



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA

**PROGRAMA DE POSGRADO EN ALIMENTOS DEL
CENTRO DE LA REPÚBLICA (PROPAC)**

**CARACTERIZACIÓN DE DISPERSIONES FILMOGÉNICAS A BASE DE
ALMIDÓN DE MAÍZ Y ÁCIDO OLEICO EN NANOEMULSIÓN CON CAPACIDAD
DE FORMACIÓN DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES ACTIVOS**

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de:

Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta:

IBQ. Luis Raymundo Reyes González

Dirigida por:

Dr. Carlos Regalado González

Santiago de Querétaro, Querétaro, Noviembre 2013



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Caracterización de dispersiones filmogénicas a base de almidón de maíz y ácido oleico en nanoemulsión con capacidad de formación de recubrimientos comestibles activos

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de:

Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta:

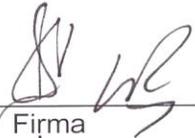
I.B.Q. Luis Raymundo Reyes González

Dirigido por:

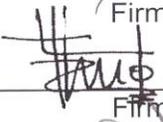
Dr. Carlos Regalado González

SINODALES

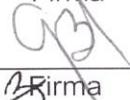
Dr. Carlos Regalado González
Presidente


Firma

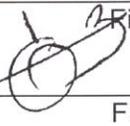
Dr. José Rogelio Rodríguez Talavera
Co-Director


Firma

Dra. Blanca E. García Almendárez
Vocal


Firma

Dr. Luis Arturo Bello Pérez
Suplente


Firma

Dra. Liliana Alamilla Beltrán
Suplente


Firma


M.S.P. Sergio Pacheco Hernández
Director de la Facultad de Química


Dr. Irineo Torres Pacheco
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Noviembre, 2013.
México

RESUMEN

Los recubrimientos comestibles (RC) son usados para conservar la calidad de alimentos y, al adicionarse agentes antimicrobianos, se puede extenderse su vida de anaquel. RC formulados con almidón de maíz ceroso tienen capacidad de ser buenas barreras a gases mientras que, al incorporar agentes hidrofóbicos como aceites en nanoemulsión, tienen la capacidad de proteger al producto contra pérdidas excesiva de humedad, además de ser organolépticamente aceptables y capaces de recubrir la superficies de los alimentos. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar dispersiones filmogénicas (DF) que forman RC activos a base de almidón de maíz ceroso incorporando ácido oleico como agente hidrofóbico y arginato láurico como antimicrobiano. Mediante un diseño experimental 2^3 se formularon y caracterizaron nanoemulsiones de ácido oleico (5-20%), tiempo de sonicación (3-5 min) y Tween 80 (1-5%) mediante tamaño de partícula (TP), transparencia y potencial zeta. Las DF se produjeron usando tres almidones de maíz ceroso: nativo, acetilado-entrecruzado y oxidado, adicionando en todos los casos ácido oleico en nanoemulsión (1% v/v) y 2500 ppm de arginato láurico. Se obtuvo el coeficiente de mojabilidad de las DF en superficies de alimentos modelo. A películas formadas de las DF, se les analizaron algunas propiedades fisicoquímicas como espesor, solubilidad, opacidad y permeabilidad a vapor de agua (PVA). Mediante FT-IR/ATR se determinaron las posibles interacciones moleculares de las DF. Del diseño experimental se eligió la formulación con menor TP y mayor transparencia. Los coeficientes de mojado variaron dependiendo de la superficie y del almidón usado en la DF, siendo para jitomate de -15.88 ± 0.71 a -16.42 ± 1.38 mN/m, nuez -7.39 ± 0.21 a -11.82 ± 0.0 mN/m y carne de cerdo -0.01 ± 0.0 a -0.44 ± 0.19 mN/m. La DF de almidón acetilado-entrecruzado presentó valores significativamente diferentes ($\alpha < 0.05$) en capacidad de mojado, solubilidad, opacidad y espesor. Micrografías SEM de las películas formadas demuestran una elevada distribución de poros, causantes de una alta PVA. Espectros de FT-IR demuestran la nula interacción molecular de los RC. Se logró crear una nanoemulsión de ácido oleico, además de formular y caracterizar fisicoquímicamente DF y sus películas a base de almidón ceroso nativo y con modificaciones, adicionados de arginato láurico como antimicrobiano natural.

Palabras clave: Recubrimiento comestible activo, nanoemulsión, coeficiente de mojado, FT-IR, SEM.

