humedad relativa de secado influyen en la cristalinidad

resultante de las propiedades finales de las películas especialmente en las propiedades mecánicas [13].

Solidificación de la mezcla.

La solidificación de la masa fundida es una técnica muy empleada para la elaboración de recubrimientos lipídicos. Consiste en el calentamiento de las sustancias empleadas por encima de su punto de fusión y su posterior enfriamiento. En este caso la tasa de enfriamiento influye en el estado polimórfico predominante (del cual dependen las resistencias al vapor de agua y al oxígeno), así como en el grado de recristalización del recubrimiento solidificado [13].

Gelificación o coagulación térmica.

Especialmente utilizadas para películas de naturaleza proteínica ya que la muestra es calentada hasta conseguir la desnaturalización que garantice la formación de la red tridimensional de la proteína y posteriormente se deja secar hasta la eliminación del solvente. De igual forma, las películas basadas en polisacáridos, como el almidón, se forman mediante el calentamiento de sus dispersiones acuosas hasta que se produce su gelatinización y posteriormente se secan por evaporación del solvente.

Extrusión.

Se emplean altas temperaturas, presión y cizalla vigorosa que facilitan la fusión de los cristales y la integración de los aditivos. El tiempo de secado es corto, ya que los extrusores tienen la capacidad de manejar materiales mucho más viscosos [16].

1.6 Propiedades de las películas comestibles.

Las películas deben ser caracterizadas para determinar sus propiedades funcionales y sus posibles aplicaciones. La caracterización se realiza principalmente respecto a las siguientes propiedades:

- Propiedades de barrera a la transferencia de materia.
- Propiedades mecánicas.
- Propiedades específicas.

A continuación se describen dichas propiedades

Propiedades de barrera a la transferencia de materia.

Las películas comestibles pueden potencialmente controlar la transferencia de humedad, oxígeno, dióxido de carbono, lípidos y aromas entre un sistema alimentario y el medio ambiente o entre componentes del mismo sistema alimentario. Se han investigado recubrimientos de proteínas, polisacáridos y lípidos, solos o en combinación, por su efectividad actuando como barreras a la transferencia de masa [17].

Se define la permeabilidad como la migración en estado estacionario de una sustancia permeable a través de una barrera (bien por flujo capilar o por difusión activa). La

permeabilidad no hay que confundirla con el transporte a través de poros, defectos o fracturas del material, porque la permeabilidad consiste en el proceso de solución y difusión donde el permeante se disuelve en una cara del recubrimiento, el cual se difunde a través de él hacia el otro lado debido al gradiente de concentración y entonces se desorbe por evaporación [23].

El análisis matemático de la permeabilidad es el siguiente:

La primera ley de Fick es comúnmente utilizada para describir la permeabilidad del vapor de agua u otros permeantes a través de una capa. Para la difusión unidireccional de un componente A a través de un recubrimiento B, la primera ley de Fick viene definida por la siguiente ecuación:

$$J_{Az} = -D_{AB} \frac{dC_A}{dz}$$

Ecuación 1

Donde:

J_{Az} = Flujo o cantidad de permeante (n) que difunde por unidad de área (A) en un tiempo (t) en la dirección z.

D_{AB} = Difusividad de la masa molecular del permeante A a través del film B.

$\frac{dC_A}{dz}$ = El gradiente de concentración en la dirección z.

a) Permeabilidad al vapor de agua.

La permeabilidad al vapor de agua es una medida de la facilidad con que un material puede ser traspasado por el vapor de agua. Los recubrimientos basados en compuestos de naturaleza hidrófoba como resinas y ceras, al igual que algunas proteínas no solubles en agua, son los más eficaces retardando los intercambios de humedad [7]. Por el contrario, los recubrimientos de hidrocoloides solubles en agua, se comportan como pobres barrera al paso de vapor de agua debido a su naturaleza hidrófila. Este hecho limita sus posibles aplicaciones. Es por tanto fundamental su estudio con profundidad.

b) Permeabilidad a los gases.

La mayoría de las investigaciones se han centrado en el estudio de la permeabilidad al oxígeno y al dióxido de carbono de los recubrimientos ya que esta propiedad está relacionada con la velocidad de oxidación y respiración de los alimentos envasados. Los estudios de transmisión de los gases permeables se han centrado en los últimos años principalmente en las aplicaciones sobre frutas y verduras. Esto es debido a la permeabilidad selectiva de los gases que presentan los recubrimientos basados en hidrocoloides [24], lo cual permite un intercambio gaseoso controlado, prolongando la vida útil del producto, al retrasar la maduración y la senescencia [18].

c) Permeabilidad a lípidos.

Muchos de los recubrimientos comestibles poseen componentes hidrofílicos, lo cual les otorga la propiedad de ser buenas barreras a los lípidos. Esta propiedad resulta interesante en aquellas aplicaciones donde sea necesario el control de la migración lipídica [25].

d) Permeabilidad a los aromas.

El aroma característico de un alimento es el resultado de la interacción de todos los constituyentes que componen a este alimento. De esa forma, es importante preservar estos componentes responsables del aroma reduciendo la pérdida u oxidación durante el almacenaje y distribución [7].

Propiedades mecánicas.

Un recubrimiento comestible con muy buenas propiedades de barrera es del todo ineficiente si no posee unas propiedades mecánicas que le permiten mantener la integridad del recubrimiento durante el manejo, el embalaje y el transporte [7]. Las interacciones entre el material formador de la película con otras sustancias como agua, plastificantes, lípidos y otros aditivos dispersos por la matriz, influyen notablemente sobre su comportamiento mecánico [19]. Las propiedades básicas más importantes que pueden ser usadas para describir las propiedades mecánicas de los recubrimientos y relacionarlas con su estructura química son la tensión máxima (máxima tensión que puede soportar antes de romperse), el porcentaje de elongación (porcentaje en el que ha cambiado la longitud original) y el módulo de elasticidad (cociente entre la tensión y la elongación de la región elástica, medida fundamental de la rigidez de la película) [26].

Propiedades específicas.

Un recubrimiento comestible debe mojar y extenderse sobre la superficie a recubrir y al secarse formar una película con adecuada adhesión, cohesión y durabilidad.

Para llevar a cabo un buen recubrimiento es importante el fenómeno de mojado. Debe darse el mayor contacto posible entre la solución de recubrimiento y la superficie, evitando las posibles entradas de aire. Se define dicho mojado como el proceso donde un fluido en contacto con un sólido es desplazado por otro fluido. En el caso de los recubrimientos, el primer fluido es el aire y el segundo la solución de recubrimiento. Este mojado depende directamente de la tensión superficial del líquido y del ángulo de contacto, Ver Capítulo II (Propiedades físicas y de superficie).

Otras propiedades.

Existen otras propiedades de los recubrimientos que también son estudiadas aunque con el objetivo mayoritario de comprender mejor sus propiedades mecánicas y de barrera. Entre ellas se destacan las isotermas de sorción de agua, color, opacidad, difusividad de solutos dentro de los films y la solubilidad. Estas propiedades pueden llegar a determinar el uso y la

aplicación de las películas en el envasado de alimentos. Para algunas aplicaciones, es deseable un film o recubrimiento fácilmente soluble en agua. En otras ocasiones, es necesario un recubrimiento insoluble en agua para proporcionar resistencia al agua y aumentar la integridad del alimento.

1.7 Formas de aplicación.

Las formas de aplicación del recubrimiento dependen mayoritariamente del tipo y forma de los alimentos que se que se desea cubrir.

Inmersión.

Es un método muy adecuado para productos con superficies irregulares que requieren un recubrimiento uniforme [11]. El producto se lava, se seca y posteriormente se sumerge en la solución de recubrimiento con lo que nos aseguramos que se produzca un mojado completo. Tras la inmersión se deja drenar el material sobrante y se procede al secado. Actualmente, se emplea en películas de cera en frutas y verduras, así como en carnes y pescados.

Atomización.

Se consiguen recubrimientos más delgados y uniformes que los obtenidos por inmersión. Este método es muy utilizado para superficies lisas y uniformes. La solución se aplica a presión y mediante su regulación conseguimos diferentes tamaños de gota. Esta técnica es la más adecuada cuando buscamos recubrir una sola cara del alimento [20].

1.8 Aplicaciones alimentarias.

La elección de la película o recubrimiento comestible que se aplica dependerá de las características del alimento, de la protección que requiera y de las condiciones de almacenamiento. Las películas comestibles han sido aplicadas a infinidad de alimentos como carnes, pescados, frutas vegetales, cereales, dulces, alimentos heterogéneos o alimentos congelados y procesados. A continuación se han agrupado los alimentos basándose en su naturaleza y se dan ejemplos sobre aplicaciones potenciales de estas películas comestibles:

Carne y pescados.

Los recubrimientos han sido aplicados sobre carne y pescado siempre persiguiendo aminorar una o varias causas de deterioro alimentario que incluye:

a) Deshidratación artificial.

Se han utilizado carbohidratos para prevenir la deshidratación superficial de carnes tanto frescas como congeladas. A pesar de que los carbohidratos son hidrofílicos su efecto de barrera en la humedad se basa en que la pérdida de humedad del alimento no comienza hasta que no se evapora toda el agua del recubrimiento [27].

b) Aumento de la vida útil desde un punto de vista microbiológico.

Una mezcla de estos carbohidratos con ácidos (ácido láctico y ácido acético) o con agentes antimicrobianos colocados sobre las piezas de carne redujo el crecimiento de microorganismos tales como *Listeria monocytogenes* [28].

c) Mantenimiento de la calidad estructural.

Los recubrimientos basados en hidrocoloides, como el colágeno o el alginato, también han sido utilizados para la fabricación de salchichas y embutidos sustituyendo a las tripas naturales, permitiendo una más fácil industrialización del proceso y un mayor control durante el almacenamiento. Además, presentan una excelente barrera a las grasas [20]

Frutas y vegetales.

Las causas de deterioro alimentario que se tratan de reducir o evitar con el uso de recubrimientos son:

a) Reducción de la intensidad respiratoria.

Los recubrimientos constituyen una barrera semipermeable al intercambio gaseoso de las frutas y vegetales con el medio exterior, aumentando los niveles de CO₂ (al dificultar la salida) y disminución de O₂ (al impedir su entrada). Estos niveles altos de CO₂ y bajos de O₂ inhiben la respiración y con ello la senescencia. Además se observaron importantes reducciones en la producción de etileno en manzanas mínimamente procesadas a las que se les aplico un recubrimiento compuesto por derivados de celulosa y monoglicéridos acetilados [29].

b) Pardeamiento enzimático.

El pardeamiento enzimático es el principal factor que reduce la vida útil de frutas frescas cortadas debido a la reacción de los compuestos fenólicos con el oxígeno atmosférico dentro de los tejidos, se ha logrado reducir el pardeamiento de trozos de manzanas mediante su recubrimiento con películas compuestas de proteína aislado de suero láctico (WPI) y cera de abeja [30].

c) Aumento de la vida útil desde un punto de vista microbiológico.

Actualmente se investiga la incorporación de antagonistas de los microorganismos causantes de las podredumbres post-cosecha a formulaciones de recubrimientos. Además, algunos componentes utilizados en los recubrimientos poseen por sí mismos actividad antimicrobiana [31].

Cereales y frutos secos.

Los principales métodos en el manejo y almacenamiento se basan en:

a) Permeabilidad

Para la protección de los frutos secos son necesarios recubrimientos que les protejan de la humedad exterior, la cual afectaría en su estructura, y el oxígeno para evitar el enranciamiento de sus lípidos. Los recubrimientos también deben ser impermeables a los propios líquidos del alimento para evitar la migración de los mismos al exterior.

b) Barrera a la humedad.

También se han utilizado ésteres acéticos de ácidos grasos por su adecuada barrera a la humedad para mantener la textura de alimentos deshidratados como cereales para desayuno [20].

Productos de confitería.

Muchos dulces y caramelos requieren del uso de una película de uso comestible para prevenir la pegajosidad, aglomeración, absorción de humedad y migraciones de aceite en caso del chocolate de los dulces. Además, estos recubrimientos se utilizan frecuentemente para conferir brillo a algunos dulces [7].

Alimentos heterogéneos y procesados.

En éstos alimentos es donde se produce la aplicación más interesante, puesto que éstas películas comestibles pueden ser colocadas dentro de las diferentes partes de estos productos compuestos por ingredientes de diferente actividad de agua, como por ejemplo, entre la base de una pizza y todos los demás ingredientes o recubriendo galletas con centro de mermelada.

El recubrimiento de duraznos deshidratados con distintas ceras conservó su contenido de humedad durante su almacenamiento después de haber sido incorporado a un pastel [32]. Además se ha estudiado la utilización de un recubrimiento compuesto por una mezcla de metilcelulosa más ácido palmítico en un cono de helado. Se observó que el cono no mostraba incremento detectable de la humedad durante las semanas de almacenamiento [33].

1.9 Perspectivas a futuro.

En resumen, el desarrollo y utilización de recubrimientos comestibles puede mejorar la calidad y alargar la vida útil de diversos alimentos, retrasando los efectos causados por la transferencia de humedad, oxígeno, migraciones, etc., protegiendo al alimento de microorganismos, manteniendo su integridad estructural y manteniendo su apariencia. Además, se pueden conseguir recubrimientos con propiedades muy variadas de permeabilidad, mecánicas y superficiales debido al gran número de biopolímeros existentes, los cuales representan una fuente inagotable y económicamente accesible.

2.- Proteína aislada de suero de leche y goma de mezquite.

2.1 Proteínas aislada de suero lácteo (WPI).

La leche contiene de 30-36 g/L de proteína total, las cuales se clasifican en proteínas de suero y caseínas. Las proteínas del suero representan el 20% del total de las proteínas y son las proteínas que permanecen en el suero de leche después de la coagulación de la caseína durante la fabricación de quesos debido a su solubilidad [34]. En el pasado era frecuente desperdiciar el suero; sin embargo en la actualidad es económicamente factible concentrar o aislar sus proteínas, las cuales muestran adecuadas funcionalidades y propiedades nutritivas. La obtención y la búsqueda de nuevos usos de esas proteínas suponen al aprovechamiento de este subproducto, el cual se genera en grandes cantidades y cuya eliminación resulta problemática debido a las características de su composición.

La proteína aislada de suero lácteo (WPI) al igual que otras proteínas como, zeína de maíz, gluten de trigo y caseínas han sido estudiadas en los últimos años. Además de su gran valor nutricional, en estos estudios se ha demostrado un número de características funcionales entre las que se encuentran su capacidad de formación de recubrimientos comestibles [35].

Naturaleza de las proteínas de suero de leche.

La WPI se comercializa en forma de polvo y es una mezcla de proteínas con diversas propiedades funcionales. Las principales proteínas que la componen son: α -lactoalbuminas (α -La), β -lactoglobulinas (β -Lg), seroalbúmina bovina (BSA) e inmunoglobulinas (Igs). [30].

La β -lactoglobulina (β -Lg) es la proteína que se encuentra en mayor concentración en el suero lácteo. Su concentración en la leche es de 3.7 g/l [36]. Los monómeros de β -Lg contienen un grupo sulfhidrilo libre y dos enlaces disulfuro [37], bajo condiciones apropiadas esta proteína participa rápidamente en reacciones de intercambios sulfhidrilo-disulfuro consigo misma y con otras proteínas.

La α -lactoalbúmina (α -La), al igual que la α -Lg es una proteína globular con cuatro enlaces disulfuro. Estos enlaces mantienen la estructura globular y la estabilizan contra la desnaturalización [36].

Seroalbúmina bovina (BSA) es una larga proteína globular. Contiene un grupo sulfhidrilo libre. La unión de la BSA con ácidos grasos libre y otros lípidos estabiliza la molécula contra la desnaturalización [36].

Inmunoglobulinas (Igs), pueden actuar como anticuerpos. Se desnaturalizan a mayor temperatura que la β -Lg y la α -La, [38].

Obtención de las proteínas de suero lácteo.

La elaboración de queso va en aumento cada año y ha disparado la producción de suero lácteo, haciendo que la búsqueda de nuevos usos para la proteína de suero lácteo sea un objetivo prioritario de las industrias agroalimentarias. La mayoría de suero no presenta ningún tipo de aprovechamiento o valorización por lo que su vertido supone un problema medioambiental importante.

La adopción comercial de la tecnología de membrana, incluyendo ultrafiltración y las tecnologías de absorción han hecho posible la producción de proteínas de suero de gran calidad con útiles propiedades funcionales [39], estos procesos son de muy bajo costo, muy rápidos y no desnaturalizan la proteína. Los productos obtenidos se clasifican de acuerdo a su composición proteínica de la siguiente manera:

- Concentrado de proteína de suero lácteo (WPC), contiene entre un 25-80% de la proteínica. La concentración proteica de esos productos depende de la membrana usada en el proceso. Generalmente, los procesos de ultrafiltración con membranas de diferentes tamaños de poros, se usan para separar lactosa, minerales y otros

componentes de bajo peso molecular de las moléculas de alto peso molecular, produciendo WPC [40].

- Aislado de proteína de suero lácteo (WPI), es mayoritariamente proteína (>90%). Para su obtención se utiliza cromatografía de intercambio iónico después de que el suero es concentrado previamente por ultrafiltración para reducir el volumen de líquido procesado [41].

Usos de proteína de suero lácteo.

La WPI es muy deseable como ingrediente nutritivo dado su alto valor biológico al contener una alta concentración de aminoácidos esenciales. Además, es una eficaz protectora del sistema inmunológico, dado que existe en su composición cantidades considerables de inmunoglobulinas [42].

De acuerdo a sus características funcionales destaca su capacidad de formación de recubrimientos comestibles

Estructura de la proteína aislada de suero de leche (WPI).

La estructura secundaria, terciaria y cuaternaria de las proteínas puede ser modificada por varios agentes físicos y químicos que incluyen calor, enzimas, presión, irradiación, ácidos, bases y metales iónicos [43]. Estos agentes provocan que los grupos sulfhídricos e hidrofóbicos se expongan produciéndose las interacciones hidrofóbicas y los enlaces disulfuro entre las cadenas poliméricas necesarios para la formación de la película. En el caso de la WPI el método más común para formar películas de WPI es por tratamiento con calor de soluciones acuosas de WPI.

2.2 Propiedades de las películas a base de WPI.

- Las películas resultan transparentes, suaves y no presentan sabor [4]. Sin embargo, en el caso de los recubrimientos basados en WPC, si el almacenaje es prolongado, se puede producir cierto sabor procedente principalmente de la oxidación lipídica, de la reacción de Maylard y de la degradación de las vitaminas lo que puede provocar la pérdida de calidad del producto y hacerlo inaceptable [43].
- Las películas de WPI presentan propiedades adecuadas como barrera al oxígeno, aceite y al aroma a bajas humedades relativas, sin embargo, su naturaleza hidrofílica provoca que sean una pobre barrera a la humedad [30].
- Se ha modificado la estructura proteínica durante la formación de las películas pretendiendo reducir la permeabilidad al vapor de agua, mantener unas buenas propiedades mecánicas y conseguir la solubilidad adecuada según la aplicación, pero aun así esto no es suficiente para convertir a los recubrimientos en buenos protectores contra la humedad.

Aplicaciones.

Se han protegido trozos de manzanas con películas de WPI y se encontró que éstas no afectaron a la respiración ni a la pérdida de humedad de pigmentos verdes cuando eran almacenados a altas humedades relativas [45]. También han sido empleados películas de WPI para proteger comida frágil, como pollo congelado en el cual el recubrimiento mejora la integridad de la comida y reduce las pérdidas por daños [46]. Se han recubierto cacahuates con películas de WPI con el objetivo de reducir el intercambio de oxígeno en el fruto seco [47]. Por otro lado, algunos autores demostraron como estos recubrimientos mezclados con aditivos disminuyen la contaminación microbiana en cáscara de huevo y prolongando la vida de anaquel [48].

2.3 Goma de mezquite.

El mezquite, árbol característico de las zonas áridas, nativo de nuestro país y de él se obtienen diversos beneficios; tanto en medicina y aprovechamiento de su madera, debido a su una gran resistencia a la sequía se ha distribuido para reverdecer tierras áridas dentro y fuera de su espacio natural, por todo esto el mezquite se ha catalogado como un recurso natural de gran importancia.

Cuando los mezquites presentan algún tipo de estrés (infecciones o daños), producen un exudado de su tronco, una resina conocida como goma de mezquite. Esta goma se obtiene recolectando el exudado en forma de lágrimas, que sale de los árboles del mezquite (*Prosopis* spp) principalmente.

Existen algunas similitudes entre la goma del mezquite y la goma arábiga [49], una de ellas es que ambas poseen un alto grado de solubilidad en agua lo que le confiere grandes posibilidades para su uso, en sustitución de la goma arábiga de amplia utilización en México, pero que presenta la desventaja de ser de importación, con variaciones de precios y ocasional desabasto. El color café generado a altas concentraciones de goma de mezquite aplicado en productos horneados o tostados resulta con mejor apariencia.

Naturaleza de la goma de mezquite.

La estructura química de la goma de mezquite ha sido estudiada desde los años 20. En términos generales se ha establecido que es una sal neutra de un polisacárido complejo ácido, formada por un centro de residuos de β -D-galactosa, un esqueleto de azúcares (L-arabinosa, L-ramnosa, β -D-glucuronato y 4-O-metil- β -D-glucuronato) en uniones 1-3 y 1-6, ya sea en forma simple o como oligosacáridos. El contenido de arabinosa representa alrededor del 50% de la molécula.

La goma de mezquite contiene una pequeña fracción de material proteínico (0.7 a 5.8%), formando parte de su estructura, esta fracción proteínica en su seno, disminuye la tensión interfacial y exhibe propiedades emulsificantes, lo que la hace adecuada para una variedad de aplicaciones, entre las que se pueden citar: encapsulante de colores y sabores, como agente espumante y con aplicaciones en la industria de la panificación, entre otras [49]. La secuencia química se ha identificado mediante la Figura 2.

GOMA DE MEZQUITE: (*Prosopis glandulosa*), obtenida a partir de exudado)

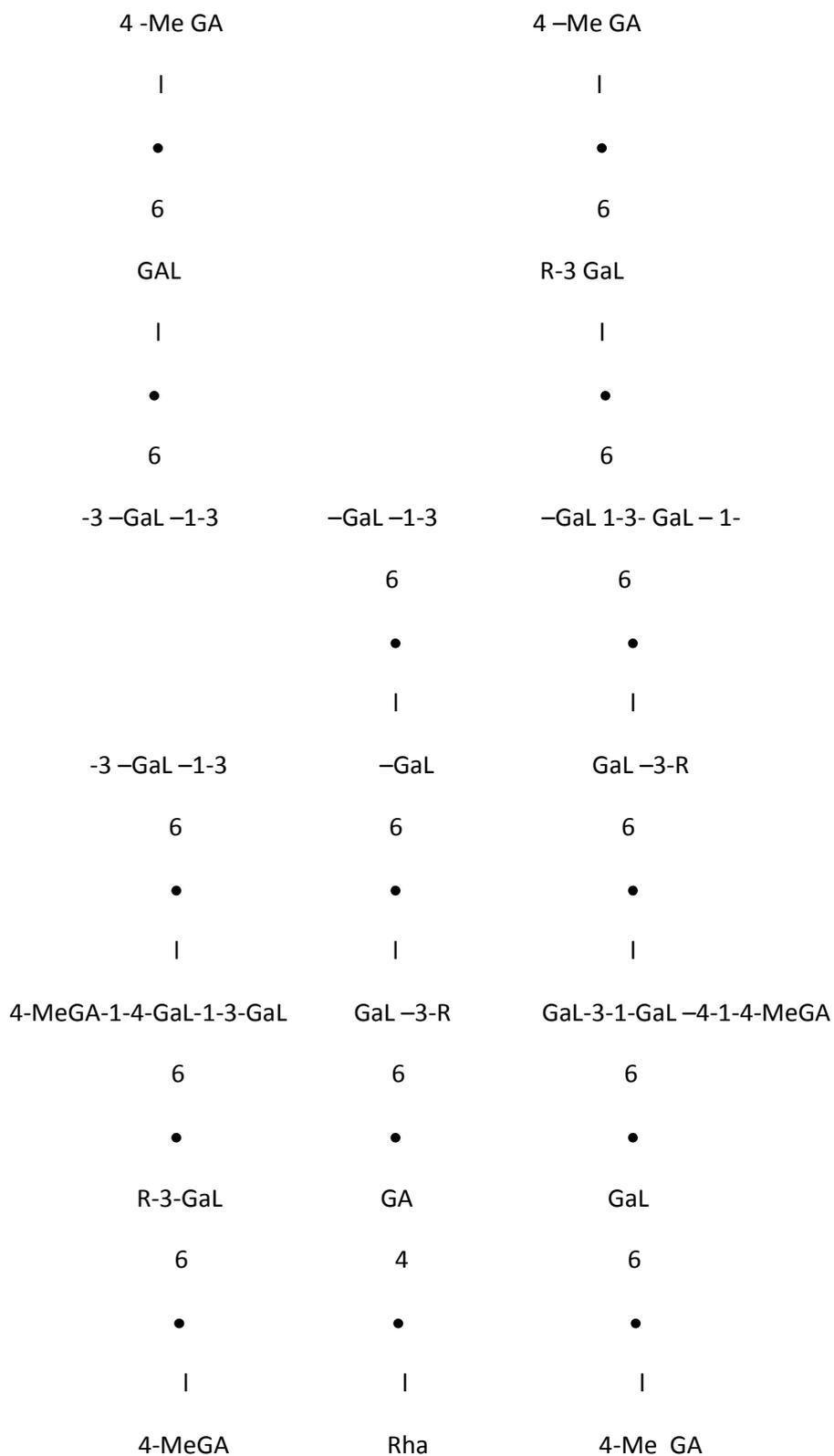


Figura 2. Estructura propuesta para Goma de Mezquite (GM).

Obtención de la goma de mezquite.

Cuando el mezquite es herido en su corteza o ramas produce un exudado conocido como goma de mezquite (GM), se han identificado dos temporadas de producción importante de esta goma en México, la primera entre los meses de febrero a mayo y la segunda octubre y diciembre. En cuanto a disponibilidad de goma en el país, sólo se ha realizado una sola cuantificación, en un bosque de alrededor de 600 km², cuya densidad es de 200 árboles/ha y con una producción media por árbol de 240 g de goma por año [49].

Usos de la goma de mezquite.

Estas características y propiedades le confieren un gran potencial para distintos usos como:

- Agente emulsificante.
- Función encapsulante.
- Biopolímero para la elaboración de recubrimientos y películas comestibles.

Como agente emulsificante, la goma de mezquite es muy efectiva en emulsiones de tipo aceite-agua. En este sentido la fracción proteínica desempeña un papel importante debido a la capacidad en la formación de membranas en la interfase aceite-agua [49].

2.4 Propiedades de películas de goma de mezquite.

- La goma de mezquite forma películas amarillentas, con buen brillo, solubles en agua. Sin embargo en altas concentraciones resultan extremadamente pegajosos lo que dificulta su despegue y manejabilidad [49].
- La goma de mezquite se caracteriza por poseer una buena disposición como agente estructural y se ha mezclado con lípidos para la formación de películas compuestas, mostrando buenas propiedades barrera a la humedad [50].

Aplicaciones de las películas de goma de mezquite.

Debido a sus propiedades para formar películas se ha utilizado como agente microencapsulante de colorantes naturales [49]. En aplicaciones farmacéuticas se ha utilizado para formar cápsulas de medicamentos [51]; debido a sus características resulta un adecuado sustituto en gommas de uso común como la arábica.

2.5 Películas comestibles a base de WPI y GM.

Como se ha mencionado, las películas basadas únicamente en polisacáridos presentan generalmente una moderada barrera de humedad y buenas propiedades mecánicas y ópticas [52], mientras que las películas de proteínas son muy buenas barreras al oxígeno pero son altamente sensibles a la humedad [37]. Una alternativa para cambiar las ventajas de cada uno es diseñar películas compuestas de ambos componentes. De este modo se pueden obtener películas comestibles con propiedades mejoradas o modificadas de acuerdo a las necesidades de aplicación [7].

La proteína aislada de suero lácteo (WPI) forma películas con excelentes propiedades de barrera al oxígeno a bajas o intermedias humedades relativas pero su naturaleza hidrofílica hace que posean una baja permeabilidad al vapor de agua [18]. La goma de mezquite (GM) forma películas flexibles con la adición de muy pocas cantidades de plastificante [53], y con unas adecuadas propiedades de barrera al vapor de agua [50]. Dependiendo de la composición, las propiedades funcionales de estas películas compuestas varían, por lo que el conocimiento de la forma en que cada componente interactúa física o químicamente, facilita el diseño de películas o recubrimientos con características estructurales y de barrera específicas para su aplicación en alimentos [54].

Propiedades.

Las películas basadas en proteína aislada de suero lácteo(WPI) y goma de mezquite (GM) ha recibido mucha atención en los últimos años ya que al combinarse las propiedades de proteína y polisacárido se obtienen películas transparentes, flexibles con adecuadas propiedades de barrera en oxígeno y vapor de agua cuando se adicionan pequeñas cantidades de plastificante en su formulación. Se ha estudiado [1] la compatibilidad de GM y WPI en películas compuestas y se encontró que la proteína aislada de suero de leche (WPI) y la goma de mezquite(GM) resultan totalmente compatibles y dan como resultado recubrimientos íntegros aún al variar las proporciones de cada componente, además se ha demostrado que la incorporación de distintas cantidades de GM sobre la WPI permite obtener películas compuestas con flexibilidad mejorada sin la necesidad de usar grandes cantidades de plastificante y la permeabilidad al vapor de agua no resulta modificada por la cantidad de GM empleada en la formulación del recubrimiento.

Las películas de WPI-GM presentan excelentes propiedades funcionales para sus posibles aplicaciones sobre distintos alimentos, sin embargo existe una limitación derivada de la opacidad que presentan y el color amarillento de la película cuando la cantidad de GM es elevada ya que el consumidor establece generalmente una relación entre alimento y color original.

Aplicaciones

Las películas de WPI-GM actuando como barrera frente al oxígeno pueden retrasar el desarrollo del enranciamiento de los de los aceites vegetales y por tanto de todos aquellos alimentos ricos en ácidos grasos poliinsaturados. Tanto el contenido del plastificante como el espesor de las películas afectan de forma significativa a su capacidad de protección, siendo las películas más efectivas las de menor espesor con el menor contenido de plastificante.

Se han aplicado películas de WPI-GM sobre pechugas de pollo, resultando éstas homogéneas, transparentes y con una buena adhesión, sin afectar la textura, color y pH del producto. Además los recubrimientos de WPI-GM pueden ser utilizados como una capa extra sobre la que se pueden añadir diferentes aditivos [1]. También se ha evaluado [55] el uso de estos recubrimientos en alimentos compuestos para larvas de camarón *Litopenaeus vannamei*, demostrando propiedades adecuadas como agente encapsulante.

Perspectivas.

Las propiedades de películas comestibles a base de proteína aislada de suero lácteo (WPI) y goma de mezquite (GM) que se han analizado y que resultan de mucha importancia para su funcionalidad son las relacionadas con transferencia de materia (permeabilidad al oxígeno, a los lípidos, aromas) y las propiedades mecánicas (pruebas de tracción o de penetración). Sin embargo las propiedades superficiales (como la tensión superficial y grado de hidratación) sólo han sido estudiadas de forma limitada a pesar de su importancia a la hora de aplicar estos recubrimientos sobre la superficie de los alimentos. El objetivo de este estudio es el desarrollo de películas WPI-GM con aplicaciones mejoradas sobre superficies de naturaleza semejante, además de contribuir con la reciclabilidad prolongando a su vez la vida útil de alimentos frescos y procesados.

CAPÍTULO II PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS Y DE SUPERFICIE.

Naturaleza de las superficies.

La humectabilidad de superficies sólidas depende principalmente de la naturaleza química y de las propiedades de microestructura [56]. Actualmente existen numerosas técnicas empleadas en la modificación del grado de hidratación y humectabilidad en superficies sólidas, las técnicas que usan materiales de baja energía superficial son técnicas comúnmente empleadas para el control de la humectabilidad [57], otros métodos como el "Sputtering" se basan en la fijación de átomos en superficies sólidas por medio de intercambio iónico modificando de ésta manera la estructura superficial [58]. En superficies compuestas como los recubrimientos, la naturaleza química dependerá de las interacciones entre sus componentes, y las modificaciones derivadas del método de elaboración. Así en la comparación de grupos hidrófobos en superficie de películas comestibles es necesario un análisis por el cual se obtenga una idea acerca de la naturaleza química y de las estructuras predominantes que contribuyan a su grado de hidratación. A continuación se describen las técnicas empleadas en recubrimientos comestibles a base de WPI-GM. También se describen las consideraciones que se han de tomar en cuenta para su determinación y obtener un estudio confiable. Estos estudios comprenden un análisis térmico de los cuales se estudia el análisis termogravimétrico y análisis calorimétrico, un estudio de microestructura y finalmente las técnicas comúnmente empleadas en la medición del ángulo de contacto.

3.- Análisis térmico.

El análisis térmico (TA) como un término, es frecuentemente usado para describir una técnica experimental analítica la cual muestra el comportamiento de una muestra en función de la temperatura. El análisis térmico incluye diferentes técnicas bajo este mismo principio, en el Cuadro 2, se listan las comúnmente empleadas y su determinación para un análisis de muestra.

Determinación.	Método (TA)	Abreviación
Masa.	Termogravimetría.	TG
Diferencia de temperatura.	Análisis térmico diferencial.	DTA
Entalpia.	Análisis calorimétrico.	DSC
Longitud, volumen.	Dialometría.	-
Deformación.	Análisis termomecánico.	TMA
Corriente eléctrica	Termoestimulación de corriente	TSC
Luminiscencia.	Termoluminiscencia.	TL

Cuadro 2. Análisis térmico [59].

En general los equipos de análisis térmico consisten en un sensor de propiedades físicas, un horno con atmósfera controlada y un programa de temperatura. Las ventajas de un análisis térmico en comparación con otros métodos analíticos pueden ser resumidos como:

- La muestra puede ser estudiada en un amplio intervalo de temperaturas.
- La mayoría de las formas físicas de la muestra (sólido, líquido o gel) pueden ser analizadas utilizando pequeños y diferentes recipientes.
- Requiere una pequeña muestra (0.1 µg-10mg).
- La atmósfera en la cámara de la muestra puede ser modificada.
- El tiempo requerido para el análisis es relativamente corto.

Dentro de la variedad de pruebas que ofrece un análisis térmico se han considerado dos medidas aplicables a recubrimientos las cuales tienen relación con la naturaleza química de superficie y estructural originadas por interacciones durante su elaboración, por tanto las pruebas incluyen análisis calorimétrico y análisis termogravimétrico, a continuación se describe cada una de ellas así como los datos que arrojan y la importancia en el estudio de recubrimientos y películas comestibles.

3.1 Análisis calorimétrico (DSC)*.

El análisis calorimétrico (DSC), es una técnica que genera datos térmicos y termodinámicos. Su técnica se basa en medir la energía suministrada a una muestra, y a un material de referencia, en función de la temperatura (°C), llamado flujo de calor (W/g), en tanto que la muestra y el material de referencia son sometidos a un programa de calentamiento o enfriamiento controlado [60]. La técnica DSC detecta cambios endotérmicos, (+ΔH) y exotérmicos, (-ΔH) que ocurren durante el calentamiento o enfriamiento a que es sometida la muestra, esta respuesta es conocida como termogramas, en donde se muestra el flujo de calor en función de la temperatura.

*Differential Scanning Calorimetry.

Microcalorimetría.

El microcalorímetro posee una alta sensibilidad y maneja intervalos de temperatura de $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, con una velocidad de calentamiento de entre 0.1 a 1 grado/s. Generalmente estos equipos cuentan con celdas para la muestra, que pueden ser recipientes batch o recipientes donde se introduce un fluido a una velocidad constante.



Figura 3 Microcalorimetro (DSC).

La calorimetría en el comportamiento de Proteínas.

El análisis calorimétrico (DSC) permite la adquisición de datos termodinámicos como el comportamiento térmico de proteínas concentradas y en solución, es también aplicado en mezclas complejas con polisacáridos o con proteínas de naturaleza diferente. Por medio de DSC se puede hacer un estudio de la estabilidad de las proteínas, en general este estudio se basa en la caracterización a cardé a la estructura, cinética y dinámica. Si bien las proteínas se encuentran inicialmente en un estado plegado, llamado estado nativo, cuando éstas son sometidas a cambios inducidos por medio de un tratamiento térmico, la mayoría de las proteínas se desnaturalizan, originando cambios detectables en su estructura.

En un análisis calorimétrico (DSC), la desnaturalización térmica de las proteínas se detecta en el termograma en forma de una curva endotérmica. Esta se da cuando los enlaces de hidrógeno son rotos por medio de una reacción que requiere energía calorífica. La agregación y el rompimiento de las interacciones hidrofóbicas son, por el contrario, reacciones exotérmicas, así, finalmente se puede calcular entalpía (ΔH) a través de la tendencia registrada en dicho termograma. En la Figura 4 se muestra una identificación tentativa de la transición térmica en la estructura predominante en WPI obtenida a partir de la técnica DSC. Las temperaturas registradas en un termograma son; T_{ONSENT} ésta será la temperatura a las cual se deriva la transición y se denomina temperatura ONSENT POINT o temperatura de transición, en este punto se inicia la modificación en la estructura del sistema por efecto de la temperatura y T_P o PEAK que es la temperatura del pico en la cual se obtiene una desnaturalización total, y ΔH representa la energía total a lo largo del tratamiento.

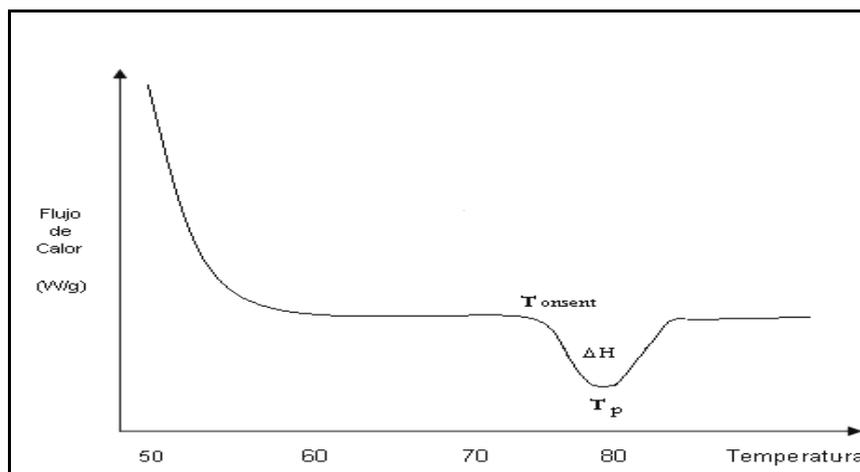


Figura 4 Representación gráfica de un análisis DSC.

La Figura 4, muestra que la proteína predominante posee una capacidad calorífica (C_p) definida así como una cantidad de calor que es necesaria para la transición del estado nativo al desnaturalizado, el cual se ve reflejado en el área del pico, y éste a su vez, está representado por el ΔH de transición.

En la investigación para examinar los recubrimientos, mediante el uso de DSC, es un acuerdo decir que la proteína es la responsable de las transiciones que aparecen, por lo que entonces no es sorprendente que un estudio de DSC solamente mida los cambios netos y no las diferentes causas de un cambio endotérmico, como son la energía de activación requerida para la desnaturalización y los procesos exotérmicos de agregación.

Es importante también considerar el número y variedad de proteínas existentes en un sistema complejo como los recubrimientos compuestos a base de WPI-GM, por lo que se puede decir que no es un cambio sino que es todo un proceso simultáneo. Además en este estudio también es importante el medio en el que las proteínas están dispersas, pues será éste el medio circundante de la proteína lo cual afectara a la temperatura de desnaturalización.

3.2 Análisis termogravimétrico (TGA).

Es la rama del análisis térmico la cual examina los cambios de masa en una muestra en función de la temperatura. Esta técnica es empleada para caracterizar la desintegración y estabilidad térmica de diversos materiales bajo una variedad de condiciones, además se usa también para examinar la cinética de los procesos fisicoquímicos ocurridos en una muestra [59]. La determinación para un análisis termogravimétrico (TGA) consiste en una fuente de energía (generalmente un horno) asociado a un sistema aislado y mediante un sensor de microbalanza, se registra la variación de peso (W) de muestra en función del tiempo y de la temperatura [60]. No todos los eventos térmicos generan variaciones respecto a la masa original de una muestra (reblandecimiento o cristalización) sin embargo existen numerosas excepciones que la incluyen (resorción, absorción, sublimación, vaporización, reacciones de oxido-reducción) en las cuales resulta útil un análisis termogravimétrico si se requiere profundizar en su estudio.

En este caso el equipo usado para el análisis termogravimétrico cuenta con sensores de peso y temperatura que son calibrados periódicamente, el tamaño de muestra se puede encontrar en un intervalo de entre 0.1 mg hasta 10 g y puede lograr velocidades de calentamiento de hasta 50 °C/min. La Figura 5 presenta el equipo TGA empleado.

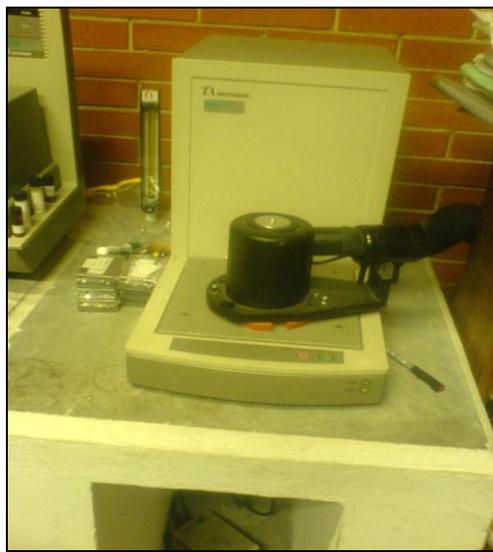


Figura 5 Equipo termogravimétrico T.A. INSTRUMENTS^{MR}.

En la Figura 6, se presenta una curva típica para un estudio de análisis termogravimétrico en el cual se expone la relación entre ΔT y % en pérdida de peso (W), las temperaturas T_1 y T_2 indican consecutivamente, la temperatura a la cual se inicia la descomposición de la muestra y la temperatura final a la cual el sistema no detecta variación con respecto al peso de la muestra al aumentar la temperatura. Los valores de estas temperaturas no guardan ninguna significancia con el intervalo de reacción por tanto son independientes de las condiciones de experimentación.

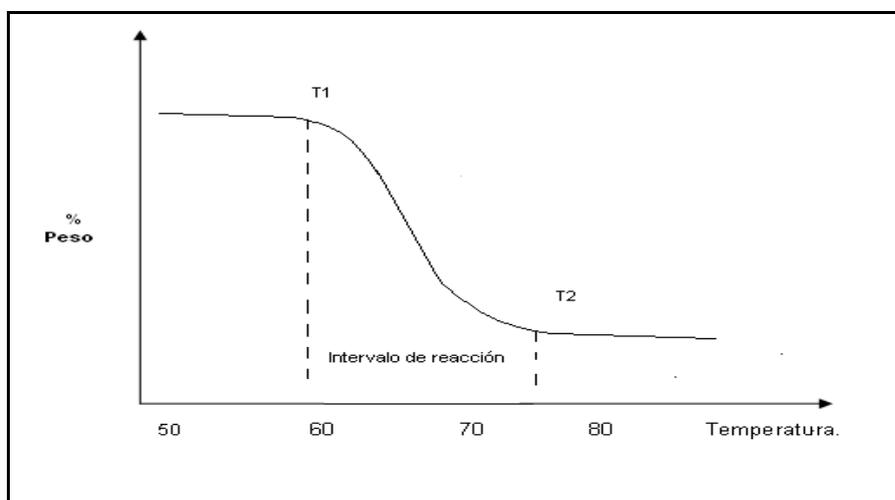


Figura 6 Representación gráfica de un análisis TGA.

Un cambio en las características de masa en diversas muestras está fuertemente relacionado con las técnicas y condiciones empleadas, factores como el tamaño de muestra, forma física, naturaleza y condiciones atmosféricas son algunos factores que orientan los resultados en una curva obtenida a partir de un análisis termogravimétrico [59].

4.- Microestructura.