SUMMARY

Edible coatings (EC) can be used to preserve quality and to extend shelf life of fresh foods, when a natural antimicrobial agent is added. EC based on modified waxy corn starch provide good gas barrier, while fatty acids can be added to provide moisture loss protection. EC can be organoleptically accepted and are capable to coat any food surface. The aim of this work was to characterize film forming dispersions (FFD) forming EC based on waxy corn starch, adding oleic acid as hydrophobic agent and lauric arginate as natural antimicrobial. Nanoemulsions were formulated using a 2³ factorial design, in which factors were oleic acid (5-20% w/v), sonication time (3-5 min) and Tween 80 (1-5% v/v). Response variables were particle size (PS), transparency and zeta potential. Three waxy corn starches were used: native, acetylated cross-linked and oxidized. Nanoemulsified oleic acid (1% v/v) and lauric arginate (2500 ppm) were added to form the FFD, whose spreading coefficient was measured over the surface of model foods. Films from FFD were analyzed for thickness, solubility, opacity and water vapor permeability (WVP). Possible molecular interactions of EC ingredients were determined through FT-IR/ATR. The nanoemulsion showing lower PS and higher transparency was chosen. Spreading coefficient varied depending on food surfaces and type of starch; tomato ranged -15.88±0.71 to -16.42±1.38 mN/m, pecan nut -7.39±0.21 to -11.82±0.0 mN/m and pork meat -0.01±0.0 to -0.44±0.19 mN/m. FFD from acetylated cross-linked starch showed significantly different ($\alpha < 0.05$) properties of wetting, solubility, opacity and thickness. Films SEM micrographs showed a large distribution of pores producing the high WVP observed. FT-IR spectra did not exhibit molecular interactions among EC components. FFD based on native and modified waxy corn starches, added with oleic acid and lauric arginate were formulated and characterized for possible incorporation on food surfaces.

Key words: Active edible coating, nanoemulsion, spreading coefficient, FT-IR, SEM.

DEDICATORIA

Principalmente a mis padres Angélica y Raymundo, en los que puedo contar y confiar incondicionalmente, los que me han enseñado a ser un mejor hijo y mejor persona día a día. Gracias por todos los sacrificios, desvelos, preocupaciones que han pasado por amarme, gracias por su gran apoyo, comprensión, amor y todos los momentos hermosos; no solo en esta etapa sino en toda mi vida. ¡Los amo!

A Gisela, mi amiga, mi confidente, mi amor, la compañera de las mejores experiencias de mi vida. Doy gracias a Dios por encontrarnos en el camino y tenerte a mi lado, sin tu ayuda, palabras de aliento y empuje; no hubiera podido concluir de la forma en que lo hice, gracias por dejarme ser parte de tu vida y día a día hacerme un mejor hombre. La vida nos espera... ¡Te amo!

A mi abuelita Ina, que siempre me ha apoyado y empujado para salir adelante y superarme día a día. Gracias por tu amor. Te quiero muchísimo.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por haberme dado la fortaleza y cuidar de mí, además de darme la oportunidad de realizarme personal, académica y profesionalmente.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca durante mis estudios de maestría.

Al Departamento de Investigación y Posgrado de Alimentos y todo su personal administrativo.

Al Dr. Carlos Regalado González, figura a seguir por su trayectoria, conocimientos y pasión por la investigación, gracias por la oportunidad y la confianza que me ha otorgado al trabajar en su laboratorio además de todas las enseñanzas.

A la Dra. Blanca García Almendárez, por todos esos consejos, conocimientos y regaños que me ayudaron a crecer y mejorar tanto en el laboratorio y como persona.

Al Dr. Rogelio Rodríguez Talavera, por esos consejos y apoyo que alimentaron muchísimo a este trabajo y en lo personal a trabajar con nuevas técnicas e incitar mi gusto por la nanotecnología.

A la Dra. Liliana Alamilla, quien sin conocerme me concedió el gusto de trabajar en su laboratorio, gracias por su apoyo y amabilidad.

A la Dra. Susana Vargas, parte importante en la parte técnica de este trabajo, sin su ayuda, tiempo y paciencia no habría podido hacer varios análisis.

A los doctores que me apoyaron en mi formación y realización de este trabajo, el Dr. Luis Arturo Bello Pérez, el Dr. Fernando Martínez Bustos, el Dr. Gustavo Fidel Gutiérrez, la Dra. Maribel Cornejo, la Dra. Genoveva Hernández y al Dr. José Luis González Solís.

A Jonathan, Erick, Stuff, Nuria y mi abuelito Felipe, gracias por todo su apoyo cariño, amor y palabras de aliento. Los amo.

A mi chaparra hermosa, Gisela. Gracias por apoyarme, hacerme salir adelante y amarme tanto. Te amo más.