La estructura es una expresión de las interacciones que ocurren entre las moléculas que integran las superficies. La microestructura de las películas comestibles es de gran utilidad para comprender sus propiedades y su comportamiento bajo determinadas condiciones. Existen estudios en los cuales se han examinado recubrimientos de caseína con microscopía electrónica de barrido (SEM), esta técnica permite observar que los recubrimientos tienen una estructura más porosa en el centro que en los bordes. También se ha usado microscopía electrónica de transmisión (TEM) para revelar presencia de residuos de grasa de leche en la matriz del recubrimiento de WPC [61]. De los diferentes métodos para determinar la microestructura, la microscopía de fuerza atómica (AFM) presenta un gran número de ventajas sobre otras técnicas como las denominadas TEM y SEM. Las técnicas de AFM nos brindan información tridimensional de alta resolución en espacio real de manera muy sencilla, todo esto con una pequeña muestra representativa. Por tanto, la microscopía de fuerza atómica (AFM) se presenta como una herramienta muy útil en pruebas en donde se requiera obtener información a cerca de propiedades como la rugosidad de superficies.

Determinación de la microestructura por (AFM).mecánico

Para la determinación de la microestructura se utilizó un microscopio de fuerza atómica. Este es un instrumento mecánico óptico que detecta fuerzas a nivel atómico. El equipo trabaja llevando la punta de una placa en contacto con la superficie de la cual se va a tomar la imagen, luego una fuerza iónica repulsiva aplicada desde la superficie a la punta dobla la placa hacia arriba. La cantidad de doblamiento, medida por un punto láser se refleja en un fotodetector, al mantener la fuerza constante mientras rastrea la punta sobre la superficie, el movimiento vertical de la punta sigue el perfil de la superficie y se graba como la topografía por AFM (Figura 7).

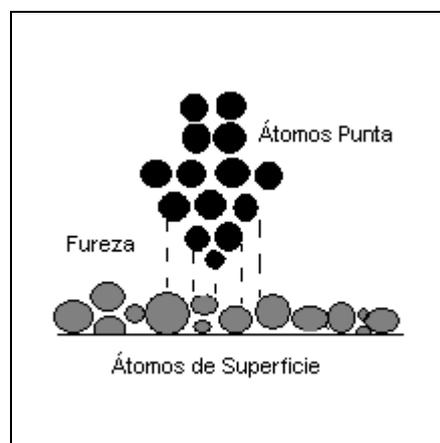


Figura 7 Microscopía de fuerza atómica (AFM).

5.- Ángulo de contacto.

La humectación es un componente esencial en muchas aplicaciones y procesos como son la difusión, desarrollo de superficies biocompatibles, control en la permeabilidad al vapor de agua, membranas y más [62]. El sistema de humectación consiste en una gota dispuesta en una superficie sólida inmersa en un fluido, este último puede ser un gas u otro líquido. Existen algunos otros sistemas de configuraciones en sólido-líquido-fluido. Como es un líquido dentro de un medio poroso o una partícula flotante en una interfase líquido-fluido. En todos estos sistemas la medida con características más importantes es el ángulo de contacto, ya que se usa, entre otras aplicaciones como una traducción cuantitativa para determinar la afinidad del líquido por un material sólido. Esta medida varía entre 0° , donde hay un mojado completo debido a que la energía superficial del sólido es mayor que la del líquido, y 180° , donde el líquido toca la superficie sólida justo en un punto.

La medición del ángulo de contacto se considera como una medida simple y directa, sin embargo ésta impresión no es por completo satisfactoria, ya que se pueden obtener valores de ángulo de contacto erróneos derivado de una mala interpretación. Debido a ello es necesario describir las principales características y las consideraciones necesarias para la medición del ángulo de contacto, no solo en recubrimientos comestibles sino en general para los diferentes sistemas de humectación, enmarcando así, la importancia de su uso.

Definición.

El ángulo de contacto es el ángulo que forma la interfase sólido-líquido y la tangente a la interfase líquido-vapor en el punto en que se encuentran las tres fases. En la Figura 8 se muestra su representación gráfica.

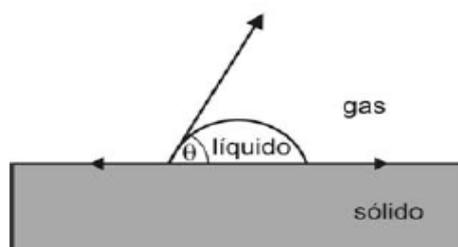


Figura 8 Ángulo de contacto.

Cuando se coloca una gota de líquido en una superficie sólida, no absorbente, pronto alcanza la condición de equilibrio. La lectura del ángulo de contacto determinada en esta condición se denomina *ángulo de contacto estático*. Por otra parte cuando el líquido es depositado en materiales absorbentes, éste penetra en el sustrato y el ángulo de contacto cambiará continuamente en función del tiempo, en este caso nos referimos al *ángulo de contacto dinámico*. Para medir el ángulo de contacto dinámico, así como el intervalo o grado de absorción es necesario captar una secuencia de imágenes durante la interacción.

5.1 Técnicas de medición.

La determinación del ángulo de contacto estático dependerá directamente de las fases y formas físicas involucradas en el sistema, sin embargo la técnica de la gota dispuesta sobre la superficie sólida conocida como *Sessile Drop Method* se usa frecuentemente. En este caso la medida se toma a partir de una proyección sobre una pared generalmente graduada, esta proyección resulta al incidir una fuente de luz sobre la gota dispuesta. Otra técnica útil, es conocida como *Captive Bubble* (una burbuja inmersa en un líquido generalmente tiende a desplazarse hacia la superficie, esta burbuja puede ser retenida por una superficie sólida que impida su desplazamiento) es comúnmente empleada para la determinación de ángulo de contacto en sistemas gaseosos. Cuando se trabaja con líquidos inmiscibles se usa comúnmente la técnica *Wilhemmy Plate*, en este caso la superficie sólida se coloca en el fondo de un sistema líquido, luego es depositada una gota que alcanzará esta placa y finalmente se determina la medición, en esta situación resulta de particular importancia la diferencia de densidades sobre en los resultados obtenidos a partir de de este método.

En la Figura 9, se muestra esquemáticamente la técnica de medición para ángulo de contacto de uso común, en ella se observa el grado de hidratación que podría definirse como una total humectación hasta una nula afinidad entre el líquido y la superficie.

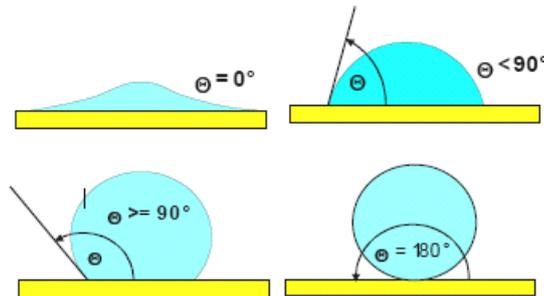


Figura 9 Método de la gota dispuesta.

Determinación.

Esta técnica de la gota dispuesta *Sessile Drop Method* se ha empleado para la determinación del ángulo de contacto en los recubrimientos mediante el equipo TANTEC Contac Angle Meter (Figura 10) El funcionamiento se basa en la medición del ángulo de contacto mediante una proyección de una gota sobre una superficie graduada. El equipo permite enfocar la proyección, así como modificar el posicionamiento sobre la placa. Cuenta además con un equipo adjunto (reproductor de luz) que permite la regular la intensidad necesaria para una adecuada medición.



Figura 10 Equipo TANTEC Contac angle meter.

Tensión Interfacial.

Las *fuerzas de cohesión* (fuerzas atractivas) existentes entre las moléculas de un líquido se cancelan en el conjunto de la masa líquida, porque cada molécula está completamente rodeada de moléculas similares (Figura 11). En la superficie, las fuerzas dirigidas hacia el exterior se pierden, de modo que hay una fuerza resultante dirigida hacia la masa del líquido, a esta fuerza se le conoce como: *tensión interfacial*. Por lo tanto, la tensión interfacial se define como una fuerza que opera sobre una superficie y actúa perpendicularmente y hacia dentro de los límites de la misma, con tendencia a disminuir el área de la interfase.

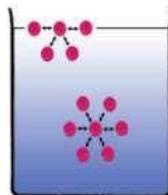


Figura 11 Tensión interfacial.

El ángulo de contacto entre una gota de líquido con una tensión superficial conocida y una superficie sólida depende de la relación entre las *fuerzas adhesivas* que son las responsables de la disposición de gotas sobre la superficie y las *fuerzas cohesivas* del líquido que hacen contraer la gota adoptando la forma esférica, ya que ésta es la que exhibe una superficie de energía libre mínima (Figura 12).



Figura 12 Estado de energía mínima.

5.2 Ángulo de contacto ideal.

En un sistema de humectación se consideran tres tensiones interfaciales; líquido-fluido, σ_{lf} , sólido-líquido, σ_{sl} , y sólido-fluido, σ_{sf} . La primera correlación entre el ángulo de contacto y las tensiones interfaciales fue propuesta por Thomas Young (1796), y se expresa mediante la siguiente ecuación.

$$\cos\theta_{\gamma} = \frac{\sigma_{sf} - \sigma_{sl}}{\sigma_{lf}} \quad \text{Ecuación 2}$$

Es importante destacar que la ecuación 2, fue desarrollada para el caso de una superficie sólida ideal y ésta se considera como una superficie rígida, lisa, con superficies químicamente homogéneas, insolubles y por tanto no reactivas. El ángulo de contacto medido en una superficie sólida ideal se considera como ángulo de contacto ideal (ACI), el cual depende sólo de la naturaleza físico-química de las tres fases y es independiente, entre otros factores, de la gravedad.

Existen suficientes razones para considerar que la ecuación propuesta por Young debe ser modificada, y de ella se derivan numerosas ecuaciones, existen por ejemplo la que considera despreciable la tensión interfacial sólido-fluido, σ_{sf} , algunas otras consideran importante la naturaleza del líquido o incluso se considera la presión atmosférica y más [63][64]. Así, dependiendo del objetivo de estudio y las condiciones que se han de evaluar, esta ecuación tomará una expresión diferente.

En la presente revisión se propone un especial interés en las consideraciones para una adecuada medición del ángulo de contacto y su interpretación así como el planteamiento de las ecuaciones involucradas.

5.3 Ángulo de contacto real y aparente.

De manera cotidiana se encuentra que las superficies sólidas presentan diferentes niveles de rugosidad, en este sentido, cabe la discusión acerca de un ángulo de contacto real y el ángulo de contacto aparente (Figura 13). Esquemáticamente se hace esta referencia cuando se busca la evaluación en superficies con altos niveles de rugosidad.

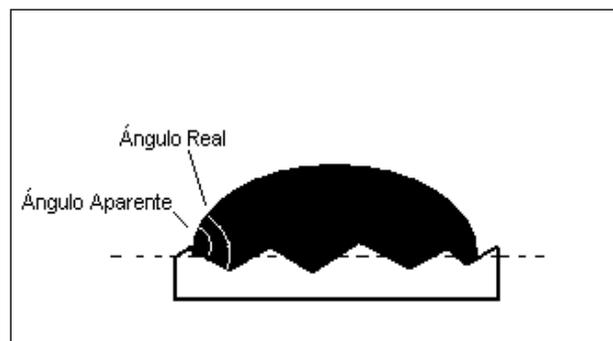


Figura13 Ángulo de contacto real y aparente

El ángulo de contacto aparente es referido como el ángulo entre la tangente de la interfase líquido-fluido y la línea que representa la superficie sólida desde una vista macroscópica, para definir el ángulo de contacto real, podría ser de utilidad la definición de Young, si la línea del ángulo de contacto que parte de la rugosidad resulta significativa. Aunque el nivel de rugosidad podría originar una notable diferencia entre uno y otro y la medición del ángulo de contacto real es necesaria para la evaluación en tensión superficial en superficies sólidas, de manera práctica resulta inaccesible establecer un alto nivel de rugosidad, por tanto en la mayoría de las determinaciones se considera despreciable este nivel de rugosidad obteniendo así ángulo de contacto aparente ya que se puede tratar a estas mediciones de una manera razonable.

Histéresis.

Una dificultad existente en la interpretación del ángulo de contacto resulta en la observación para superficies reales ya que en la práctica, cuando la gota se deposita, es común encontrarse con más de una línea de contacto aparentemente estable [65]. A los valores de líneas de contacto que modifican la lectura se le llama histéresis y se describe como una variante para esta determinación, alcanzando en la mayoría de los casos, valores significativos.

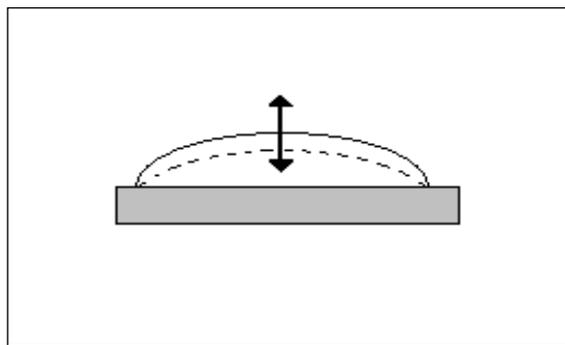


Figura 14 Histéresis de ángulo de contacto.

En un principio el sistema tiende a alcanzar un estado estable, el cual se consigue al llegar a un nivel de energía total mínima. Sin embargo, este estado no siempre se alcanza de manera inmediata ya que la tensión superficial de la superficie sólida puede cambiar de punto a punto debido a la heterogeneidad química [62], entonces el incremento o disminución de la línea de ángulo de contacto se puede interpretar como una variante al pretender el sistema alcanzar un estado de equilibrio de mínima energía para esa región. Como se ha mencionado, la inclinación de la superficie sólida puede así mismo, variar en las diferentes regiones a causa de la rugosidad. Se puede considerar en este sentido que si además, en la determinación de ángulo de contacto existen energías externas de impulso como la vibración, este sistema estará limitado aún más en el alcance de su estado de energía global mínima, es decir, el estado de condición más estable. Por tanto, los autores recomiendan el espacio de un tiempo considerable entre la colocación de la gota y la medición del ángulo de contacto, sobretodo cuando se trata con superficies químicamente heterogéneas no absorbentes obteniendo así resultados de mayor confiabilidad.

5.4 Naturaleza de superficies y ángulo de contacto.

En 1936 Wenzel desarrolló una expresión matemática que utiliza la ecuación de Young y es aplicable para superficies rugosas en la determinación de ángulo de contacto.

$$\text{Cos}\theta_w = r\text{Cos}\theta\gamma \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde r , representa una relación de rugosidad definida como una correspondencia entre el ángulo de contacto real y el ángulo de contacto aparente ($r = 1$ en superficies lisas y >1 en superficies rugosas). Es importante destacar que ésta expresión considera una situación en la cual, el líquido penetra completamente sobre la superficie rugosa y que no existen burbujas de gas entre las rugosidades. Algunos autores consideran que esta expresión resulta de mayor utilidad si se relaciona el tamaño de gota con la escala de rugosidad [66]. Estudios previos indican que la ecuación de Wenzel es aplicable cuando el tamaño de gota se encuentra entre dos y tres órdenes de magnitud en comparación con la escala de rugosidad [67].

De la misma forma, algunos objetivos se basan en establecer una relación entre el ángulo de contacto aparente sobre superficies sólidas químicamente heterogéneas, en las cuales esta diferencia origina una marcada variación para tensión superficial en cada región. Para ello Cassie formuló una relación matemática la cual se puede aplicar en la determinación del ángulo de contacto sobre superficies heterogéneas y que presentan dos variaciones [68].

$$\text{Cos}\theta_c = X_1\text{Cos}\theta\gamma_1 + X_2\text{Cos}\theta\gamma_2 \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde X representa la fracción de área con características químicas semejantes, y el subíndice 1 y 2 indican diferentes superficies que resultan químicamente homogéneas. En este caso la línea de contacto viene dada como una media de acuerdo a la fracción de área con características químicas semejantes, además como en el caso de la ecuación 3 de Wenzel, la ecuación 4 de Cassie es también una aproximación que resulta mejor cuando el tamaño de la gota es mayor en comparación de las áreas con heterogeneidad química [67].

Como se ha mencionado anteriormente, las superficies rugosas pueden facilitar el depósito de pequeñas burbujas de gas por debajo de la fase líquida. En este caso, la superficie sólida puede considerarse como una superficie químicamente heterogénea y la ecuación de Cassie puede aplicarse mediante la siguiente relación:

$$\text{Cos}\theta_{CB} = fr_f\text{Cos}\theta\gamma - \left(-f\right) \quad \text{Ecuación 5}$$

En la ecuación 6, propuesta por Cassie & S. Baxter se considera el gas como un segundo comportamiento químico [68]. Donde f representa la fracción de área de la superficie sólida que ha sido humectada por el líquido, y r_f representa la relación de rugosidad para el área humectada. Entonces cuando $f=1$, $r_f = r$, en este caso, la ecuación 6 se reduce a la ecuación 4 o de Wenzel. Sin embargo, se ha demostrado que esta transición no solo depende de la relación que involucra la rugosidad, sino que, depende además de una geometría específica.

Una adecuada medición e interpretación del ángulo de contacto es objetivo de importantes aplicaciones, sin embargo, existen algunas dificultades teóricas y experimentales en el alcance de estos objetivos, por ello es importante considerar las limitaciones bajo las cuales se sitúa nuestro sistema de humectación, además las variaciones que estas condiciones pueden arrojar sobre los valores obtenidos, durante la determinación del ángulo de contacto, por tanto si se consideran estas y otras observaciones se podrán obtener objetivos razonables.

CAPÍTULO III DISEÑO EXPERIMENTAL.

6.- Objetivo general.

- ❖ A partir de la medición del ángulo de contacto en un sistema proteína- polisacárido, variando la concentración de hidrocoloides y la desnaturalización proteínica se comparara los grupos hidrófobos de superficie utilizando el equipo Contact Angle Meter y con ello determinar los recubrimientos de mayor estabilidad en un sistema de humectación.

7.- Objetivos Particulares:

- Evaluar experimentalmente el efecto de la concentración de hidrocoloides sobre el grado de hidratación en películas WPI-GM, a presión P y grado de desnaturalización constante.
- Evaluar experimentalmente el efecto de la desnaturalización proteínica de hidrocoloides sobre los grupos polares presentes en películas WPI-GM a concentración y presión constante.
 - Analizar el efecto de la concentración en la interacción proteína-polisacárido en películas a base de WPI-GM.
 - Analizar el efecto de la concentración de hidrocoloides sobre las propiedades de humectación en películas WPI-GM.
 - Analizar el efecto de la desnaturalización proteínica mediante la exposición de los grupos polares presentes en el sistema WPI-GM.
 - Analizar el efecto de las propiedades físicas (rugosidad) y químicas (sitios de agregación) en películas comestibles a base de WPI-GM sobre la determinación de ángulo de contacto.

8.- Materiales.

Materiales:

- Agitador magnético.
- Aros y superficies niveladas.
- Espátula.
- Guantes de látex.
- Pipeta graduada.
- Piseta.
- Probeta graduada.
- Termómetro.
- Varilla de agitación.
- Vaso de precipitado.
- Vidrio de reloj.

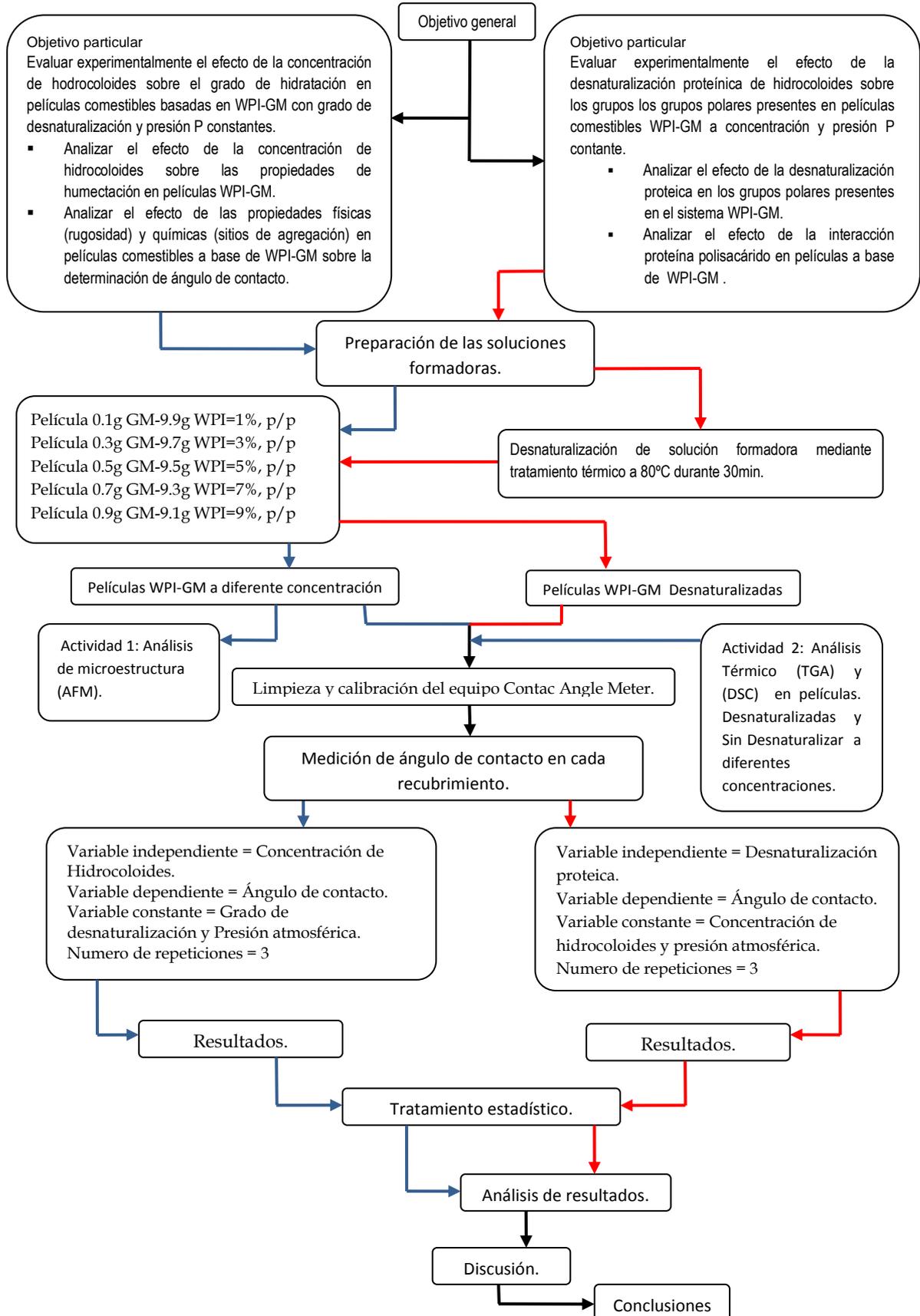
Sustancias.

- Agua destilada.
- Goma de mezquite (GM).
- Proteína aislada de suero de leche (WPI).
- Sorbitol.

Equipos.

- Balanza analítica.
- Contact Angle Meter (U.S.) TANTEC™
Inventario U.N.A.M. 1810230
- Equipo Termogravimétrico T.A. INSTRUMENTS™ Thermal
Analysis SDT 2960. Inventario U.N.A.M. 1773471
- Equipo D.S.C., C.S. 32 Steram Scientific & Industrial Equipment.
Universidad Iberoamericana.
- Microscopio de fuerza atómica VECCO INSTRUMENTS™
Autoprobe. *Universidad Iberoamericana.*
- Equipo desgasificador (homogenizador) Silverson L4R.
- Potenciómetro RS. 325, OAKTON™ Singapore.
- Baño de temperatura con agitación Waterbath, PolyScience™.
- Parrilla de calentamiento con agitación, Thermolyne™.

9.- Diseño experimental y métodos.



Formación de películas.

Para realizar las películas se utilizaron proteína aislada de suero de leche (WPI) procedente de Davisco Foods International (Le Sueur, MN, E.E.U.U.) y goma de mezquite (GM) que se obtuvo de Natural Products (México D.F.). Como plastificante se utilizó sorbitol suministrado por Panreac Química S.A.

La preparación de las disoluciones de WPI-GM formadoras de películas se basó en la siguiente Formulación Cuadro 3:

Formulación base húmeda para películas comestibles			
1%		3%	
10g -----	90 ml H ₂ O	10g -----	90 ml H ₂ O
0.1g GM -----	0.9 ml H ₂ O	0.3g GM -----	2.7 ml H ₂ O
9.9g WPI-----	89.1 ml H ₂ O	9.7g WPI-----	87.3 ml H ₂ O
5%		7%	
10g -----	90 ml H ₂ O	10g -----	90 ml H ₂ O
0.5g GM -----	4.5 ml H ₂ O	0.7g GM -----	6.3 ml H ₂ O
9.5g WPI-----	85.5 ml H ₂ O	9.3g WPI-----	83.7 ml H ₂ O
9%			
10g -----	90 ml H ₂ O		
0.9g GM -----	8.1 ml H ₂ O		
9.1g WPI-----	81.9 ml H ₂ O		

Cuadro 3. Formulación empleada en recubrimientos WPI-GM

El Método propuesto por algunos autores, se utilizó para la realización de las películas comestibles de WPI-GM [17]. Esta metodología para la elaboración de películas se describe mejor en el siguiente diagrama de proceso (Figura 15) de películas, en él se resumen las condiciones empleadas en cada etapa, la fase que indica desnaturalización para las soluciones es suprimida para los recubrimientos S/D.

Cuadro metodológico para la obtención de recubrimientos WPI-GM

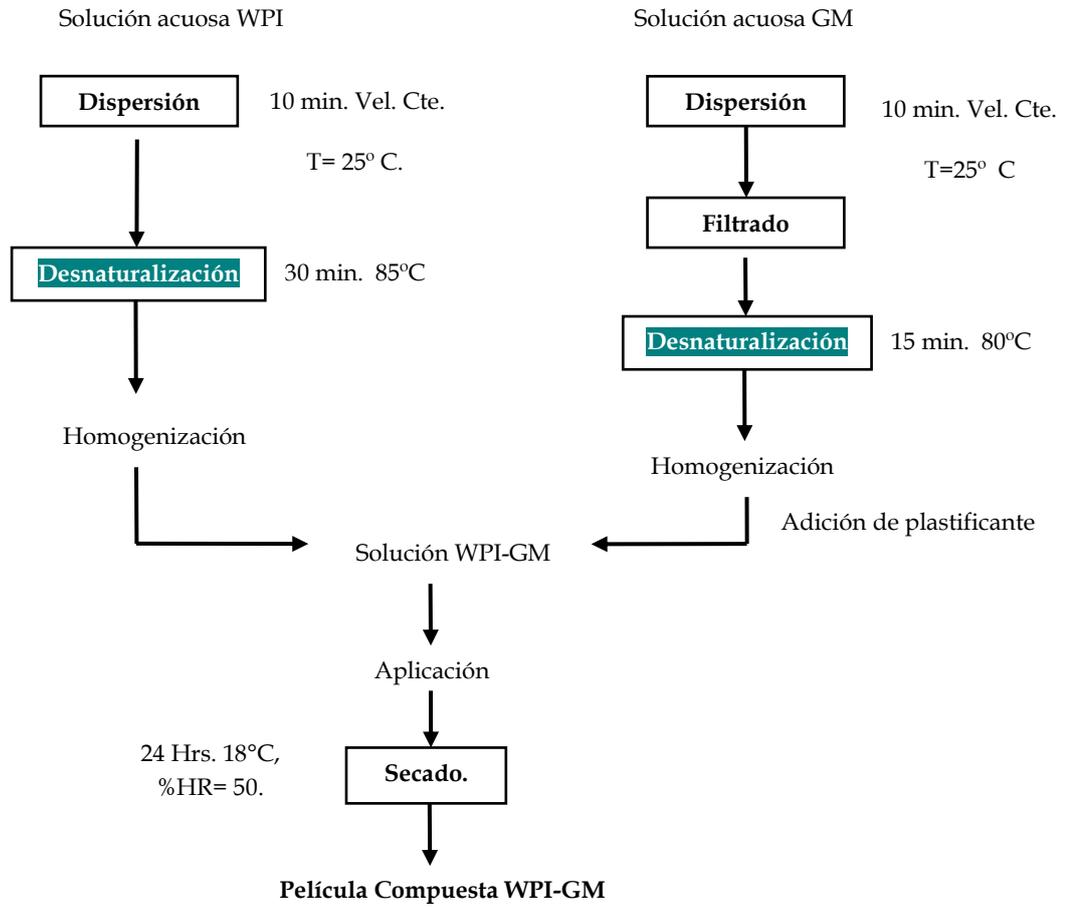


Figura 15. Obtención de Recubrimientos WPI-GM

Dispersión.

Se prepararon dispersiones acuosas al 10% (p/p), tanto de WPI como de GM y se mezclaron de acuerdo con el diseño experimental, dispersando cada uno por separado con ayuda de un agitador magnético durante 10 min. a velocidad constante.

El cuadro 4 muestra la relación en base seca (p/p), y la formulación en base húmeda para la preparación de películas comestibles se puede resumir mediante el cuadro 3, en la cual se mantiene una relación de 10% de sólidos con 90% en fase líquida (agua destilada).

Tipo de película	GM (p/p)	WPI (p/p)
1%	1	99
3%	3	97
5%	5	95
7%	7	93
9%	9	91

Cuadro 4. Relación WPI y goma de mezquite (%).

Filtrado.

La dispersión de GM se filtro con ayuda de vacío, recuperando así la mayor cantidad de solución usando papel de filtro Whatman para eliminar las impurezas que posee la goma de mezquite. En el caso de recubrimientos desnaturalizados la solución fue sometida a un tratamiento térmico en un baño con agitación durante 15 min. A 80°C para desnaturalizar la fracción proteínica contenida en de la goma de mezquite (GM) [49].

Desgasificado u homogenización.

Las dos soluciones se desgasificaron por separado en un equipo (homogenizador) Siverson L4R, durante 20 min., para las soluciones Goma de Mezquite y 25 min. para la solución de WPI respectivamente. El funcionamiento de este equipo se basa en la emisión de ligeros movimientos ondulatorios sobre las soluciones a la vez que genera vacío y con ello se logra la eliminación de los gases no condensables que pudieran modificar las propiedades finales de la película. Posteriormente, las soluciones se mezclaron según la concentración buscada.

Adición de plastificante.

La adición de plastificante es necesaria para debilitar los fuertes enlaces intermoleculares que se establecen en las cadenas poliméricas adyacentes y por lo tanto disminuir su fragilidad e incrementar la flexibilidad [20]. Se ha usado sorbitol como plastificante en la formulación de películas en una cantidad del 30% (6.12g) respecto al peso seco de los polímeros. Esta solución se vertió primero en la solución de goma de mezquite, se homogenizó y finalmente

se mezclaron las soluciones WPI y GM. La cantidad de plastificante se mantuvo constante para todas las soluciones formadoras de películas.

Determinación de pH.

Previo a la formación de los recubrimientos se determinó el pH, tanto de las disoluciones de WPI y de GM como en la mezcla de WPI-GM. El pH se midió a través de un potenciómetro Signapore, realizando tres repeticiones.

Desnaturalización.

En el caso de las películas desnaturalizadas se realizó el mismo procedimiento descrito anteriormente y además se ha sometido las soluciones a un tratamiento térmico el cual consiste en recubrir la solución con una cubierta plástica, impidiendo así el intercambio gaseoso entre el medio generado y la solución, luego ésta solución es sometida a un equipo de tratamiento térmico en un baño con ligera agitación a 85°C durante 30 min., y 80°C durante 15 min., para las soluciones de WPI y goma de mezquite respectivamente, logrando así una desnaturalización proteica mediante tratamiento térmico. Si bien se ha reportado que para estos hidrocoloides el método más común para la formación de películas se basa en un tratamiento con calor de las soluciones acuosas.

Aplicación.

Finalmente la solución se vació y se extendió sobre placas de polietileno de 14.8 cm de longitud, las cuales fueron acondicionadas con un anillo de 12.5 cm. de diámetro y 1.5 cm. de altura para delimitar los bordes de la película, estas placas fueron recubiertas con una película hidrofóbica de teflón ya que este material posee buenas características para limpiarlo y remover las películas formadas sobre este material.

Secado.

La cantidad de solución que se añadió a cada placa, invariablemente de la formulación fue de 12 ml. las soluciones se dejaron enfriar y secar durante 24 horas sobre una superficie nivelada a temperatura y humedad relativa constante (HR=50%). De esta forma se logró despegar las películas de forma íntegra de la superficie.

Película compuesta WPI-GM.

Mediante el procedimiento descrito se obtuvieron películas firmes de fácil despegue que fueron previamente identificadas de acuerdo a la concentración fecha de elaboración y tratamiento térmico. Una vez identificadas y separadas se colocaron dentro de una cámara con humedad relativa y temperatura constante además se procuró mantener estas condiciones a lo largo de su estudio.

Calorimetría diferencial de barrido (DSC).

Para el análisis térmico DSC se ha usado el equipo C.S. 32 Steram Scientific & Industrial Equipment, con una muestra promedio de 0.2 g., como muestra de referencia se usó concentrado de alúmina debido al tamaño de muestra necesaria para este análisis, el

recubrimiento fue dividido en tres diferentes partes identificándolas como extremo 1, centro y extremo 2 (Figura 17).

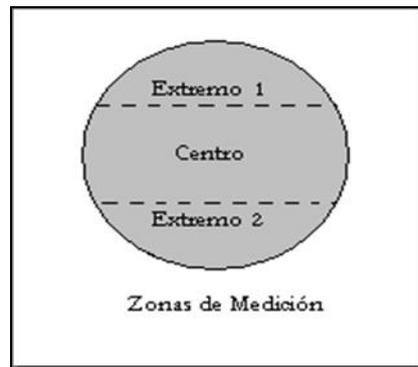


Figura 16 Zonas de medición para análisis DSC.

El equipo se programó con diferentes niveles de medición para la recuperación de datos de acuerdo al siguiente ciclo.

1. Se realiza una isoterma a una temperatura de $25 \pm 1^\circ \text{C}$ por 1800 segundos
2. Se determina una rampa de calentamiento con velocidad de 1 grado / s de 25 a 105°C .
3. Se determina una isoterma a 105°C por 200 segundos.
4. Se determina una rampa de enfriamiento con velocidad de 1 grado / s de 105 a 25°C .

Microestructura

Para este estudio, se utilizó un microscopio de fuerza atómica Autoprobe Digital Instruments, modelo CP Research, (Veeco Instruments, Inc. Nueva York) en modo de contacto, con punta de nitruro de silicio. La frecuencia de barrido fue de 1Hz. La fuerza aplicada entre la muestra y la punta fue de 10 nN. El área total analizada fue de $8 \times 8 \mu\text{m}$, y la placa usada tiene una constante de resorte de 0.06 N/m.

Con relación a las muestras, se tomó una pequeña porción de la parte central de cada película (Figura 17), la que se fijo por medio de una cinta adhesiva al portamuestras del microscopio. De esta manera se obtuvieron las imágenes topográficas de las películas bajo condiciones ambientales, por barrido de la superficie, con la punta que se localiza al final de una placa.

Se conoce que la superficie de los recubrimientos de WPI-GM que ha estado en contacto con el aire durante el secado presenta ligeras desigualdades [76]. Por el contrario, la superficie en contacto con la placa se presenta totalmente lisa. De este modo, el lado que se colocó para la determinación de la rugosidad de las recubiertas fue el de secado al aire.



Figura 17 Zona de medición en análisis de microestructura.

Análisis termogravimétrico.

Para estas pruebas se han usado recubrimientos obtenidos a partir de los métodos anteriormente descritos, esta determinación se obtuvo mediante el Equipo Termogravimétrico T.A. INSTRUMENTS™ Thermal Analysis SDT 2960.

Para la obtención de datos se han evaluado los recubrimientos debidamente etiquetados para las zonas de estudio, estableciéndose como “exterior”, “medio” y “centro” (Figura 18), con una velocidad constante de calentamiento de 1° C/min. En un intervalo de entre 25 °C y 110 °C, además la recuperación de datos se obtuvo por cada 0.5°C, la masa empleada para cada prueba oscilo de entre 3 a 5 mg. El equipo empleado fue calibrado en cada determinación mediante una corrida de referencia para asegurar la confiabilidad de los resultados



Figura 18 Zonas de medición para análisis TGA.

Ángulo de contacto.

Para la determinación del ángulo de contacto en recubrimientos comestibles resulta útil describir el equipo TANTEC™ Contac Angle Meter, en la figura 19, se muestran las partes que lo conforman.

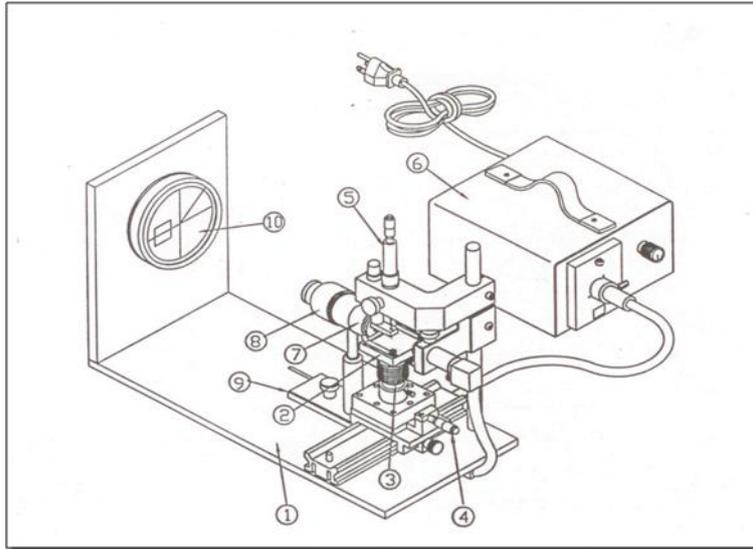


Figura 19 Equipo TANTEC™ Contac Angle Meter [Partes].

1. Base.
2. Placa para muestra.
3. Soporte axial de ajuste.
4. Dispositivo de enfoque micrométrico.
5. Dosificador de volumen definido.
6. Reproductor de luz.
7. Lente de enfoque medio.
8. Lente de enfoque macro.
9. Placa ajustable.
10. Pantalla graduada con ajuste horizontal.

La determinación del ángulo de contacto consiste en:

- a) Limpieza y pruebas de enfoque en equipo TANTEC™. Para ello se han realizado ejercicios preliminares con el objetivo de lograr un enfoque preciso en la visión de pantalla.
- b) Aforar el dosificador, se emplea para ello el uso de agua destilada, es importante fijar la cantidad total a emplear, para un determinado número de pruebas, esta cantidad permite corroborar el volumen empleado en cada medición cuando se concluye una serie de pruebas.
- c) Establecer un volumen unitario. En este caso se ha usado un volumen constante de 0.02 ml ya que en pruebas preliminares se ha considerado como adecuada esta cantidad, confirmando así el intervalo de volumen recomendado en el manual para uso del equipo.
- d) Uso de material estéril y guantes de látex. Cuando el equipo está listo para la medición conviene tomar los recubrimientos de una manera segura, evitando con ello la variación de resultados derivados de posibles contaminaciones durante la manipulación.

- e) Realizar cortes uniformes, en este caso se ha procurado un área constante de 1.0 cm². Los cortes se han identificado como “exterior”, “medio” y “centro”, dependiendo la zona de procedencia, en la (Figura 20) se muestra las zonas de corte para una película.



Figura 20 Zonas de medición para ángulo de contacto.

- f) Al colocar el corte sobre la placa para muestra, es necesario centrar la parte de film en un área adecuada, el equipo cuenta con una señalización que facilita este paso, y basta adecuar nuestro corte en el espacio disponible.
- g) Cuando se realiza el depósito de gota de agua destilada, existe un instante que permite enfocar la imagen cuando esto sea necesario, durante este momento la gota alcanza un estado de energía mínima (Figura12) y se eliminan los efectos de histéresis. Se recomienda, además, mantener encendida la fuente de luz solo durante el momento en el cual se enfoca y se toma la lectura, ya que ésta puede generar una modificación de la temperatura alrededor del área de medición.
- h) La Figura 21 muestra una determinación de ángulo de contacto mediante la gota dispuesta, es importante ajustar el origen de la gota, de esta manera la tangente formada toca la gota solo en un punto y se alcanza una mayor precisión.

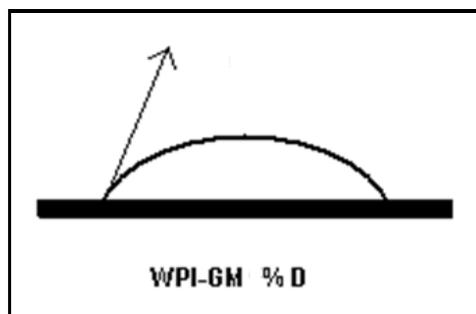


Figura 21 Medición ángulo de contacto.

- i) El ángulo de contacto obtenido en estas mediciones se considera como ángulo de contacto aparente y se obtiene haciendo coincidir el origen de la proyección con el de la pantalla. Una vez fijado se ajusta la línea de desplazamiento horizontal que indica un origen común de medición y con ella se toma la lectura de ángulo de contacto.

- j) Para retirar la muestra es necesario un movimiento horizontal a través del área de colocación, procurando evitar derrames en la plataforma para muestra.

El método empleado para la obtención del ángulo de contacto fue el denominado *método de la gota dispuesta* (Figura 9), y mediante el equipo TANTEC™, se han obtenido valores de ángulo de contacto aparente en los diferentes recubrimientos. Las regiones de estudio fueron denominadas como “exterior” “medio” y “centro” (Figura 26), el periodo de almacenamiento para los recubrimientos oscilo en los quince días a partir de su elaboración y las condiciones de humedad relativa (HR= 50%) y Temperatura (18°C), se mantuvieron de forma constante.

CAPÍTULO IV RESULTADOS Y CONCLUSIONES.

10.-Análisis de resultados y discusión.

Las películas WPI-GM obtenidas a partir del método anteriormente descrito fueron translucidos, flexibles y homogéneos. Las superficies fueron suaves, lisas y no presentaban poros ni roturas apreciables (Figura 22). Los recubrimientos se despegaron de las placas con facilidad excepto los recubrimientos a base sólo de goma de mezquite (GM) y sorbitol, los cuales debido a su alta adhesividad necesitaron mayor tiempo de secado, los recubrimientos a base sólo de proteína aislada de suero Lácteo (WPI) y sorbitol, por el contrario resultaron muy frágiles lo que igualmente dificultó su despegue y posterior manejo.

Por otra parte, las películas no presentaron diferencia apreciable derivada del grado de desnaturalización, sin embargo al aumentar la concentración de goma de mezquite éstos se tornaron de un color ámbar a medida que aumentaba esta concentración. De esta manera, se logro realizar todas las pruebas con las variantes inicialmente expuestas. Cabe mencionar que, independientemente de las determinaciones, todos los recubrimientos fueron realizados y almacenados por un tiempo promedio aproximado de dos semanas, bajo las mismas condiciones (HR= 50%, T= 18° C).

Mediante un análisis de resultados, en las siguientes páginas se describe la razón de estudio, los datos obtenidos tanto en análisis térmico como en las pruebas de microestructura y finalmente la relación entre éstas y los datos obtenidos en la determinación de ángulo de contacto.

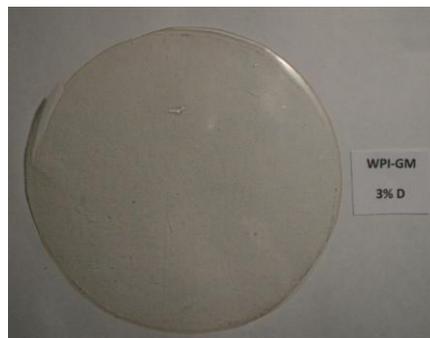


Figura 22 Película WPI-GM.

Calorimetría diferencial de barrido (DSC).

El objetivo de un análisis térmico en el cual se evalúe la energía suministrada a una muestra como flujo de calor (W/g), en función de la temperatura (°C), se usa con frecuencia para definir las estructuras presentes en una mezcla o compuesto [59], bajo este concepto se ha realizado un análisis térmico (DSC) a los diferentes recubrimientos, por una parte, los obtenidos a partir de goma de mezquite, a los obtenidos a base de proteína aislada (WPI) y finalmente a los recubrimientos a base de WPI-GM, con el propósito de visualizar las diferencias entre un compuesto puro y los compuestos a partir de sus mezclas.

En este sentido, es importante el registro en los valores de pH tomados de soluciones formadoras de recubrimientos, sobre todo cuando se trata de compuestos que involucren proteínas, ya que en la mayoría de los casos al variar la concentración o el grado de desnaturalización, se modifica el punto isoeléctrico y con ello su estructura [69], por tanto el valor de pH resulta útil al momento de obtener información a cerca de los nuevos compuestos. Para ello se ha determinado el valor de las soluciones formadoras por separado, mediante un potenciómetro Signapore debidamente calibrado a temperatura ambiente $25^{\circ}\text{C} \pm 1.$, cada una con tres repeticiones.