A mis amigos de laboratorio: Raquel, Adriana, Rodrigo, Irais, Flor, Karen, Víctor, Alejandra, Dianita, Aldo, Eli, Honorio, Elvia y Blanquita. Gracias por esas incontables risas, por su apoyo, por sus consejos, por compartir sus conocimientos, por aguantarme, por sus sonrisas estimulantes y por aceptarme y quererme tal cual, confío en que llegarán lejos. A Tere, mi tutora y amiga, gracias por compartirme tus conocimientos, experiencia y consejos, por abrirnos las puertas de tu hogar. Martita, mi amiga y compañera de travesuras, gracias por esas risas y momentos

inigualables, porque sabía que podía contar contigo para lo que fuera, desde un chiste, una opinión, un chisme, un cálculo, una traducción; sé que serás una gran investigadora. A Todos los quiero mucho.

A mis amigos Don Beto, Doña Marely y Don Omar, que me ayudaron tanto, que siempre recibí de ustedes un isí!, una sonrisa y una cheve; no habrá forma de pagárselos; gracias por dejarme formar parte sus vidas y aceptarme tal cual. Bien dicen que los amigos son la familia que uno elige, saben que ahora son parte de mi familia por siempre, no importa la distancia.

A mis amigos del posgrado: Emmanuel, Diego, Andrea, Nayeli, Eunice, Dalia, Abraham, Danny, Alejandro, Mireya, Ana y Rossana. Gracias por esos excelentes momentos de diversión que me hacían olvidar las preocupaciones de la escuela y apoyo que siempre me brindaron. En especial a Gaby que después de varios años la vida nos volvió a juntar para reforzar nuestra amistad, gracias por ser mi compañera de viajes, mi confidente y mi amiga, sin tu apoyo no sería tan feliz como lo soy ahora. Los quiero mucho.

A mi nueva familia, los Lerma y los Vizcarra, que desde la primera vez fui recibido con cariño y respeto, muchas gracias por todo el apoyo que han dado, no los defraudaré.

A mis amigos y colegas Rogelio, Ruth, Beto, Ilse, Alfredo, Goldie, Candy, Gustavo, Nancy, Tere, Rodrigo, Oscar, Adriana, Rubén, Cristina, Rosalía y Deyssi. Aunque la distancia y ocupaciones nos separan, siempre formaran parte importante de mi formación y de mi vida.

A mis amigos Saúl, Fidi, Lilia, Mito, Vero, Pepo, Aroldo, Cristy, Gaby, Hugo, Carlos y Elsa, ya que de ustedes solo recibo halagos, respeto, cariño y palabras de admiración, aunque me hicieron mucha falta en esas noches que se juntaban y disfrutaban. Los quiero mucho.

A mis tíos: Rico, Mayo, Martín, Joaquín, Queño, Leo, Rosy, Irma, Mario, Raúl, Coco, Celia, Lupita, Héctor y Jorge. Que siempre me han dado su cariño y apoyo. Al igual que a todos mis primos, que si los nombro a todos nunca acabaría. Mil gracias.

A Carla García Junco, mi primer jefa como profesionista y la mejor, ya que con su apoyo logre iniciar esta etapa. Gracias.

A mis abuelitos Coco y Lupe, que me cuidan siempre desde el cielo y los extraño.

A todos ustedes que han sido parte de mi vida y perdón si se me pasó mencionarlos (si me conocen, saben que mi memoria no es la mejor).

GRACIAS

ÍNDICE

RESUMEN.....	i
SUMMARY.....	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
ÍNDICE.....	vi
Índice de cuadros.....	ix
Índice de figuras.....	x
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1.Empaques en los alimentos.....	3
2.2. Empaques biodegradables.....	5
2.3. Empaques comestibles.....	5
2.3.1. Composición de los Empaques Comestibles.....	7
2.3.1.1. Proteínas.....	8
2.3.1.2. Lípidos.....	9
2.3.1.3. Polisacáridos.....	10
2.3.1.4. Aditivos y otros componentes.....	15
2.3.2. Recubrimientos compuestos.....	18
2.4. Emulsiones.....	18
2.4.1. Nanoemulsiones.....	19
2.4.2. Estabilidad de nanoemulsiones.....	20
2.4.3. Tamaño de partícula.....	20
2.4.4. Movilidad electroforética.....	21
2.5. Caracterización de dispersiones filmogénicas y estimación de su comportamiento.	24
2.5.1. Caracterización molecular.....	24
2.5.2. Mojabilidad.....	25