En el cuadro 5 se muestran los valores de pH, en soluciones formadoras de goma de mezquite, el cual presenta un valor ácido constante y no es modificado por el proceso de desnaturalización. Como se ha revisado anteriormente, la goma de mezquite contiene solo una fracción proteica (0.7 a 5.8%) [49], y se encontró que la modificación por un medio desnaturalizante como el tratamiento térmico, no es significativo en la determinación del pH obtenido.

Solución	pH GM S/D	pH GM D
1%	4.5	4.5
3%	4.5	4.5
5%	4.5	4.5
7%	4.5	4.5
9%	4.5	4.5

Cuadro 5. Valores de pH para GM en Solución.

Se ha reportado que, el punto isoeléctrico de la proteína de suero de leche se encuentra muy cercano a $\text{pH} = 5.2$ y que además, por debajo de este punto isoeléctrico la proteína mantiene una carga total positiva y valores por encima del punto isoeléctrico la carga neta de una proteína mantendrá generalmente carga negativa [70], por tanto, las propiedades funcionales de la WPI están fuertemente influenciadas por el pH debido a los efectos de la carga total en la proteína [71].

En valores cercanos al punto isoelectrico existe un exceso de interacciones proteina-proteina, sin embargo por encima del punto isoelectrico se favorece la interaccion proteina-solvente y el pH se modifica [72], esta interaccion proteina-solvente toma sentido al modificar la concentracion de las soluciones empleadas, asi en el cuadro 6 se presenta un aumento en valores de pH para las soluciones formadoras a medida que aumenta la concentracion. Por otra parte, los tratamientos termicos modifican la solubilidad y otras propiedades funcionales de la WPI, estos cambios son originados por la perdida parcial en la estructura tridimensional de la proteina modificando con ello los valores de pH [73].

El procedimiento descrito para la solucion formadora se ha empleado en la obtencion de peliculas a partir de proteina aislada de suero de leche WPI, en soluciones sin desnaturizar (S/D) y en solucion formadora desnaturizada (D), en este caso se han obtenido los siguientes valores.

Solucion	pH WPI S/D	pH WPI D
1%	6.8	6.9
3%	6.8	6.9
5%	6.8	6.8
7%	6.7	6.8
9%	6.7	6.8

Cuadro 6. Valores de pH para WPI en solucion.

El pH para las disoluciones de WPI-GM se muestran en el cuadro 7, la disolucion de WPI-GM sin desnaturizar(S/D), el pH se aleja del punto isoelectrico para la mayor concertacion de goma de mezquite, para los recubrimientos de WPI-GM despues del tratamiento termico y/o desnaturizacion (D) el pH aumento respecto a las soluciones sin desnaturizar, este mismo comportamiento se presento al aumentar la concentracion de goma de mezquite.

Solucion	pH WPI-GM S/D	pH WPI-GM D
1%	6.7	6.8
3%	6.7	6.8
5%	6.7	6.9
7%	6.7	6.9
9%	6.8	6.8

Cuadro 7. Valores de pH en soluciones de WPI-GM.

Los reacomodos e interacciones en la estructura tridimensional de las proteinas antes y despues de tratamientos susceptibles a ocasionarlos resultan mas evidentes mediante la

aplicación de técnicas sensibles a estos cambios estructurales. Es por ello que las películas se sometieron a un análisis DSC (differential scanning calorimetry) con el objetivo de relacionar sus características de mayor relevancia desde un punto de vista estructural.

Al igual que en la determinación del pH, se ha realizado un tratamiento térmico (DSC) en películas de goma de mezquite (GM) y proteína aislada de suero (WPI) por separado a diferentes concentraciones, posteriormente en los recubrimientos a partir de la mezcla de WPI y GM bajo el mismo principio, para películas a partir de soluciones de goma de mezquite y proteína aislada de suero que sufrieron un tratamiento térmico no se observaron cambios apreciables independientemente de las concentraciones empleadas, por tanto se presenta solo la concentraciones en las cuales existe mayor probabilidad de encontrar cambios que pudieran ser detectados en el equipo, los resultados obtenidos en las determinaciones descritas, se presentan a continuación. Cabe mencionar que la velocidad de calentamiento empleada fue constante y se asocia para las velocidades de calentamiento en las principales industrias que emplean algunos procesos de calentamiento como la pasteurización [73].

En el gráfico 1 se presenta un resumen del comportamiento térmico en un análisis calorimétrico DSC para diferentes recubrimientos a partir de soluciones de proteína aislada de suero sin desnaturizar (S/D), en el cual se observa diferentes tendencias en una transición de fase al variar la concentración, como se ha encontrado en pruebas de pH. En el gráfico 1 se expone además el análisis calorimétrico para la película de goma de mezquite (GM 9%) de mayores concentraciones en las cuales no reportan cambios estructurales o transición de fase en el intervalo de temperatura empleado.

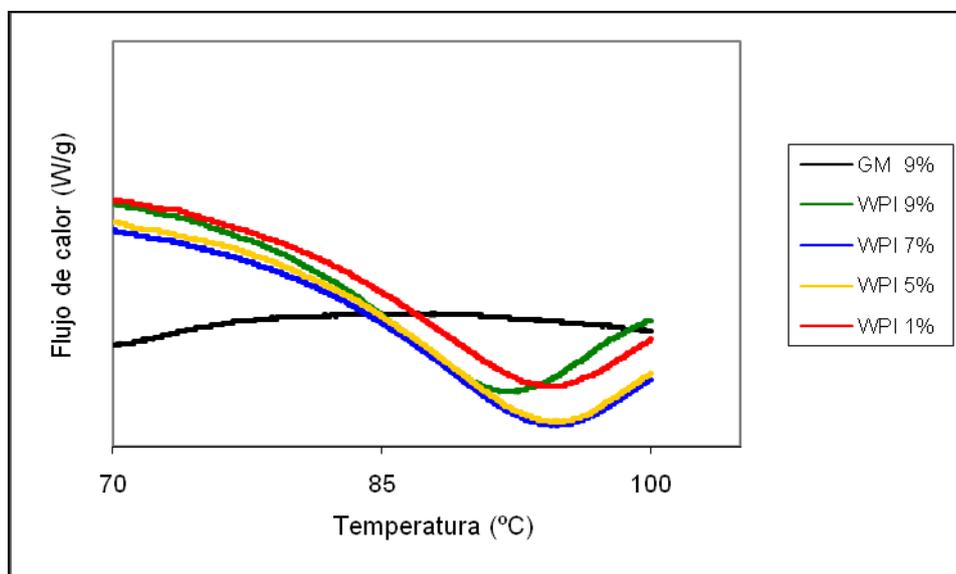


Gráfico1 Comparativo DSC en recubrimientos WPI y GM.

La temperatura de inicio en transición de fase (T_{ONSENT}), la temperatura de desnaturización total (T_{PEAK}) y la energía total (ΔH), a lo largo del tratamiento se exponen en el cuadro 8, se observa que la temperatura de desnaturización total (T_{PEAK}) tiende a disminuir a medida que se aumenta la concentración, este comportamiento se explica, ya que lejos del punto

isoeléctrico se favorece la interacción proteína-solvente [72], estas interacciones debilitan parcialmente la estructura original (Cuadro 6) de la proteína favoreciendo su desnaturalización mediante un tratamiento térmico.

Películas	Región	T_{ONSENT} (°C)	T_{PEAK} (°C)	ΔH (J/g)
GM 9% _{S/D}	Centro	—	—	—
WPI 9% _{S/D}	Centro	82.86	91.25	1.2395
WPI 7% _{S/D}	Centro	85.12	93.62	0.9091
WPI 5% _{S/D}	Centro	84.93	93.70	0.9949
WPI 1% _{S/D}	Centro	83.30	93.30	1.0415

Cuadro 8. Análisis DSC en películas WPI_{S/D} y GM_{S/D}.

La proteínas de suero representan 20% del total de las proteínas de leche entera, este porcentaje esta compuesto por β-lactoglobúlinas (β-Lg) (50%), α-lactoalbuminas (α-La) (20%), seroalbúmina bovina (BSA) e inmunoglobulinas (Ig) [38]. Siendo la β-Lg la principal constituyente de la proteína aislada, β-lactoglobulina mantendrá una significativa influencia sobre las propiedades funcionales [74]. En base a su estructura tridimensional, se ha encontrado que la β-Lg contiene cadenas de aminoácidos hidrofobicos en la parte interna de la macromolécula mientras que los grupos polares se encuentran en el exterior de su estructura [43].

Por otra parte, la goma de mezquite es una macromolécula con cierta cantidad de grupos ionizables (-COOH). Cuando se encuentra en disolución sus moléculas se disocian creando un macroión polivalente y una cantidad grande de contraiones. El macroión crea un potente campo eléctrico debido a su carga y de esta forma atrae a los contraiones. La forma que adopta este polielectrolito en la disolución depende de la intensidad y naturaleza del campo eléctrico creado por el macroión y la forma en que éste atrae a los contraiones. A pH cercanos a 4, la molécula está menos disociada, su densidad de carga es baja y por tanto sus interacciones intermoleculares se ven reducidas [49].

A medida que se modifica la concentración existe una diferencia de los grupos polares disponibles de la proteína aislada y los grupos ionizables de la goma de mezquite, esta disponibilidad se asocia con la formación de nuevos complejos estructurales que proceden de la proporcionalidad y la forma en que estos grupos interactúan, de esta manera se espera diferentes lecturas para un análisis térmico DSC al variar la concentración de hidrocoloides empleados en su formulación.

En el gráfico 2 se presenta el comportamiento térmico para una película de WPI-GM al 9%, en el cual se observa la existencia de diferentes comportamientos en las zonas de medición a partir de una diferencia en la disponibilidad para grupos de interacción entre la proteína y el polisacárido. Derivado de ello, algunos autores también han encontrado que la incorporación de polisacáridos en soluciones a base de WPI modifica las propiedades funcionales derivado

de las interacciones que existen entre estos componentes [71]. Aunque la WPI y la goma de mezquite resultan ampliamente compatibles, las películas pueden presentar sitios de agregación originando un comportamiento diferente.

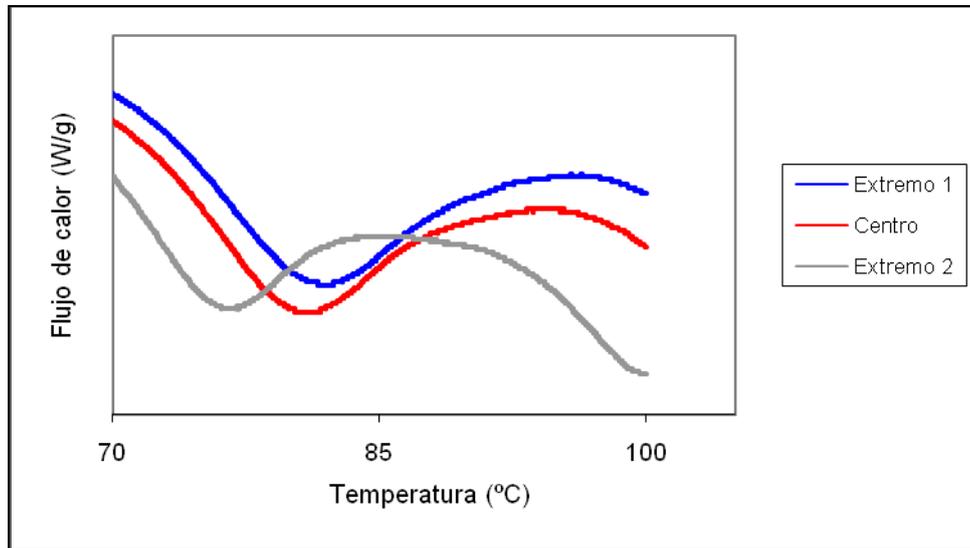


Gráfico 2 Comportamiento DSC en películas WPI-GM 9% S/D.

En el cuadro 9 se expresan los datos numéricos a partir de esta determinación, en este caso, es notoria la diferencia en los valores obtenidos en temperatura total de desnaturalización (T_{PEAK}) considerando entonces la presencia de compuestos con diferente temperatura de desnaturalización total, esta diferencia resulta de particular importancia, si se considera que el tratamiento se ha aplicado en una sola películas y variando las regiones de estudio. Nótese además que la presencia de goma de mezquite en una concentración de 9% desplaza la T_{PEAK} por más de 10° C si se compara con el valor obtenido en la tabla 8 donde se muestra los mismos valores para películas solo de WPI. Respecto a la entalpia total (ΔH) se ha reportado un efecto endotérmico (+) para proteínas globulares de suero de leche [73]. Es importante destacar que estas diferencias resultan notorias en comparación con películas al variar la concentración.

Película	Región	T_{ONSENT} (°C)	T_{PEAK} (°C)	ΔH (J/g)
WPI-GM 9% S/D	Extremo 1	73.39	81.11	1.0895
	Centro	73.18	79.96	0.9348
	Extremo 2	69.60	75.99	0.7860

Cuadro 9. Análisis DSC en película WPI-GM 9% S/D.

Para las películas en concentración de 7% se ha obtenido el gráfico 3, en este comparativo se observa, nuevamente una ligera diferencia de acuerdo al comportamiento global, sin embargo el termograma aparece con mayor similitud respecto de las zonas de estudio. La variación a partir del comportamiento en las proteínas para regiones semejantes indica que la

estructura y consecuentemente sus propiedades estarán regidas por los efectos de una composición semejante que es definida por el área en estudio, sin embargo para la región que difiere (extremo 1), el estudio indica la presencia de un compuesto parcialmente diferente.

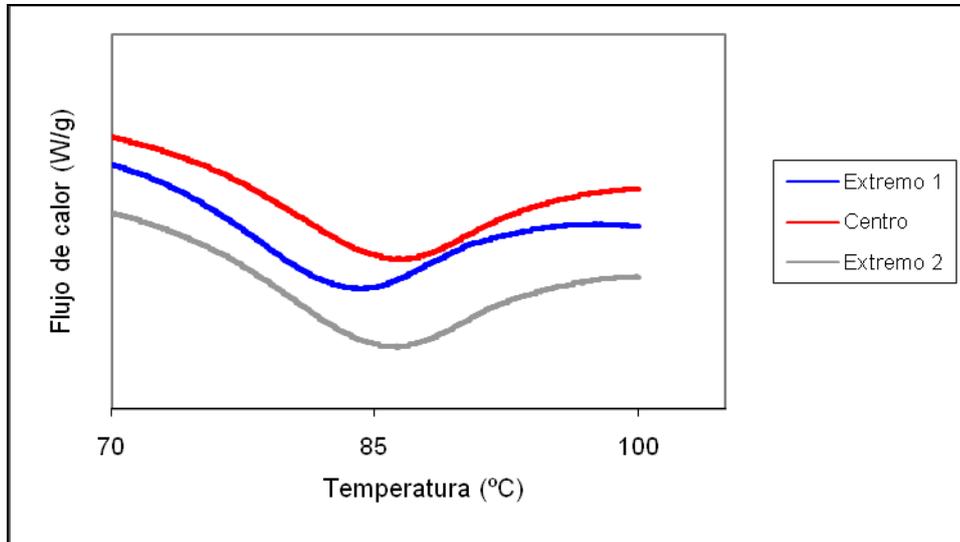


Gráfico 3 Comportamiento DSC en películas WPI-GM 7% S/D.

Algunos autores han analizado cambios conformacionales para mezclas de WPI en un análisis DSC (calorimetría diferencial de barrido) y los cambios observados fueron alrededor de 60 °C para la determinación de α -lactoalbumina y entre 80 y 140 °C para β -lactoglobulina [73]. Como se ha mencionado la estructura predominante regirá el comportamiento de forma general cuando se trata de proteínas compuestas como la WPI [74], en el cuadro 10 se reportan T_{PEAK} dentro del intervalo para la presencia de β -lactoglobulina comprobando con ello la máxima predominancia en la estructura global de WPI. Por otra parte la presencia de GM en concentración 7% modifica en nuevos valores la temperatura de desnaturalización total (T_{PEAK}) si se compara con los resultados en el cuadro 8, este comportamiento indica una compatibilidad entre la WPI y GM en la formación de compuestos diferentes.

Película	Región	T_{ONSENT} (°C)	T_{PEAK} (°C)	ΔH (J/g)
WPI-GM 7% S/D	Extremo 1	74.90	83.41	1.2016
	Centro	76.99	85.64	1.2293
	Extremo 2	76.49	85.15	1.3138

Cuadro 10. Análisis DSC en película WPI-GM 7% S/D.

En la determinación de valores de pH para soluciones formadoras de películas (Cuadro 7), se encontró que al modificar la concentración de hidrocoloides empleados existe una variación de pH en solución, en ese caso la variación no fue muy notoria, sin embargo se presumía la existencia de nuevos compuestos. Con técnicas adecuadas como el análisis

DSC esta variación resulta evidente y en el gráfico 4 se observa el termograma para esta determinación, comprobando los resultados a partir de los datos en pH de solución en el cual se observó que la presencia de GM logra modificarlo. La formación de nuevos compuestos se origina a partir de la disponibilidad en sitios de unión a lo largo de las macromoléculas presentes, en este sentido la concentración de los hidrocoloides presentes resulta fundamental ya que orienta a un determinado comportamiento.

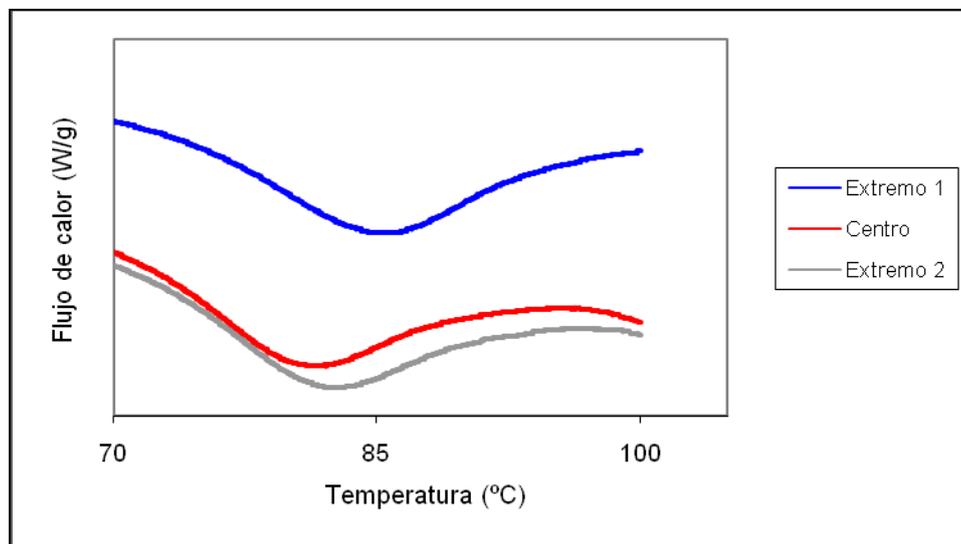


Gráfico 4 Comportamiento DSC en películas WPI-GM 5% S/D.

La temperatura T_{ONSENT} puede ser modificada por la velocidad de calentamiento y se usa como una medida eficaz para determinar la temperatura promedio de desnaturalización cuando existen en el sistema factores desnaturalizantes diferentes de la temperatura como el pH o la presencia de sales en solución [73], en este caso al no existir otro factor desnaturalizante diferente de la temperatura, la velocidad de calentamiento se mantuvo constante para las determinaciones empleadas ($1\text{ }^{\circ}\text{C} / \text{s}$). En el cuadro 11 se presenta la relación entre T_{ONSENT} y T_{PEAK} para un recubrimiento WPI-GM 5% en este caso, cuando existe más de un factor desnaturalizante, los resultados no resultan proporcionales para ambas determinaciones. Por esta razón y por aplicarse de manera constante, para determinar la temperatura neta de desnaturalización se ha omitido el efecto de la velocidad de calentamiento, y se toma T_{PEAK} como una lectura precisa de desnaturalización.

Película	Región	$T_{\text{ONSENT}} (^{\circ}\text{C})$	$T_{\text{PEAK}} (^{\circ}\text{C})$	$\Delta H (\text{J/g})$
WPI-GM 5% S/D	Extremo 1	76.44	85.03	1.3796
	Centro	73.36	80.65	1.0203
	Extremo 2	73.63	81.52	1.0583

Cuadro 11. Análisis DSC en película WPI-GM 5% S/D.

La mayoría de los compuestos nitrogenados permanecen en el suero después de la coagulación de caseínas, así la proteína aislada de suero lácteo consiste en una mezcla de proteínas: (β -Lg), (α -La), (BSA) e (Ig) principalmente [38], éstas son proteínas globulares que difieren en estructura y propiedades, existe una composición y secuencia de aminoácidos para cada una de ellas, derivado de esta mezcla se originaran diferentes enlaces que originan un comportamiento diferente no solo al variar la concentración sino además en las diferentes regiones de un mismo recubrimiento. En el grafico 5 se presenta el comportamiento para una concentración de 3% en películas WPI-GM.

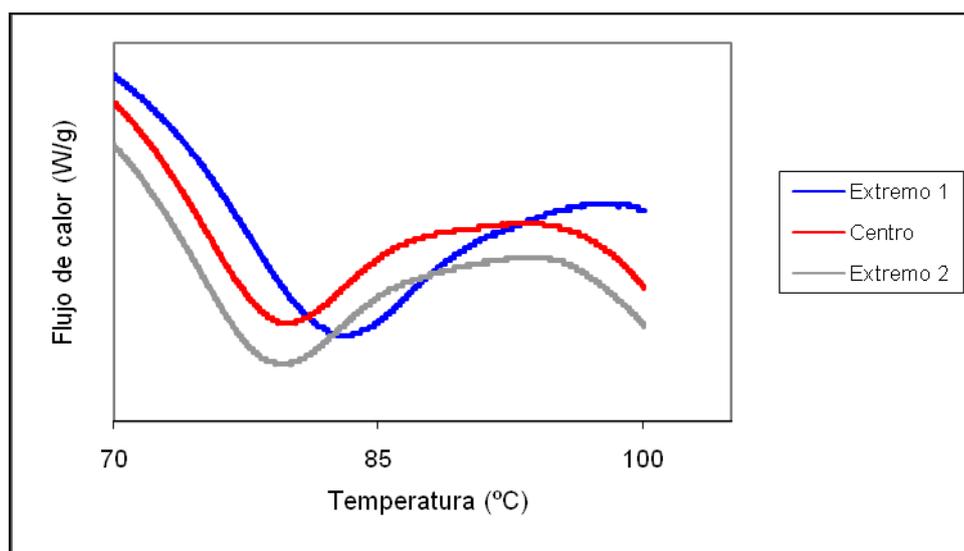


Gráfico 5 Comportamiento DSC en películas WPI-GM 3% S/D.

De acuerdo a al cuadro 12 y a los diferentes termogramas se ha identificado la α -lactoalbumina como una proteína menos termoestable en pH 6.7, ya que los intervalos de desnaturalización obtenidos a partir de las temperaturas (T_{PEAK}) y la energía total (ΔH) no corresponden a los intervalos de desnaturalización para esta proteína (≤ 60 °C), sin embargo este comportamiento no parece ser el mismo, en el mismo tratamiento donde la desnaturalización fue determinada en pH cercanos a 4.6 donde la α -lactoalbumina resulto presentar mayor termoestabilidad [73]. Por tanto una alta concentración de un compuesto u otro estará en relación con las condiciones de experimentación, en este sentido, el pH se expresa como una herramienta que resulta muy útil en la determinación de proteínas.

Película	Región	T_{ONSENT} (°C)	T_{PEAK} (°C)	ΔH (J/g)
WPI-GM 3% S/D	Extremo 1	74.60	82.23	1.0537
	Centro	72.31	79.21	0.8128
	Extremo 2	71.72	78.80	0.8884

Cuadro 12. Análisis DSC en película WPI-GM 3% S/D..

Algunos resultados demuestran que la α -lactoalbúmina, a pesar de ser una de las proteínas del suero de leche con menor temperatura de desnaturalización en condiciones de pH alrededor de 6.7, parece presentar propiedades de estabilidad en relación a las propiedades de agregación ya que se ha encontrado que cuenta con propiedades de renaturalización a bajas temperaturas [73]. Estos efectos de renaturalización no han sido observados en tratamientos para compuestos de WPI debido a las fuertes interacciones inducidas por tratamiento térmico entre la β -lactoglobulina y otras proteínas como la seroalbúmina bovina (BSA) e inmunoglobulinas (Ig). El comportamiento térmico de películas WPI-GM 1% se presenta en el gráfico 6. Nuevamente el termograma obtenido difiere entre sí respecto a otras zonas de medición. Es de notar que esta característica se ha repetido para todas las concentraciones de WPI y GM.

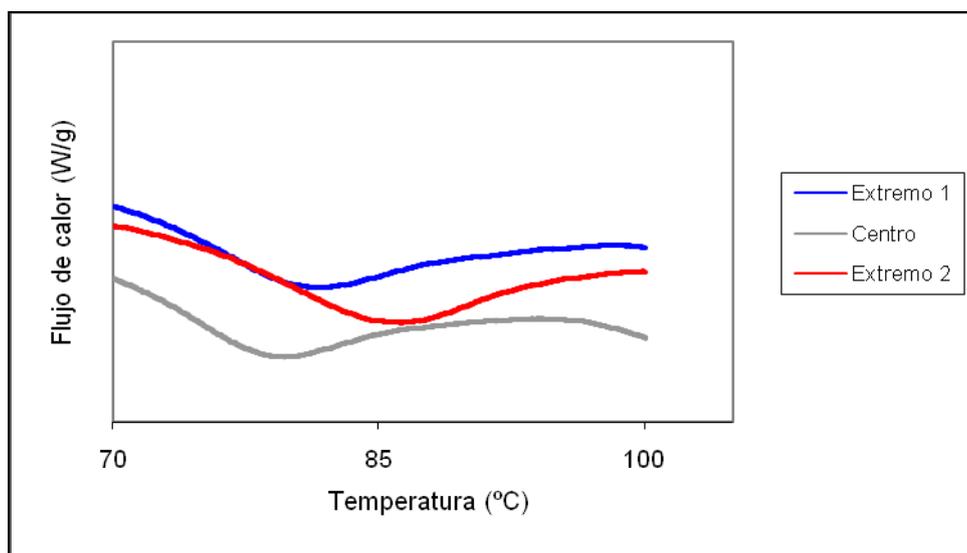


Gráfico 6 Comportamiento DSC en películas WPI-GM 1% S/D.

El efecto endotérmico (ΔH) que acompaña la pérdida parcial de la estructura tridimensional durante la desnaturalización de las proteínas es derivado del área total bajo la curva del termograma y es independiente de la velocidad de calentamiento. El ΔH de las regiones analizadas a pH 6.7 se presentan en el cuadro 13, estos ΔH representan cantidades termodinámicamente cuantitativas y se relacionan directamente con el proceso de la desnaturalización proteica a lo largo del tratamiento. Por tanto estos valores indican la presencia de dos estructuras diferentes.

Por otra parte el efecto de la concentración de hidrocoides en un análisis DSC indica la existencia de nuevos compuestos si se comparan los valores de temperatura de desnaturalización total T_{PEAK} . En este sentido la goma de mezquite resulta totalmente compatible con la WPI en todas las concentraciones evaluadas, sin embargo la T_{PEAK} obtiene una variación mayor a medida que aumenta la concentración de goma de mezquite, esto se observa, si se comparan los valores de T_{PEAK} obtenidos a lo largo del análisis DSC con el cuadro 8 que presenta los datos de comportamiento térmico para recubrimientos a base solo de WPI.

Película	Región	T _{ONSENT} (°C)	T _{PEAK} (°C)	ΔH (J/g)
WPI-GM 1% S/D	Extremo 1	73.29	80.64	0.9793
	Centro	71.79	78.54	0.8173
	Extremo 2	73.08	81.92	0.9583

Cuadro 13. Análisis DSC en película WPI-GM 1% S/D.

En el gráfico 7 se muestra el termograma para un recubrimiento a partir de proteína desnaturalizada "D", en este caso las condiciones del sistema DSC no detectan la presencia de β-lactoglobulinas u otro compuesto que genere alguna transición de fase, o modificación a lo largo del tratamiento debido a que la estructura de la WPI ha sido modificada mediante un tratamiento térmico (30 min. 85°C), formando ahora un nuevo compuesto de diferencia extrema si se compara con películas S/D el cual no es sensible a las condiciones empleadas, como se muestra en el gráfico 7, se realizó el tratamiento en recubrimientos de 9% y 7% de acuerdo a la metodología de este estudio, sin embargo, al no detectar cambios en estas concentraciones se ha omitido los tratamientos térmicos para los recubrimientos de menor concentración.

Para las películas a base de WPI-GM desnaturalizados se presenta una variación por fuera del alcance en el intervalo de temperaturas empleado para los análisis DSC. La temperatura de transición de fase (T_{ONSENT}), la temperatura de desnaturalización total (T_{PEAK}) y la energía total (ΔH) no presentaron datos para estas corridas experimentales.

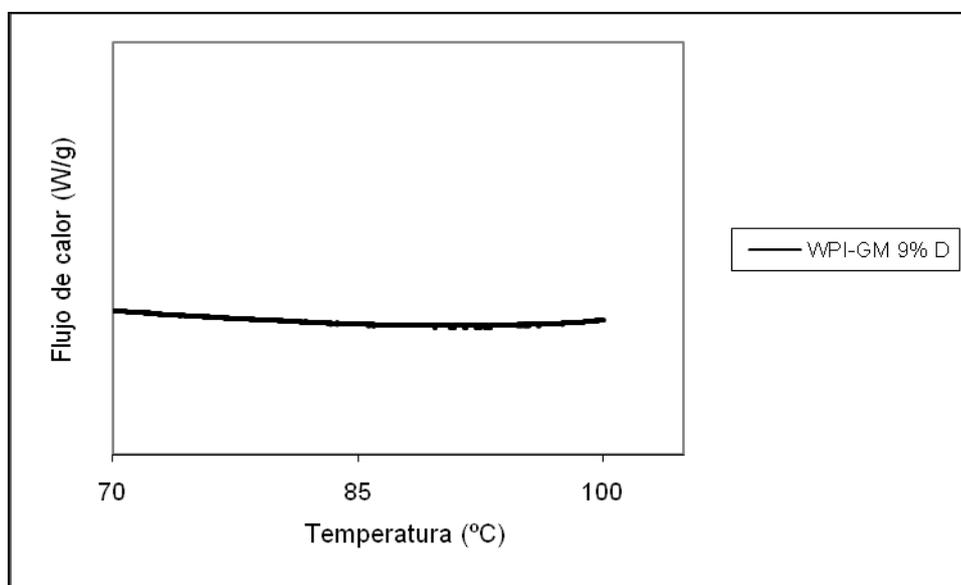


Gráfico 7 Comportamiento DSC en recubrimientos WPI-GM 9% D.

Microestructura.

En el presente trabajo se ha determinado la microestructura de las películas por microscopía de fuerza atómica (AFM), en recubrimientos a base de proteína aislada de suero (WPI) y goma de mezquite (GM), sin desnaturalizar (S/D) en diferentes concentraciones, con la

finalidad de identificar físicamente la agregación de compuestos sobre la superficie, además de interpretar los efectos de la rugosidad en un sistema de humectación.

A continuación se resume la rugosidad promedio obtenida a partir de películas WPI-GM sin desnaturalizar a diferentes concentraciones, Estos datos han sido determinados por el equipo Autoprobe Digital Instruments™, los valores de rugosidad se presentan en Amstron (Å) y han sido evaluados en la región de la película definida como centro.

De los datos que se presentan en el Cuadro 15 se observa que la presencia de la goma de mezquite modifica ligeramente la rugosidad promedio, así, de las formulaciones empleadas, se encontró que en una mayor concentración de GM, la rugosidad alcanzó un valor superior y estos valores tienden a aumentar a medida que se incrementa la proporción de GM.

Películas	Región	Rugosidad (Å)	Área (µ²)
WPI-GM 1% S/D	Centro	193.1	400.1
WPI-GM 3% S/D	Centro	252.2	350.4
WPI-GM 5% S/D	Centro	259.8	380.5
WPI-GM 7% S/D	Centro	291.7	400.2
WPI-GM 9% S/D	Centro	304.9	401.5

Cuadro 14. Rugosidad (Å) en películas WPI-GM S/D.

A continuación se presenta las imágenes obtenidas a partir de un análisis de microestructura por AFM para las concentraciones empleadas en recubrimientos sin desnaturalizar (S/D), como un complemento en técnicas de análisis calorimétrico (DSC) donde se detectaron superficies químicamente heterogéneas al variar la región de estudio. En estas imágenes se muestra un análisis de perfil de la estructura en dos zonas, así como la imagen 3D de una sección de 8 x 8 µm.

Si bien, se sabe que la estructura se podría representar como una expresión originada a partir de la interacción entre los compuestos presentes, en este sentido, el tipo de interacción depende de las cargas netas entre estos componentes. En el cuadro 7 se presenta el valor de pH para la disolución WPI-GM 1% y la mezcla alcanza un valor de 6.7 éste pH es ligeramente mayor que el punto isoeléctrico de las proteínas de suero de leche, el cual se encuentra muy cercano a pH=5.2 [70], por lo tanto se trata de la interacción entre una proteína con carga parcial negativa y un polielectrolito (+). En la Figura 23 parece compensarse equitativamente las cargas presentes que se originan a partir de la relación 1%, observándose por su parte una estructura relativamente homogénea, además, en el cuadro 15 se obtiene el valor que resulta inferior a la media de rugosidad obtenida (193.1 Å) de rugosidad derivada de esta interacción.

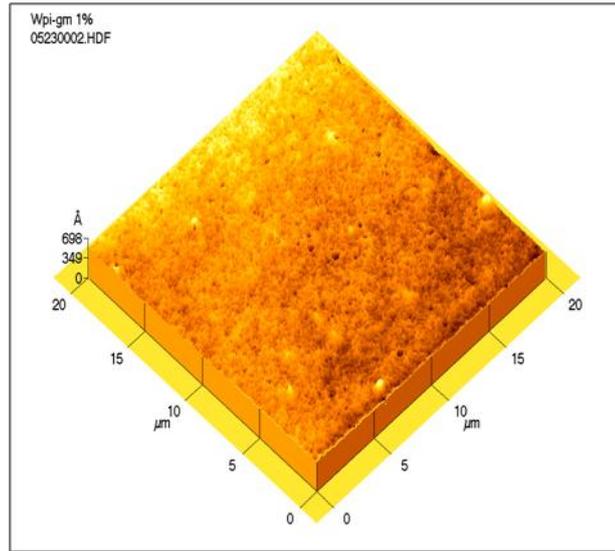


Figura 23 Microestructura WPI-GM 1%.

En la Figura 24 se presenta la microestructura de una película WPI-GM 3% la cual está compuesta por una estructura ligeramente variable, en base a la carga neta entre los componentes a partir de las determinaciones de pH en solución y las cargas que se originan a partir del punto isoeléctrico, se podría inferir que los componentes interactúan de manera lineal entre una proteína con carga parcial negativa y el polielectrolito en solución, sin embargo en el cuadro 15 se obtiene una rugosidad media de (252.2 Å) que se aleja visiblemente de una menor concentración, por tanto, en la proporción 3% se presenta una ligera variación en la disponibilidad de cargas parciales que no logran cubrir los sitios de unión disponibles entre un compuesto y otro, estos sitios de unión, finalmente logran modificar un factor físico primordial para un sistema de humectación como es la rugosidad a lo largo de la superficie evaluada.

Por otra parte, mediante un análisis DSC se ha encontrado que en concentraciones menores de goma de mezquite la temperatura de desnaturalización total (T_{PEAK}) es modificada en menor proporción respecto a los recubrimientos solo de WPI lo que se pudiera asociar con la presencia esporádica de agregados proteolíticos y estos a su vez con factores físicos como la rugosidad.

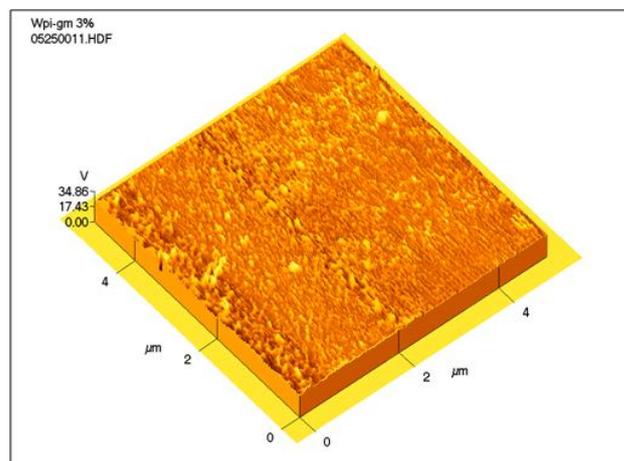


Figura 24 Microestructura WPI-GM 3%.

La presencia de una heterofase en la cual se presenten sitios de agregación a lo largo de las películas resulta muy importante cuando se evalúa un sistema de humectación, en este sentido, la naturaleza de las moléculas tiene notable influencia en la interacción, se ha encontrado que cuando se mezclan biopolímeros ocurre con frecuencia una separación de fases originando regiones que son ricas en un polímero y pobres en otro, ya que las estructuras tienden a relacionarse mejor con moléculas vecinas que tengan una carga neta y estructura similar que con otras de naturaleza diferente [77]. En la Figura 25 se muestra la estructura de una película WPI-GM en una concentración de 5% y se observa en esta microestructura una ligera modificación en la fase de los compuestos presentes, por una parte las regiones oscuras se encuentran ricas en goma de mezquite, a la vez se observan pequeñas regiones en donde predominan agregados proteolíticos, cabe mencionar que la rugosidad (cuadro 15) en este caso alcanza un valor de 259.8 Å resultando que supera la rugosidad en recubrimientos de menor concentración.

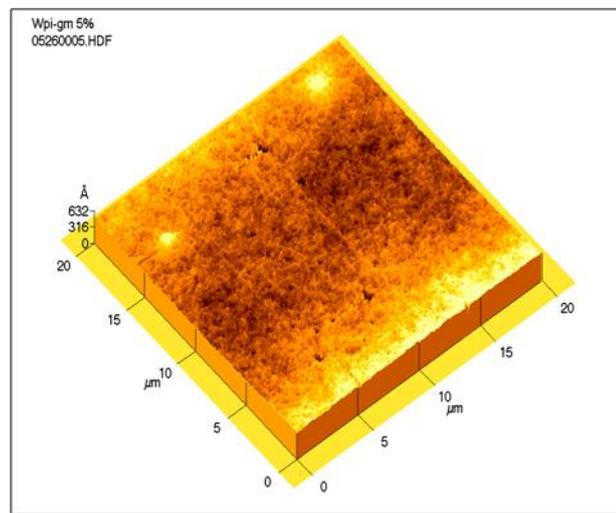


Figura 25 Microestructura WPI-GM 5%.

La Figura 26 muestra la imagen obtenida para la película de WPI-GM 7%, en este caso, puede observarse un perfil más accidentado respecto a la microestructura mostrada en concentraciones menores, la rugosidad presenta un valor promedio de 291.7 Å. La estructura y propiedades fisicoquímicas de la mayoría de los alimentos procesados dependen del comportamiento y proporción de sus componentes [79]. En un sistema proteína-polisacárido la presencia de una heterofase es obtenida cuando los componentes de ambas macromoléculas se encuentran gradualmente en regiones separadas, como consecuencia de una variación en regiones electrostáticas a lo largo de los sitios de unión. Para la relación 7%, la WPI favorece la agregación de compuestos y predominancia de regiones a base de un solo componente.

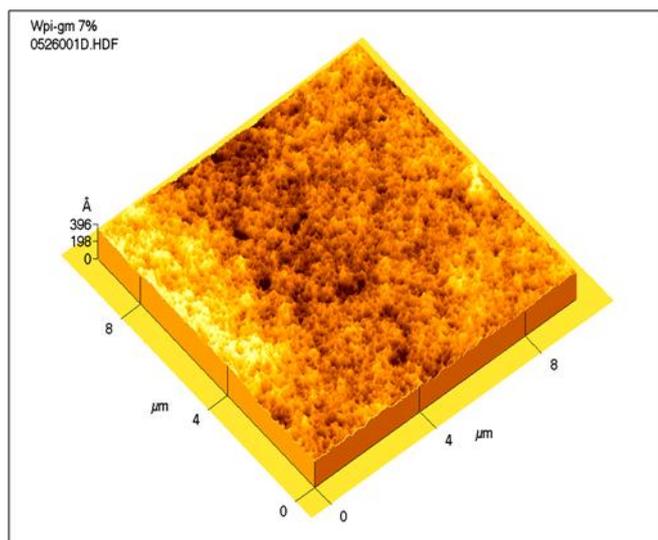


Figura 26 Microestructura WPI-GM 7%.

De acuerdo a los objetivos planteados en el diseño experimental se ha evaluado la microestructura de películas con la finalidad de evaluar el efecto de la concentración en un sistema de humectación. Para ello, se ha obtenido la Figura 27 la cual presenta la estructura de la película WPI-GM en una relación de 9% respecto a la concentración de goma de mezquite, en este caso se observa que las regiones presentan notable desigualdad en forma y tamaño, en el cuadro 15 este recubrimiento alcanza un valor promedio de 304.9 Å con respecto a la rugosidad. Por otra parte en pH de solución (Cuadro 7) se obtienen valor de pH=6.8 el cual es mayor que el pH registrado a lo largo de las concentraciones evaluadas, esta modificación de pH logra cambiar de forma notable la naturaleza de la superficie en AFM. Además la goma de mezquite a altas concentraciones genera comportamientos térmicos con marcada diferencia al variar la región de estudió (Gráfico 2) y en relación con recubrimientos a base de WPI (Comparación T_{PEAK} cuadros 8 y 9).

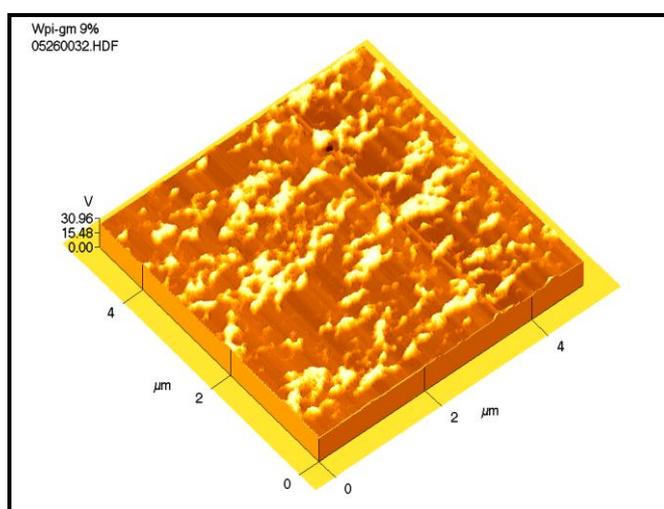


Figura 27 Microestructura WPI-GM 9%

Análisis termogravimétrico.

El objetivo de un análisis térmico que involucre la variación en masa de la muestra en función de la temperatura surge con la finalidad de encontrar posibles variaciones en la estabilidad de las películas en relación a la pérdida principalmente de agua libre, al someterse a un proceso de calentamiento controlado.

Cuando se evalúa un compuesto mediante el análisis calorimétrico que involucre la pérdida de peso en función de la temperatura como el Análisis Termogravimétrico (TGA), es razonable considerar el contenido y disponibilidad de agua libre presente en los recubrimientos, ya que este compuesto origina la principal variante en tratamientos a base de calor. A continuación se presentan los resultados obtenidos, mediante gráfico los termogramas en las diferentes regiones de estudio, y mediante un cuadro los datos numéricos obtenidos a partir de estas determinaciones.

Los principios de vaporización y eliminación de compuestos volátiles representan el fundamento en la mayoría de las técnicas que estudian la estabilidad de los alimentos compuestos [78]. En el gráfico 8 se presenta un análisis térmico TGA de películas WPI-GM 1%. En general se observa que en esta determinación, las películas con tratamiento térmico denominadas como "D" (Desnaturalización) presentan un comportamiento homogéneo al variar la región de estudio. Para las películas "S/D" la pérdida de agua resulta mayor, bajo las mismas condiciones de experimentación, lo que significa que la cantidad de agua libre se encuentra en mayor disponibilidad para recubrimientos obtenidos mediante este procedimiento.