3. JUSTIFICACIÓN.....	27
4. HIPÓTESIS.....	28
5. OBJETIVOS.....	29
5.1. General.....	29
5.2. Específicos.....	29
6. MATERIALES y MÉTODOS.....	30
6.1. Materiales.....	30
6.2. Métodos.....	30
6.2.1. Elaboración de una dispersión filmogénica y película a base de almidón ceroso, incorporando un agente hidrofóbico y un antimicrobiano natural.....	30
6.2.2. Formulación de nanoemulsión (O/W) de ácido oleico.....	31
6.2.2.1. Diseño experimental.....	31
6.2.2.2. Análisis de tamaño de partícula.....	32
6.2.2.3. Análisis de transparencia.....	32
6.2.2.4. Medición de potencial zeta (ζ).....	33
6.2.3. Propiedades fisicoquímicas de películas.....	33
6.2.3.1. Espesor.....	33
6.2.3.2. Opacidad.....	34
6.2.3.3. Permeabilidad al vapor de agua (PVA).....	34
6.2.3.4. Material soluble total.....	36
6.2.3.5. Análisis de microestructura.....	36
6.2.4. Análisis fisicoquímicos de dispersiones filmogénicas.....	38
6.2.4.1. Coeficiente de mojabilidad.....	38
6.2.5. Análisis de interacciones moleculares.....	39
6.2.6. Análisis estadístico.....	40
7. RESULTADOS y DISCUSIONES.....	41
7.1. Formulación de dispersión filmogénica y formación de una película comestible.....	41

7.2. Formulación de nanoemulsión de ácido oleico.....	42
7.2.1. Análisis de tamaño de partícula de emulsiones.....	43
7.2.2. Determinación de transparencia de emulsiones.....	45
7.2.3. Medición de potencial zeta.....	46
7.3. Caracterización de películas comestibles.....	47
7.3.1. Espesor.....	47
7.3.2. Opacidad.....	47
7.3.3. Permeabilidad al vapor de agua (PVA).....	48
7.3.4. Material soluble total.....	50
7.3.5. Microestructura de películas comestibles.....	51
7.3.5.1. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM, Scanning Electron Microscopy).....	51
7.3.5.2. Rugosidad por perfilometría.....	55
7.4. Caracterización de dispersiones filmogénicas.....	56
7.4.1. Determinación de la tensión interfacial líquido-vapor (γ_{LV}).....	56
7.4.2. Determinación de la tensión interfacial sólido-vapor (γ_{SV}).....	57
7.4.3. Determinación de la tensión interfacial sólido-vapor (γ_{SV}).....	59
7.4.4. Coeficiente de mojabilidad.....	60
7.5. Análisis de interacciones moleculares.....	63
7.5.1. FTIR/ATR.....	63
8. CONCLUSIONES.....	66
BIBLIOGRAFÍA.....	67
APÉNDICE.....	74

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Pagina
1. Sistemas o métodos para formación de emulsiones.....	19
2. Estabilidad de suspensiones dependiendo del potencial zeta.....	23
3. Diseño factorial 2^3 completo.....	33
4. Diseño factorial 2^3 completo con tamaño de partícula y transparencia.	43
5. Determinación de potencial zeta.....	46
6. Caracterización de películas comestibles.....	48
7. Rugosidad de películas comestibles.....	55
8. Tensión interfacial líquido-vapor (γ_{LV}).....	57
9. Ángulo de contacto de líquidos de referencia en superficie de alimentos modelo.....	58
10. Tensión interfacial sólido-líquido (γ_{SL}).....	60
11. Coeficiente de mojabilidad W_s	61
12. Investigaciones donde determinan coeficientes de mojado de dispersiones filmogénicas en diferentes alimentos.....	62
13. Asignación de picos de absorbanza de los espectros FTIR/ATR.....	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Pagina
1. Principales componentes base de los empaques comestibles.....	7
2. Representación gráfica, estructural y molecular del almidón.....	12
3. Efectos de ruptura de emulsiones.....	21
4. Representación de doble capa eléctrica y potencial zeta.....	22
5. Diagrama de fuerzas interfaciales y su influencia en el ángulo de contacto.....	26
6. Celda empleada para la determinación de la permeabilidad al vapor de agua.....	35
7. Película comestible a base de almidón waxy.....	42
8. Representación de nanoemulsión con exceso de emulsificante en película comestible.....	50
9. SEM de película de almidón ACLS 2,000x.....	52
10. SEM de película de almidón ACLS 500x.....	53
11. SEM de película de almidón OS 1,000x.....	53
12. SEM de película de almidón Waxy 1,000x.....	54
13. SEM de crio-corte transversal de película de almidón Waxy 1,200x.....	54
14. Comparación de espectros FTIR/ATR de película de ACLS y sus componentes.....	64
15. Comparación de espectros FTIR/ATR de película de Waxy y sus componentes.....	64
16. Comparación de espectros FTIR/ATR de película de OS y sus componentes.....	65

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad el consumidor prefiere alimentos frescos o aquellos que han sido mínimamente manipulados, debido a que asocia algunas enfermedades crónico-degenerativas con el consumo generalizado de aditivos químicos presentes en los alimentos procesados. Este aumento en la demanda de alimentos con mínimo procesamiento por el consumidor ha dado como resultado un gran crecimiento en su distribución y transporte. Por lo anterior y considerando que los alimentos con procesamiento mínimo no son adquiridos inmediatamente cuando llegan a los almacenes, pueden llegar a sufrir cambios o daños que reduzcan su calidad si no se les da una protección adecuada. Los cambios pueden ser deshidratación, reducción de calidad nutricional, apariencia y/o deterioro por microorganismos. Estos cambios pueden ocurrir en horas o días si no se les da un adecuado manejo o protección (Pavlath y Orts 2009).

Los empaques de alimentos aportan protección y conservación a los alimentos, generalmente del deterioro oxidativo y microbiano por lo que se extiende su vida de anaquel (Taranathan, 2003). Como mencionan Villada y col. (2007), el uso indiscriminado de empaques sintéticos genera serios problemas ecológicos contribuyendo a la contaminación provocada por la acumulación de desechos sólidos de baja biodegradabilidad. Esto ha impulsado a la búsqueda de polímeros naturales los cuales pueden ser utilizados como empaques o recubrimientos, por su fácil biodegradabilidad.

Dado el largo tiempo requerido para la biodegradación de los materiales sintéticos a base de derivados del petróleo, una alternativa con mejores perspectivas ecológicas lo representa el uso de empaques biodegradables y comestibles, ya que pueden formularse para proveer estabilidad, calidad y seguridad a los alimentos empacados o recubiertos. Por otro lado, estos materiales pueden ser portadores de diversos compuestos que proporcionan al alimento

diferentes características que impactan atributos sensoriales, con efecto antioxidante o nutracéutico o bien que alargan su vida de anaquel.

Los alimentos están en constante peligro de ser atacados por diferentes tipos de microorganismos capaces de deteriorar el producto alimenticio o provocar enfermedades. Es por ello que se han diseñado los empaques comestibles activos que son capaces de permitir la incorporación y posterior liberación controlada de antioxidantes, productos nutracéuticos o agentes antimicrobianos naturales (Lin y Zhao, 2007).

Los polímeros fundamentalmente utilizados en las formulaciones de empaques comestibles son esencialmente: polisacáridos, proteínas, lípidos y resinas y sus combinaciones; aunque se pueden usar también plastificantes, emulsificantes, surfactantes y agentes con actividad biológica específica (Janjarasskul y Krochta, 2010).

El recubrimiento es formulado generalmente teniendo en cuenta las propiedades de barrera (a la humedad y gases) y mecánicas (elasticidad, resistencia a la tensión) que proporcionan los polímeros comestibles al alimento, ya que cada composición confiere diferentes tipos y grados de protección (Krochta y Mulder-Johnson, 1997). Otro parámetro para diseñarlos son las propiedades de superficie de la dispersión que formará el recubrimiento comestible, para así conocer características como adherencia y espesor en la superficie del alimento. (Ramírez y col, 2012).

2. ANTECEDENTES

2.1 Empaques en los alimentos

Los estudios relativos a las propiedades mecánicas, de barrera y estructurales de empaques para uso en alimentos, tienen un papel fundamental para obtener una adecuada formulación y aplicación, con el fin de mantener el suministro de alimentos después de su procesamiento, comercialización y hasta su consumo, que sean seguros y de calidad para toda la población. En la tecnología de empaques se busca un equilibrio entre los costos de producción tanto energéticos como de materias primas, y la conciencia social y ambiental, siendo en la actualidad más buscados o deseados los materiales biodegradables (Marsh, 2007).

El uso de empaques en alimentos tanto crudos, mínimamente procesados o industrializados, ayuda a mantener cualidades buscadas por los consumidores, previniendo deterioro tanto químico (oxidación) como microbiológico, además de asegurar la inocuidad del alimento (Tharanathan, 2003). El gran auge en la comercialización y exportación de alimentos, ha incrementado el uso de los empaques sintéticos por lo que sus desechos representan un gran impacto ambiental, ya que su degradación puede tardar varios o hasta cientos de años; es por esto que la industria de los empaques biodegradables ha ido creciendo fuertemente.

Algunos requisitos que esencialmente se buscan en los empaques de alimentos, según Olivas y Barbosa-Cánovas (2009), son.