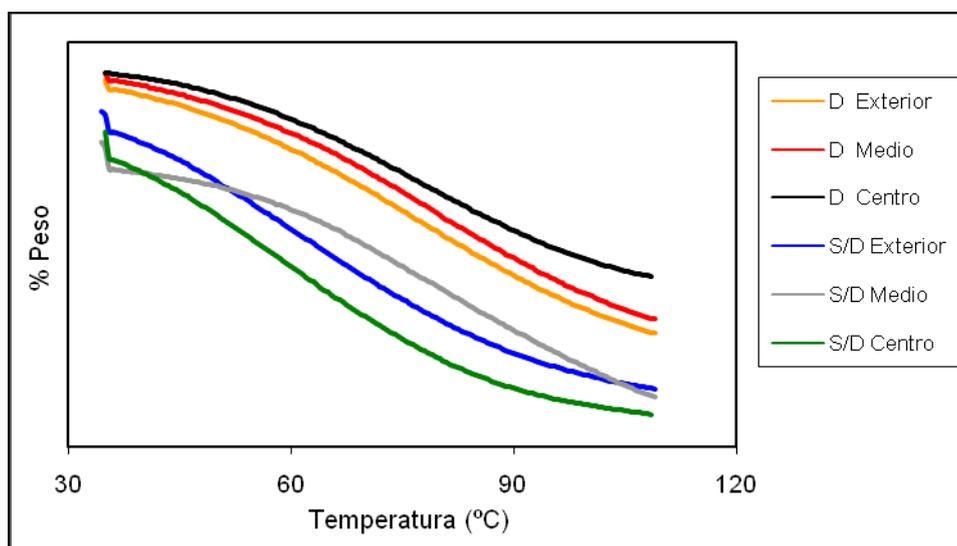


Gráfico 8 Termograma TGA en películas WPI-GM 1%.

En el cuadro 16 se presenta un resumen de los datos obtenidos en películas WPI-GM, el (%) en peso se presenta como W_1 que indica la masa total en gramos en las primeras etapas de calentamiento, para ello se considera que al tiempo "cero" el sistema se calibra como 100 %, W_2 indica la masa final a 110 °C como la temperatura máxima del tratamiento térmico. Como

se observa en este cuadro, las películas sin desnaturalizar alcanzan un desprendimiento mayor de agua libre para una relación 1% de GM, esta pérdida finaliza con un mayor desprendimiento alcanzado en la región centro hasta el exterior del recubrimiento, este efecto es opuesto a los recubrimientos “D” donde la pérdida de agua finaliza con mayor alcance para la región exterior. Por otra parte independientemente de la región de estudio se observa una diferencia entre los recubrimientos D y S/D en un análisis TGA.

Películas	Región	% W₁ 35°C	% W₂ 110°C
WPI-GM 1% S/D	Exterior	98.48	92.29
	Medio	97.80	91.61
	Centro	98.01	91.72
WPI-GM 1% D	Exterior	99.15	93.53
	Medio	99.32	93.84
	Centro	99.37	93.48

Tabla 15. Resumen TGA en películas WPI-GM 1%.

En el gráfico 9 se presenta el comparativo del análisis TGA en películas WPI-GM 3%, D y S/D. Para las películas desnaturalizadas, se encuentra que el calentamiento de soluciones acuosas de WPI por encima de los 65 °C produce que las estructuras globulares se abran y se modifique la estructura tridimensional, facilitando la formación de enlaces por el intercambio de grupos libres como sulfhidrilos o disulfuro con enlaces existentes, además, un estado de desnaturalización facilita también las interacciones hidrofóbicas [46]. De esta manera se obtienen películas con enlaces de mayor energía, los cuales proporcionan cierta resistencia a los recubrimientos en relación a la pérdida en masa de agua en función de la temperatura, y la variación de este comportamiento entre una lectura y otra, dependerá de la complejidad de las estructuras presentes para la zona de medición.

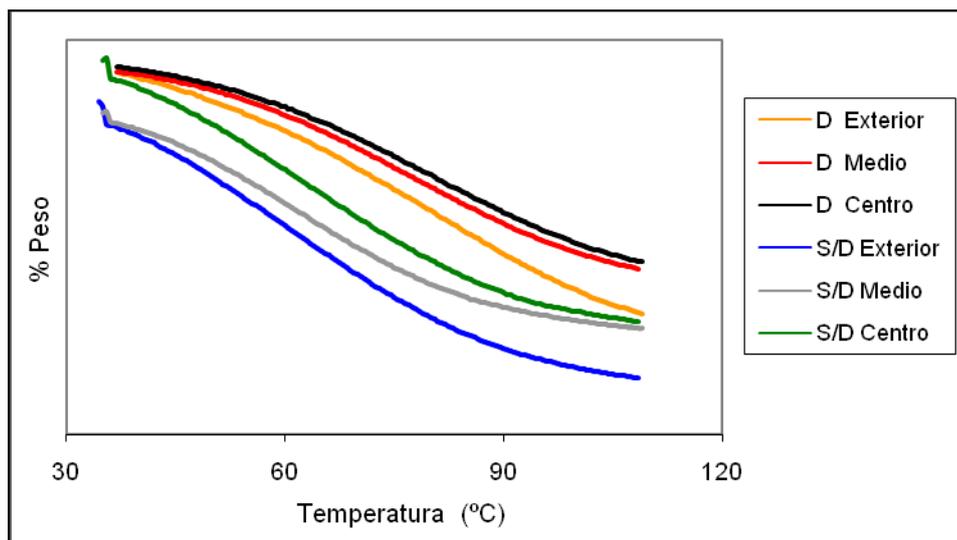


Gráfico 9 Termograma TGA en películas WPI-GM 3%.

Los datos numéricos obtenidos a partir de un análisis TGA se presentan en el cuadro 17, aquí se observa que la masa (g) final es menor para las películas sin tratamiento térmico donde se alcanzó un mayor desprendimiento de agua. En relación a esta concentración, se observa que se alcanza una disminución de alrededor 1% en pérdida de agua libre para ambos tratamientos al comparar estos datos con el cuadro 16. Por otra parte, en un análisis termogravimétrico TGA, la muestra tiende a alcanzar un comportamiento donde se obtienen valores constantes a medida que se aumenta la temperatura, sin embargo, en las primeras etapas de desintegración se logra obtener información a cerca de los compuestos presentes y su nivel de organización, en este sentido, el desprendimiento de agua para películas “D” es menor que las películas S/D, desde las primeras etapas de calentamiento lo que indica una mayor estabilidad en películas “D” desde las primeras etapas de calentamiento.

Películas	Región	% W₁ 35°C	% W₂ 110°C
WPI-GM 3% S/D	Exterior	98.62	92.29
	Medio	98.34	93.42
	Centro	99.55	93.57
WPI-GM 3% D	Exterior	99.39	93.76
	Medio	99.32	94.79
	Centro	99.53	94.94

Cuadro 16. Resumen TGA en películas WPI-GM 3%.

Durante el análisis térmico, el comportamiento de descomposición corresponde generalmente a un proceso endotérmico y que se manifiesta por procesos de desorción de agua libre y fusión en los hidrocoloides (proteínas y polisacáridos), estas variaciones son detectadas en un sistema TGA como una pérdida en masa. Por otra parte, el comportamiento térmico en función de la concentración de hidrocoloides depende, entre otros a la disponibilidad de las macromoléculas para generar nuevos enlaces a través de su propia estructura o con otros compuestos presentes y expresados finalmente como las características de un recubrimiento. El gráfico 10 se presenta el comportamiento de un análisis TGA en películas de concentración 5% en relación a la goma de mezquite (GM). De acuerdo al termograma se observa que la disponibilidad durante la interacción para formar nuevos enlaces resulta similar para D y S/D por tanto en la relación 5%, los recubrimientos S/D se encuentra una menor disponibilidad de agua libre que se puede relacionar con la presencia de agregados proteolíticos detectados por técnicas de AFM (Figura 21).

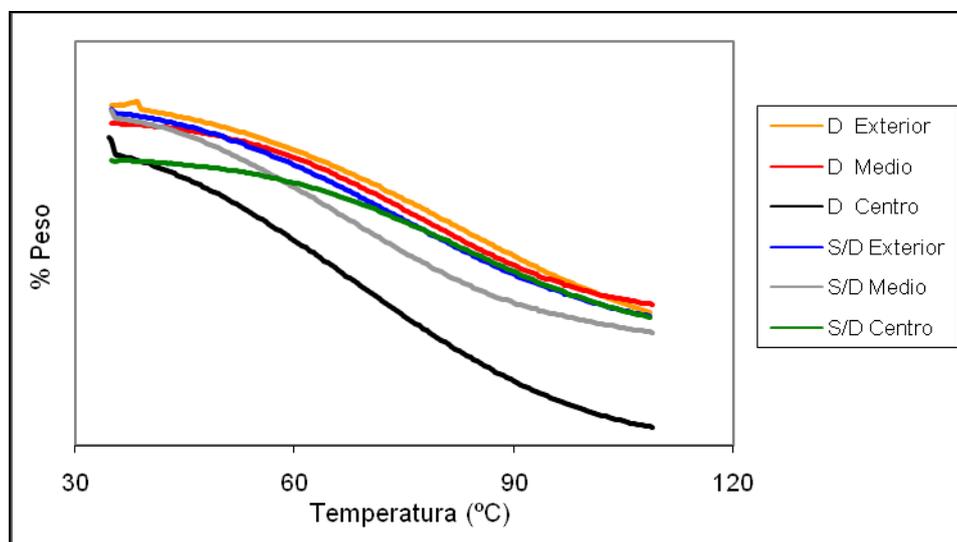


Gráfico 10 Termograma TGA en películas WPI-GM 5%.

En un análisis de microscopia por fuerza atómica (AFM) en películas sin desnaturalizar, se ha encontrado que al aumentar la concentración de goma de mezquite (GM) la rugosidad se vuelve más evidente debido a la formación de agregados proteolíticos. En el cuadro 18 se muestran los datos térmicos a partir de un del análisis TGA en películas D y S/D, en este sentido se puede expresar que las variaciones que ocurren en películas de mayor concentración observados mediante microscopía se hacen presentes en análisis termogravimétrico, cuando se compara ambos comportamientos en recubrimientos de menor concentración. Así, para las películas S/D, los agregados que se forman en películas de mayor concentración representan una limitante en la migración de agua libre, ya que las macromoléculas presentes en su interior se mantienen sin algún cambio estructural impidiendo la liberación de moléculas de agua contenidas en su interior.

Películas	Región	% W ₁ 35°C	% W ₂ 110°C
WPI-GM 5% S/D	Exterior	99.51	94.88
	Medio	99.47	94.52
	Centro	99.47	94.52
WPI-GM 5% D	Exterior	99.59	94.98
	Medio	99.19	95.15
	Centro	98.86	92.40

Cuadro 17. Resumen TGA en películas WPI-GM 5%.

El gráfico 11 presenta el termograma a partir de películas WPI-GM para una concentración de 7%, es importante notar que la tendencia se mantiene homogénea para las diferentes regiones de estudio al variar el tratamiento térmico, por tanto se puede argumentar que la variación en la disponibilidad de agua dentro del compuesto y que culmina con una pérdida de peso expresa una diferencia de acuerdo a la estabilidad de las películas si se someten a un proceso de desnaturalización. En el gráfico 11 se observa además que la pérdida de agua tiene un menor alcance en la región exterior para ambos tratamientos, esta característica resulta muy pronunciada en compuestos donde la estabilidad es mínima y resulta modificada incluso por la forma geométrica donde se expone a un mayor contacto con el flujo de aire o variaciones de la temperatura durante las etapas de almacenamiento.

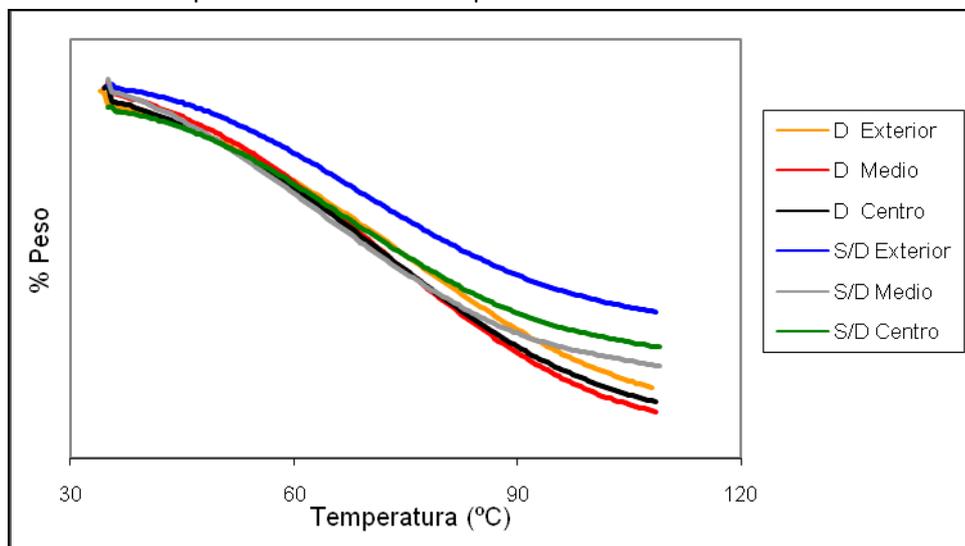


Gráfico 11 Termograma TGA en películas WPI-GM 7%.

La estructura y otras propiedades fisicoquímicas como el desprendimiento de agua libre indican el comportamiento de las interacciones entre proteína y polisacáridos [79]. En la tabla 19 se presentan los datos numéricos para películas WPI-GM 7%, en este caso la disponibilidad de las macromoléculas para formar nuevos enlaces está influenciada por algunas consideraciones, primero la abundancia o concentración de cada uno de los compuestos, la compatibilidad entre estas macromoléculas y finalmente por condiciones de

experimentación, en el caso de las proteínas el tratamiento térmico es fundamental en sus compuestos de naturaleza termolábil. Derivado de estas condiciones se observa en los resultados de la tabla que el nivel en pérdida de peso obtiene un mayor alcance para las películas D.

Películas	Región	% W₁ (g.) 35 °C	% W₂ (g.) 110 °C
WPI-GM 7% S/D	Exterior	99.14	94.79
	Medio	99.07	94.15
	Centro	98.71	94.12
WPI-GM 7% D	Exterior	99.02	93.31
	Medio	99.21	92.89
	Centro	99.09	93.08

Cuadro 18. Resumen TGA en películas WPI-GM 7%.

En el gráfico 12 se presenta el termograma en películas WPI-GM 9%. Para las películas S/D, la formación se ha producido mayoritariamente por los puentes de hidrogeno que se logran formar a lo largo de la cohesión en tanto que la formación de enlaces formales de mayor energía resulta limitada [30]. En un análisis térmico TGA, el comportamiento se basa en la variación de peso en función de la temperatura, sin embargo hay que tomar en cuenta que la complejidad de los compuestos presentes genera cambios importantes dentro de estas determinaciones, en este sentido la concentración de goma de mezquite (GM) ha generado importantes cambios de notoria relevancia, en otras determinaciones como DSC donde se encontró que se logra modificar la temperatura de de desnaturalización total (T_{PEAK}) a causa de la formación de nuevos compuestos. En microscopia de fuerza atómica (AFM) se encontró que en concentraciones mayores de GM, la rugosidad se incrementa debido a la formación de agregados proteolíticos.

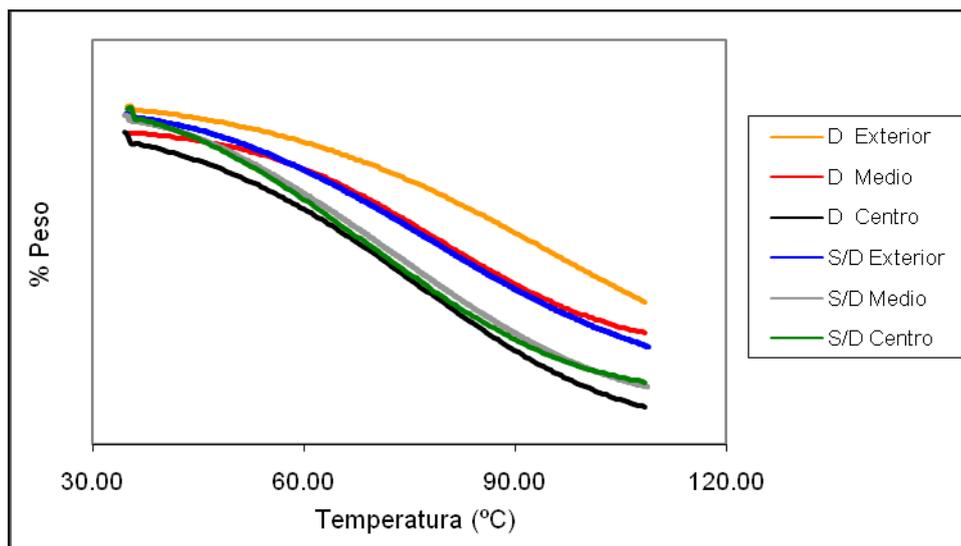


Gráfico 12 Termograma TGA en películas WPI-GM 9%.

El comportamiento térmico en TGA en películas WPI-GM 9% se presenta en el cuadro 20. De acuerdo con los fundamentos del presente análisis la concentración de goma de mezquite en recubrimientos de mayor concentración, genera variaciones mínimas en las películas empleadas si se compara con análisis de diferente alcance. Sin embargo es de notar que el efecto de la estabilidad en relación a la pérdida de agua libre sí presenta diferencias entre las películas D y S/D las cuales han sido detectadas en el análisis TGA a lo largo de los termogramas obtenidos.

Películas	Región	% W₁ 35°C	% W₂ 110°C
WPI-GM 9% S/D	Exterior	99.52	94.53
	Medio	99.52	94.13
	Centro	99.65	94.22
WPI-GM 9% D	Exterior	99.69	95.81
	Medio	99.17	95.20
	Centro	99.19	93.74

Cuadro 19. Resumen TGA en películas WPI-GM 9%.

Ángulo de contacto.

Los resultados obtenidos se presentan a continuación y representan un promedio de tres mediciones por cada región de estudio. En la determinación del ángulo de contacto no se hace referencia a la ecuación 3 o de Wenzel debido a que el área o dimensionamiento para superficies rugosas resulta insuficiente para las proporciones recomendadas en relación con

el tamaño de la gota, el mismo caso sucede en el empleo de la ecuación 4 o de Cassie que relaciona la determinación de ángulo de contacto en superficies químicamente heterogéneas.

El ángulo aparente obtenido a partir de películas a base de proteína aislada de suero de leche (WPI) y goma de mezquite (GM) sin desnaturalizar (S/D) se presentan en el cuadro 21, en él se expresan los resultados para las diferentes áreas de estudio, en la columna derecha referida como “ángulo” se encuentra, el valor medio obtenido a partir de estas tres regiones.

El cuadro 21 presenta los valores de ángulo de contacto en películas WPI-GM sin tratamiento térmico o desnaturalización (S/D), en este caso, la región de estudio presenta una mínima variación originada por la cantidad de grupos hidrófobos presentes en la zona de medición, este comportamiento se asocia con estudios de análisis termogravimétrico TGA, en el cual se observa que no existe una marcada diferencia a lo largo del tratamiento en relación a la disponibilidad de agua libre de los recubrimientos, evaluada en regiones similares. Por otra parte, al modificar la concentración en GM, el ángulo de contacto aumenta de manera proporcional, en este sentido, la rugosidad y la naturaleza química de la superficie representan en conjunto un factor clave en un sistema de humectación. Mediante estudios de microscopía de fuerza atómica (AFM) se ha encontrado que la concentración de goma de mezquite logra alterar la rugosidad en la parte superficial de las películas a medida que se aumenta la concentración, estos sitios de agregación que se presentaron en altas concentraciones modifican, por una parte, la naturaleza física (rugosidad) y las propiedades químicas (grupos hidrófobos) de la superficie. En este sentido, los cambios físicos y químicos generados culminan con un aumento gradual en el ángulo de contacto, de manera simultánea a la concentración de goma de mezquite (GM).

Se ha encontrado que la WPI esta constituida principalmente por β -lactoglobulina (50%) por tanto mantiene una significativa influencia sobre sus propiedades funcionales [74]. En base a su estructura tridimensional, se sabe también que la β -Lg contiene cadenas de aminoácidos hidrofobicos en la parte interna de la macromolecula mientras que los grupos polares se encuentran en el exterior de su estructura [43]. De acuerdo al cuadro 21 se observa que la goma de mezquite inhibe la presencia de estos grupos polares presentes a lo largo de la macromolécula sin tratamiento térmico, produciendo un aumento en los valores de ángulo de contacto a medida que se aumenta su concentración.

Películas	“Exterior” (°)	“Medio” (°)	“Centro” (°)	Angulo (°)
WPI-GM 1% S/D	42.8	42.2	43.0	42.6
WPI-GM 3% S/D	42.8	43.1	44.0	43.3
WPI-GM 5% S/D	44.2	43.0	42.1	43.1
WPI-GM 7% S/D	44.1	44.1	43.8	44.0
WPI-GM 9% S/D	44.2	45.9	45.0	45.0

Cuadro 20. Ángulo de contacto en películas WPI-GM S/D.

En el cuadro 21 se presenta los datos obtenidos a partir de películas WPI-GM en las concentraciones empleadas, estos recubrimientos han sufrido un tratamiento térmico de desnaturalización (D). Los datos se presentan de manera similar, primeramente de acuerdo a la zona de medición, en dicha tabla se observa que, las regiones mantienen cierta homogeneidad con respecto a la disponibilidad de grupos hidrofílicos y el alcance para ángulo de contacto no presenta una variación definida con respecto a las áreas de estudio denominadas como “exterior”, “medio” y “centro”. Por otra parte, cuando se compara esta determinación con respecto a la concentración de hidrocoloides (proteína y polisacárido), el ángulo de contacto tiende a aumentar acorde al nivel de concentración, se ha reportado que los recubrimientos a base sólo de WPI se caracterizan por presentar una gran cantidad de grupos hidrofílicos en superficie (Tabla 1) favoreciendo la migración de humedad [13]. Con respecto al tratamiento térmico se sabe que el calentamiento de soluciones acuosas de WPI por encima de los 65° produce que las estructuras globulares se abran y se modifique la estructura tridimensional [43], exponiendo de esta manera los grupos hidrófobos. En la determinación de pH (Cuadro 7) se ha encontrado que las soluciones formadoras que han sido sometidas a un tratamiento térmico, se alejan ligeramente del punto isoeléctrico de la WPI favoreciendo la interacción entre la proteína que mantiene carga parcial negativa con el polielectrolito (+) y el resultado finaliza con la obtención de películas resistentes y de limitada carga de grupos hidrofílicos libres en la superficie de recubrimientos “D”.

La modificación de pH se ha observado de la misma manera al aumentar la concentración de goma de mezquite, y la disponibilidad de grupos hidrofílicos a lo largo de la proteína se reduce adquiriendo valores superiores de ángulo de contacto a medida que se aumenta la concentración de GM.