- Controlar la velocidad de respiración de alimentos vegetales frescos para crear una atmosfera modificada alargando así la vida de anaquel
- Prevenir reacciones de oxidación

- Permitir una barrera al paso de vapor de agua, ya que la deshidratación de productos frescos no es aceptada por el consumidor
- Impedir la migración de lípidos
- Mantener la integridad estructural del alimento, que incluye la pérdida de textura y color por madurez o daño físico
- Poder servir como vehículo de aditivos naturales
- Mantener la calidad nutricional del alimento
- Prevenir o reducir deterioro microbiano a lo largo de su almacenamiento

Algunas características o necesidades que tienen los alimentos tanto frescos como procesados son esenciales para elegir las propiedades específicas de los empaques.

Un parámetro que se busca evitar en productos con elevada humedad relativa es la pérdida de agua, ya que se traduce en pérdida de peso y un aspecto reseco conduciendo a una reducida aceptabilidad; ejemplos de alimentos afectados principalmente por esta característica, son frutos, vegetales y/o productos cárnicos en piezas pequeñas.

Con el uso de empaques la textura puede tanto prevenirse como controlarse. Al recubrirse un alimento, puede crearse un ambiente micro aerobio en el cual se retarda la madurez, retrasando la pérdida de la firmeza en frutos o cambios de color y textura en carne. Alternativamente, el uso de empaques más resistentes y flexibles, previene daños físicos por golpes, rasguños, etc.

Agente antioxidantes como el ácido ascórbico, adicionados a los empaque pueden atrapar oxígeno en el ambiente alrededor del alimento previniendo así fenómenos de oscurecimiento enzimático y rancidez. En productos conteniendo altos niveles de lípidos como las nueces puede retrasar igualmente la rancidez; por otro lado, los quesos en rebanadas pueden ser susceptibles a rancidez si no son protegidos con recubrimientos con actividad antioxidante. Los empaques pueden

ser acarreadores o barrera de compuestos volátiles, teniendo el empaque capacidad para proveer, mantener o evitar la absorción de aromas indeseados por parte del alimento, como por ejemplo carnes, quesos y frutas.

2.2 Empaques biodegradables

Los empaques biodegradables se definen como materiales de empaque, hechos a base de polímeros naturales, los cuales con capases de descomponerse de forma aeróbica o anaeróbica por acción de microorganismos en condiciones ambientales. Esta degradación se lleva a cabo gracias a procesos enzimáticos, los productos finales son únicamente dióxido de carbono, agua, metano y biomasa (Regalado, 2006).

2.3 Empaques comestibles

Los empaques comestibles son una gran alternativa a estos residuos contaminantes, tienen las mismas cualidades al proveer estabilidad calidad y seguridad a los productos, además que pueden ser vehículo de diversos aditivos que proporcionan al alimento diferentes características, tanto sensoriales, antioxidantes, nutraceuticos y alargarles la vida de anaquel.

El mercado de las películas y recubrimientos comestibles (RC), ha ido en crecimiento en los últimos años, ya que juegan un papel importante en los alimentos debido a que aportan características que protegen o promueven la calidad y la seguridad de estos en su comercialización. La industria de las películas comestibles ha pasado a ser una industria multimillonaria ya que en 1999 estaba valuada en un millón de dólares al año, datos actuales dicen que en 2008 pasó a estar valuada a más de 350 millones de dólares. Es por esto que la comunidad científica y tecnológica se ha dado a la tarea de producir un sinnúmero de artículos, patentes y diversos conocimientos respecto al tema. Programas de sostenibilidad y un interés en el uso de los recursos renovables, impulsan el crecimiento del uso de

películas y recubrimientos comestibles. Una de sus grandes ventajas o cualidades es la fuente de sus ingredientes principales, los cuales pueden provenir de subproductos de industria agrícola (Embuscado, 2009).

Los empaques comestibles o biodegradables en general, ofrecen la alternativa para reducir la contaminación con empaques plásticos, aunque no tienen el fin de reemplazar por completo los empaques sintéticos (Krochta y Mulder-Johnston, 1997), los empaques biodegradables tienen el potencial de empaquetar los alimentos previniendo o disminuyendo la pérdida de humedad o aroma.

Janjarasskul y Krochta (2010) definen a los empaques comestibles como: “Materiales que tienen por objetivo ser parte integral de productos alimenticios y que pueden ser consumidos en conjunto con el producto, así además tienen que ser biodegradables en composta u otro proceso de reciclaje biológico”, Vargas y col. (2008) los describe como: “pequeña capa de material que cubre la superficie de un alimento el cual puede ser consumido como parte del producto completo”. En este trabajo y en demás literatura, se hace la diferenciación en los empaques que se puede usar como película comestible (PC) o como RC, en el cual el primero se habla de una estructura preformada por sí sola, es decir, independiente del alimento, y la cual será colocada entre el alimento y el empaque primario o ser parte del empaque primario; y el término RC es usado cuando el alimento es impregnado en su superficie por materiales comestibles en forma de solución, también llamada dispersión filmogénica (DF) (Janjarasskul y Krochta, 2010)

Varios autores tienen varias definiciones para estos sistemas de empaques, pero en lo que todos concuerdan es que los ingredientes con los que deben ser formulados, deben ser grado alimenticio y estar permitidos para su consumo por las instancias regulatorias pertinentes. Las instituciones mayormente reconocidas a nivel internacional que regulan lo anteriormente mencionado son la “Administración de Alimentos y Medicamentos” (FDA por sus siglas en inglés) en su código federal de regulaciones y la “Directiva Europea”, en donde se menciona que

los ingredientes de los materiales de empaque comestibles deben ser solo los necesarios para satisfacer los objetivos y estar mencionados en el código federal de regulaciones como “generalmente reconocidos como seguros” (GRAS por sus siglas en inglés) (Vargas y col., 2008).

2.3.1. Composición de los Empaques Comestibles

Existen diferentes y diversos componentes o materiales bases con las que se pueden formular los empaques comestibles como se muestra en la Figura 1. Además de los materiales bases, se pueden incorporar otros ingredientes y aportarles características especiales y darles un valor agregado al producto, por ejemplo plastificantes, antioxidantes, antimicrobianos, sabores, colores, entre otros. Los biopolímeros naturales son buenos materiales para crear empaques, ya que tienen gran capacidad filmogénica y adecuadas propiedades mecánicas (Janjarasskul y Krochta 2010, Campos y col., 2011).

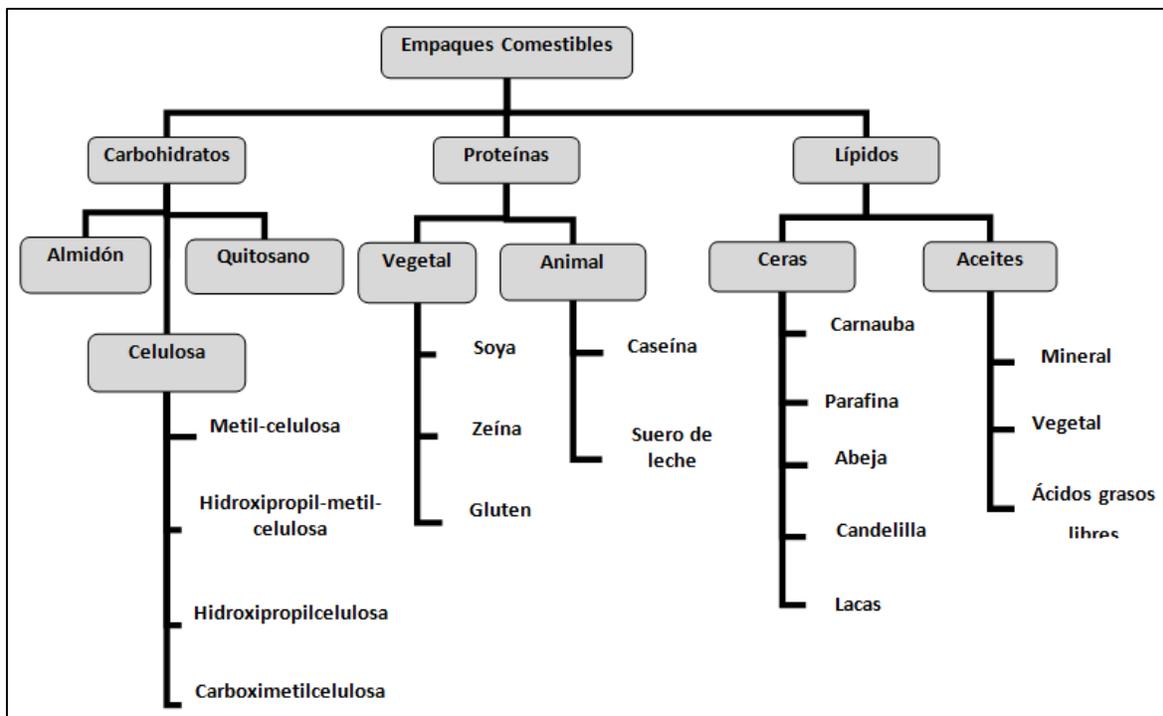


Fig. 1. Principales componentes base de los empaques comestibles (adaptado de Olivas y Barbosa-Cánovas, 2009).