Películas	“Exterior”	“Medio”	“Centro”	Angulo (°)
WPI-GM 1%_D	59.2	58.8	59.0	59.0
WPI-GM 3%_D	59.1	58.0	57.9	58.3
WPI-GM 5%_D	58.8	58.9	60.3	59.3
WPI-GM 7%_D	60.3	62.2	60.5	61.0
WPI-GM 9%_D	61.2	62.4	62.4	62.0

Tabla 21. Ángulo de contacto en películas WPI-GM D.

En seguida se presenta un gráfico comparativo para ángulo de contacto a partir de películas WPI-GM sin tratamiento térmico(S/D) y desnaturalizadas (D), con la finalidad de identificar el efecto de estas variantes en un sistema de humectación.

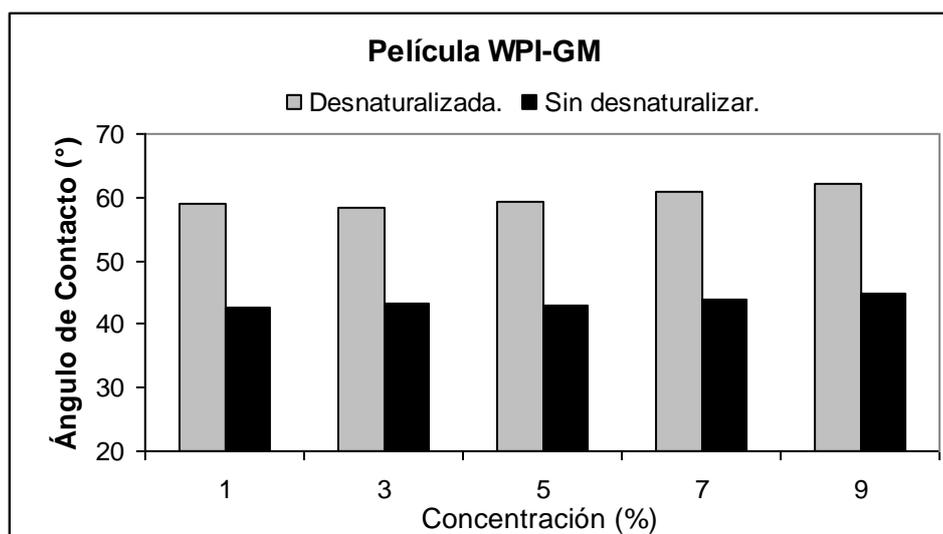


Gráfico 13 Comparativo de ángulo de contacto en Películas D y S/D.

En el gráfico 13 se ha expuesto el ángulo de contacto en relación a las concentraciones empleadas, en este sentido se observa que para ambos tratamientos térmicos la relación de grupos hidrófilos de superficie tiende a disminuir a medida que se aumenta la concentración de goma de mezquite (GM) ya que mediante un exceso de GM se inhiben los grupos polares presentes en películas “D” y “S/D” expresándose como un aumento en valores de ángulo de contacto.

Un evento de mayor relevancia se obtiene cuando se compara el grado de humectación para películas desnaturalizadas (D) y sin desnaturalizar (S/D), en este sentido, se ha encontrado que las interacciones hidrofóbicas y enlaces covalentes disulfuros que se forman durante la desnaturalización de la WPI hace que las películas sean fuertes e insolubles en agua [61]. El mismo comportamiento se puede observar en el gráfico 13 al combinarse WPI y GM formando películas comestibles, que mediante un tratamiento térmico expresan mayor concentración de grupos hidrófobos en la superficie, los cuales han sido evaluados mediante el ángulo de contacto.

De acuerdo con las películas de WPI sin tratamiento térmico (S/D) resultan con características de mayor solubilidad debido a la disponibilidad de grupos hidrófilos en la superficie aún en altas concentraciones de goma de mezquite (Gráfico 13), por otra parte, se sabe que estas películas se han formado mayoritariamente gracias a la interacción de tipo “puentes de hidrogeno” [30], y que es necesaria una baja energía para lograr su rompimiento, como se puede observar, estas características en las películas S/D aportan limitada resistencia al evaluarse en un sistema de humectación que relaciona la presencia de grupos hidrófobos de superficie como el que se ha realizado en este estudio.

12.- Conclusiones:

- La proteína aislada de suero de leche (WPI) y la goma de mezquite (GM) resultan compatibles en las proporciones empleadas, las películas obtenidas fueron de apariencia suave, homogénea y no presentaron poros ni roturas apreciables a simple vista.
- De las películas obtenidas, no se presentó diferencia apreciable de manera directa, derivada del grado de desnaturalización.
- El grado de desnaturalización para WPI se hace evidente con técnicas de DSC, sin embargo la fracción proteínica de GM no presenta ninguna diferencia, ya que la temperatura alcanzada durante el tratamiento térmico no logra desnaturalizarla y permanece sin cambios.
- La proteína predominante en los recubrimientos de WPI-GM sin desnaturalizar fue la α -lactoglobulina y en conjunto con la α -lactoalbumina, Suero Albumina Bovina e Inmunoglobulinas forman diferentes compuestos al variar la concentración de goma de mezquite.
- La goma de mezquite interacciona con la WPI originando un nuevo compuesto y de esta manera se modifica la temperatura de desnaturalización total (T_{PEAK}) cuando se varía la concentración, esta diferencia también se presenta, en menor proporción cuando se evalúa la región de estudio para una misma película.
- La formación de regiones químicamente heterogéneas por la presencia de agregados proteolíticos y aumento del nivel de rugosidad, se favorecen al aumentar la concentración de goma de mezquite en películas sin desnaturalizar.
- La disposición de agua libre indica el nivel de organización entre las macromoléculas. En este caso se observó un comportamiento desigual para películas "D" y "S/D" que es independiente de la región de estudio y la concentración.
- La mayor concentración de grupos hidrófobos de superficie se obtiene en películas que se han sometidas a un tratamiento térmico de desnaturalización y aumenta ligeramente al aumentar la proporción de goma de mezquite.
- Las películas sin tratamiento térmico presentaron limitada resistencia en el sistema de humectación evaluado presentando pobres niveles de ángulo de contacto aun en concentraciones superiores de GM.
- En ningún caso, el ángulo de contacto presentó diferencia significativa a partir de la zona de medición en las películas evaluadas.
- La presencia de goma de mezquite logra disminuir la opacidad de las películas obtenidas, sin embargo en concentraciones extremas favorece la formación de agregados proteolíticos formando regiones químicamente heterogéneas y aumento de la rugosidad promedio.

- En ángulo de contacto, el área de las regiones químicamente heterogéneas y el dimensionamiento aplicado en superficies rugosas, aún en casos extremos, resultan insuficientes para las proporciones recomendadas en relación con el tamaño de gota.
- La de goma de mezquite inhibe la presencia de grupos hidrófilos de superficie en películas WPI-GM expresado como un aumento en valores de ángulo de contacto a medida que se aumenta su concentración. Este comportamiento se presentó independientemente del tratamiento térmico.
- Los resultados aquí presentados permiten una visión de mayor amplitud de las propiedades de las películas a base de WPI-GM y con ello las herramientas para el momento en que se requiera la utilización de acuerdo al sistema que se desee formar, la naturaleza química de la superficie y las necesidades o enfoque a desarrollar, optimizando de esta forma el uso de películas y recubrimientos comestibles.

12.- Bibliografía:

1. Osés F.J. 2006 "Desarrollo, caracterización y aplicaciones alimentarias de recubrimientos comestibles basados en proteína de suero de leche, almidón y goma de mezquite". Tesis doctoral Universidad de Pamplona, España.
2. Hardenberg, R.E. 1967 "Wax and Related Coating For Horticultural Products- A Bibliography". Agricultural Research Service Bulletin No. 965. Ithaca, NY: Cornell University, p. 12.
3. Labuza, T.P. y Contreras-Medellin, R. 1981. "Prediction of Moisture Protection Requirements for Food". Cereal Foods World, p 26, 35.
4. Kester, J.J. y Fennema, O.R. 1986. "Edible Films and Coatings: a review" Food Technology. p4, 7-9.
5. Krochta, J.M., Baldwin, E.A. y Nisperos-Carriedo, M. 1994 "Edible Coatings and Films to Improve Food and Quality". Ed. Technomic Publishing Co. Inc., Lancaster, E.U.A.
6. Guilbert, S., 1986. "Technology and Application of Edible Protective Films". En Food Packaging and Preservation: Theory and Practice. M. Mathlouthi, Ed., London, UK: Elsevier Applied Science Publishing Co., p. 371-393.
7. Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J.A. y Voilley, A. 1998 "Edible Films and Coatings: Tomorrow's Packagings: a Review". Critical Reviews in food Science, p 38, 299-313.
8. Labuza, T.P. y Contreras-Medellin, R. 1981 "Prediction of Moisture Protection Requirements for Food". Cereal Foods World, p 16, 13.
9. El Ghaout, A., Arul, J., Ponnampalam, R., y Boulet, M. 1991 "Chitosan Coating Effects on Storability and Quality of Fresh Strawberry" J. Food Sci., p 6-8.
10. Shaw, C.P., Secrist, J.L. y Tuomy, U.S. 1980. Patent No. 4 196 219.
11. Baldwin, E.A., Nisperos-Carriedo, M.O. y Baker, R.A. 1995. "Edible Coatings for Lightly Processed and Vegetables". Hort. Science, p 30, 35-40.
12. Soliva, R.C. y Martín, O. 2001 "Envasado de Alimentos Mediante Recubrimientos Comestibles". Revista Alimentaria, Septiembre, p 29-37.
13. Greener, I. y Fennema, O. 1994 "Edible Films and Coatings: Characteristics, Formation, Definition and Testin Methods" En Edible coatings and films to improve food quality. Ed. Technomic Publishing Co. Inc., Lancaster E.U.A.
14. Stow, J. 1993 "Effect of Calcium ion son Apple Fruit Softening Dring Storage and Ripening". Postharvest Biology and Technology, p 31-33.
15. Wang, C.Y., Conway, W.S., Abbott, J.A. Kramer, G.F. y Sams, C.E. 1993. "Postharvest Infiltration of Polamines and Calcium Influences Ethylene Production and Texture Changes in Golden Delicious Apples" j. Amer Soc. Hort. Sci., 10, 18.
16. Greener, I.K. 1992. Thesis "Physical Propierties of Edible Films and their Components." University of Wisconsin-Madison.
17. McHugh, T.H. y Krochta, J.M. 1994 "Permeability properties of edible films". En Edible coatings and films to improve food quiality. Ed. Technomic Publishing Co. Inc., Lancaster E.U.A.
18. Krochta, J.M. y De Mulder-Johnston C., 1997. "Edible and Biodegradable Polymer films: Challenges and opportunities". Food Tchol., p 51 61-74.
19. Banker, G.S. 1996 "Film Coating theory and practice" J. Pharm. Sci., p5, 7-9.
20. Guilbert, S. y Biquet, B. 1995. "Películas y Envolturas Comestibles". Editores: G. Bureau, J.L. Multon, Ed. Acribia, Zaragoza. p 28-32.
21. Gontard, N.; Guilbert, S. y Cuq, J.L. 1993 "Water and Glycerol as Plasticizer Effect Machanical and Water Vapor Barrier Propierties of and Edible Wheat Gluten Film" J. Food Sci., p 06-11.

22. Torres, J.A. 1994 "Edible Films and Coating from Proteins" En Protein Functionality in Food Systems, eds., N.S. Hettiarachchy y G.R. Zeigler, New York: Marcel Dekker, pp. 46-50.
23. Rogers, C.E. 1985 "Polymer Permeability". Comyn, J., Ed., Elsevier Applied Science, New York.
24. García, M.A., Martino, M.N. y Zaritzky, N.E. 2000. "Lipid Addition to Improve Barrier Properties of Edible Starch-Based Films and Coatings" J. Food Sci., p 6, 41- 47.
25. Nelson N.L. y Fennema, O.R.1991 "Methylcelulose Films to Prevent Lipid Migration in Confitery Products" J. Food Sci., p 6, 10-12
26. Ninnemann, K.W. 1968 "Measurement of Physical Properties of Flexible Films" En The Science and Technology of Polymer Films. Ed. Interscience: London England, p 54-64
27. Williams, S.K., Oblinger, J.L. y West, R.L. 1978. "Evaluation of Calcium Alginate Films for use on Beef Cuts" J. Food Sci., p 4, 15-19.
28. Siragusa, G.R. y Dickson, J.S. 1992. "Inhibition of *listeria monocytogenes* on Beef Tissue by Application of Organic acids Immobilized in a Calcium Alginate gel" J. Food Sci., p 5, 23.
29. Gontard, N., Thibault R., Cuq B., y Guilbert S. 1996. "Influence of Relative Humidity and Film Composition on Oxygen and Carbón Dioxide Permeabilities of Edible Films". Food Chem., p4, 10-19.
30. Pérez-Gago, M.B. y J.M. Krochta. 2002 "Formation and Properties of Whey Protein Films and Coatings". En Protein-Based Films and Coatings. Ed. CRC Press, Boca Raton, FL.
31. Zhang, D., Quantick, P.C. y Zhang, D.L. 1998. "Antifungal Effects of Chitosan Coating on Fresh Strawberries and Raspberries During Store". J. Horticult. Sci. Biotechnol., p 7, 10-17.
32. Silva, R., Ash, D.J. y Scheibe, C.E. 1981. "Process for Applying a Moisture Barrier Coating to Baked and Fried Food Product". U.S. Patent No. 4 293 572.
33. Rico-Peña, D.C. y Torres J.A., 1990 "Edible Methylcellulose-based Film as Moisture Impermeable Barrier on Ice Crem Cones" J. Food Sci., p 1-3.
34. Brunner, J.R. 1997 "Milk proteins". En Food Proteins.: AVI Ppublishers, Inc., p 17-20.
35. Khwaldia, K., Pérez, C., Banon, S., Desobry, S. y Hardy, J. 2004 "Milk Proteins for Edible Films and Coating". Critical Reviews in Food Science and Nutrition, p 4,23-25.
36. Kinsella, J.E. y Whithead, D.M. 1989 "Proteins in Whey: Chemical, Physical, and Funtional Properties" Adv. Food Nutr. Res., p 34-38.
37. Gennadios, A., Mc Hugh., Weller, C.L. y Krochta, J.M. 1994 "Edible Coatings and Films Based on Proteins" En Edible coatings and films to improve food quality. Ed.Technomic Publishing Co. Inc., Lancaster E.U.A.
38. De Wit, J.N. 1989 "Funtional Properties of Whey Proteins". En Developments in Dairy Chemistry. Ed., P.F. Fox, New York: Elsevier Applied Science, p28-32.
39. Huffman, L.M. 1996 "Processing Whey Protein for use as Food Ingredient," Ed. Food Technology. p 4-8.
40. Sienkiewicz, T. y Riedel, C.L. 1990 "Utilization of whey". En Whey and Whey Utilization, second Edition, Ed. Verlag Th. Germany , p 9-13.
41. De Wit, J.N. 2001. "Lecturer's Handbook on Whey and Whey Products". 3rded. Ed. Belgium: European Whey Products Association.
42. Tong L.M., Sasaki, S., Mc Clements, D.J. y Decker, E.A. 2000. "Antioxidant Activity of Whey in a Salmon Oil Emulsion" J. Food Sci., p 13-19.
43. Cheftel, J.C., CUQ, J.-L. y Lorient, D. 1985 "Aminoacids, Peptides and Proteins" En Food Chemistry. Ed. O.R. Marcel Dekker, New York:, p. 245- 369.
44. Morr, C.V. 1995."Whey Protein Manufacture" En Developments in dairy Chemistry, Vol. 4, p 24. Fox, P.F. Ed. New York: Elsevier Appl. Sci.

45. Lerdthanagul, S. y J. M. Krochta, 1996. "Edible Coating Effects on Postharvest Quality of Green Bell Peppers" J. Food Sci., p 6, 11.
46. Alcantara, C.R. y Krochta, J.M. 1996. "Mechanical Propierties of Whey Protein Isolated-Coated Freeze-Dried Chiken White Meat Dice". En Anual Meeting, 22-26 june 2006, Atlanta, Ga., Chicago, IL: Institute of Food Technologists.
47. Maté, J.L.; Frankel, E.N.; Krochta, 1996. "Whey Protein Isolate Edible Coatings: Effect on the Rancidity Process of Dry Roasted Peanuts" J. Agric. Food Chem., p14.
48. Xie, L. Hettiarachchy, N.S., J.U, Z.Y., Muellenet, J., Wang, H., Slavik, M.F. y Yanes, M.E., 2002 "Edible Film Ciating to Minimize Eggshell Breakage and Reduce Post Wash Bacterial Contamienetion measured by Dye Penetretion in Eggs" J. Food Sci, p 17.
49. Vernon-Carter, E.J., Beristain, C.I. y Pedroza-Islas, R. 2000 "Mezquite gum (*Prosopis gum*)". En G. Doxastakis, y V. Kiosseoglou (Eds.). Novel Macromolecules in Food Systems. Elsevier Science B.V. Amsterdam, Holanda. p. 217-235.
50. Díaz-Sobac, R., García, H.S., Beristain, C.I. y Vernon- Cartelr, E.J. 2002. "Morphology and Wáter Vapor Permeability of Emulsion Films of Mezquite Gum". J. Food Process. Presev., p2,12-14.
51. Khana, M., Dwivedi, A.K., Singh, A. y Soni, P.L. 1997 "Mezquite Gum (*Prosopis juliflora*): Potential binder in tablet dosage forms". J. Pharm., p 6,13-15.
52. Nisperos- Carriedo, M.O. 1994. "Edible Coatings and Films Base don Polysaccharides" En Edible Coatings and Films to Improve Food Quality. Editores: J.M. Krochta; E.A. Baldwin; M. Nisperos-Carriedo. Technomic Publishig Co. Inc., Lancaster, EUA.
53. Gómez, C. 2004. "Propiedades Mecanicas de Peliculas Comestibles a base de un Sistema mixto de Polisacaridos y Proteínas". Tesis. Universidad Iberoamericana. México.
54. Bozquez-Molina, E. y Vernon-Carter E.J. 2005 "Effect of Plasticizers and Calcium on Water Vapor Permeability of Mezquite Gum-Candelilla Wax based Films" Revista Mexicana de Ingenieria Química, 4, 157-162.
55. Espinoza-Herrera, N., Pedroza-Islas, R., Vernon-Carter, E. J., 2002 "Composite Wall Microencapsulated Diets (Whey Protein Concentrate-Mezquite Gum) for Marine Shrimp Larvae" En World Aquaculture. Book of Abstracts. Pp. 591 Beijin, China.
56. L. Feng, S. Li, L. Zhang, J. Zhai, Y. Song, B. Liu, L. Jiang, D. Zhu, Adv. Mater. 2002 p.14
57. D.Y. Ryu, K. Shin, E. Drockenmuller, C.J. Hawker, T.P. Russell, 2005 Science. 308.
58. P. Scheier, B. Marsen, K. Sttaler, J. Appl. Fhys. 2003 P 94.
59. T. Hatakeyama, F.X.Quinn 2000 "Thermal Analysis fundamentals and applications to polymer science" West Sussex England 2da ed. Editorial John Wiley and Sons. p. 5-11 y 45-65.
60. Michael E. Brown 1998 "Thermal Analysis Techniques and Applications" New York Editorial Chapman and Hall p. 7-19 y 23-38.
61. Banerjee, R. y Chen, H. 1995 "Functional Properties of Edible Films Using Whey Protein Concentrate" J. Dairy Sci., p 8 16-18.
62. A. Marmur. 2006 "Measurament and Interpretation of Contac Angles": Israel Institute of Technology. Soft Meter.
63. T. Karbowaik, F. Debeufort. 2006 "Importance of Tension Characterization for Food, Pharmaceutical and Packaging products": Areview. Critical Rivieus in Food Science and Nutrition.
64. Fowkes Frederick M. 2004 "Atractive Forces at Interfaces": The Interface symposium p 5.
65. R.E. Johnson, Jr. and R. H. Dettre, 1969 "Surface and Collioid Science", ed. E. Matijevic, Wiley-Interscience, New York, vol. 2, p.85.
66. G. Wolansky and A. Marmur, 1999 "Colliods Surfce", p. 14.
67. S. Brandon, N. Haimovich, E. Yeger and A. Marmur, J. 2003 "Colliod Interface Sci"., p. 263

68. A.B.D. Cassie and S. Baxter, 1944 Trans, Faraday Soc., p.40.
69. Roskoski Robert, Bioquímica, México 1998, editorial McGraw-Hill Interamericana, p 47-50.
70. Turgeron Sylvie L., Beaulieu Martin 2001 "Improvement and Modification of Whey Protein Gel Texture Using Polisaccharides" Québec, Food Hydrocolloids, elsevier.
71. Tang, Q., McCarthy, O.J., & Munro, P.S. 1995. "Oscillatory Rheological Study of the Effects of pH and Salts on Gel Development in Heated WPI Solution." Journal of Dairy Research, p 62, 46-47.
72. Bertrand,M., Turgeron, S.L. 2006 "Improved Gelling Properties of WPI by Addition of Xanthana Gum" ScienceDirect Food Hydrocolloids. Elsevier p 3-8.
73. Klarenbeek G. and J.N. de Wit 1984 "Effects of Various Heat Treatments on Structure and Solubility of Whey Proteins" Journal of Dairy Science Vol.67 No. 11.
74. Ziegler, G.R., & Foegeding, E.A. 1990. "Gelation of Proteins". Advances in Food and Nutrition Research, p 34, 203-298.
75. Totosaus, A., Montejano, J.G., Salazar, J.A., & Guerrero, I. 2002. "A review of physical and chemical protein-gel induction" International Journal of Food Science and Technology, p 37, 58-60.
76. Anker, M. Standing, M. y Hermansson, A.M. 2000 "Relationship Between the Microstructure and the Barrier Properties of Whey Protein Films". J. Agric. Food Chem., p 48.
77. Norton I.T. y Frith W.J. 2001 "Microstructure Design in Mixed Biopolymer Composites" Food Hydrocoll., p 543,553.
78. A. Reamy and T.F. Schweizer,1983 "Thermal Behaviour of carbohydrates studied by heat flow calorimetry" Journal of Thermal Analysis, vol. 2 p 28,.
79. Tolstoguzov V.B. 1981 "Functional Properties of Protein-Polysaccharide Mixtures" Institute Of Organolement Comunds, USSR Academy of Sciences, Moscow.