2.3.1.1. Proteínas

Son polímeros de aminoácidos que pueden ser usados en la formulación de una dispersión filmogénica ya sea sin modificaciones o causando una desnaturalización previa, proveen de una buena barrera contra el transporte de gases, aromas o lípidos, pero tienen por desventaja una gran permeabilidad al vapor de agua. A continuación se describen algunos de las proteínas mayormente usadas como bases de empaques comestibles (Janjarasskul y Krochta, 2010).

Gluten de Trigo

Las dispersiones filmogénicas de este material son de gran interés ya que al ser de carácter hidrofóbico dado su gran número de aminoácidos de esta naturaleza, los solventes en los que se suspende este material son comúnmente ácidos orgánicos o etanol, que por su volatilidad permiten un más rápido secado de la dispersión filmogénica.

Zeína de Maíz

La zeína de maíz comprende un grupo de prolaminas las cuales tienen como característica no ser solubles en agua, solo en condiciones de pH's extremos. Es capaz de formar un material de empaque sólido debido a la gran cantidad de aminoácidos hidrofóbicos y enlaces disulfuro. Les otorga brillo a los empaques fabricados con este material, además de tener una moderada propiedad de barrera restringiendo el paso de oxígeno, lípidos y humedad.

Proteína de Soya

Se puede encontrar como harina (50-59% en peso), soya desgrasada (65-72%) y aislado de proteína de soya (>90%), aunque la última es la más usada en la preparación de empaques. Gracias a su hidrofobicidad, los empaques elaborados

con el aislado pueden controlar la pérdida de humedad y controlar la oxidación del material empacado, principalmente en productos cárnicos.

Colágeno y Gelatina

Debido a su composición de aminoácidos hidrofílicos, esta propiedad es conferida a las películas elaboradas en base a colágeno o gelatina. Los empaques comestibles comercializados son producidos con colágeno. Los empaques de gelatina tienen como propiedades reducir la transferencia de oxígeno, humedad y aceites y son principalmente usados en la industria farmacéutica.

Proteínas de suero de Leche

El suero es el líquido remanente una vez que se obtiene la cuajada en la industria quesera y es un subproducto que puede usarse para obtener el concentrado (25-80% en peso) o aislado (>90%). Las principales proteínas del suero lácteo son β -lactoalbúmina (50% p/p) y α -lactoglobulina (20% p/p). Las principales características que imparten las proteínas del suero de leche como base de películas comestibles son: buena barrera al oxígeno y buena capacidad de evitar la migración de lípidos (Regalado, 2006).

Otras Proteínas

Además de las proteínas ya mencionadas también podemos encontrar empaques a base de: proteína miofibrilar, queratina, proteína de huevo, arroz, chícharo, cacahuate, entre otros.

2.3.1.2. Lípidos

Los materiales lipídicos pueden también usarse como base de recubrimientos comestibles, solos o dispersos en una matriz hidrofílica en forma de

emulsión. La principal característica que aportan estos recubrimientos es la buena protección contra la pérdida de humedad del alimento recubierto que puede variar según su composición, grado de insaturación o longitud de cadena de sus ácidos grasos. Por ejemplo, entre más larga la cadena de los ácidos grasos saturados tales como el palmítico (C16), o el esteárico (C18) como componentes del material lipídico, la permeabilidad al vapor de agua será menor (Olivas y Barbosa-Cánovas, 2009), además entre más insaturados son los ácidos grasos, mejor será esta capacidad de permeabilidad. Otras características que aportan los materiales lipídicos incluyen la formación de recubrimientos o películas delgadas y brillosas, aunque frágiles por si solas (Bourtoom, 2008); es por esto que comúnmente son usados en emulsión. Debido a la fluidez, que presentan los aceites, estos no suelen presentar buenas propiedades de barrera a la humedad, aunque esto puede ser modificado mediante la hidrogenación de estos, o ser aprovechado para el uso en productos congelados para refrigeración, mediante la winterización,

2.3.1.3. Polisacáridos

En frutas, es la materia base de los recubrimientos o empaques más comúnmente utilizada, ya que presentan, en comparación con empaques de plástico, una mayor permeabilidad al vapor de agua y es más efectivo como barrera a gases. Los principales polisacáridos utilizados en las formulaciones son el almidón y sus derivados, celulosa y sus derivados, alginato, carragenina, quitosano, pectinas y otros hidrocoloides tanto vegetales como microbianos. Dado que los carbohidratos son de naturaleza hidrofílica y solubles en agua, no pueden ser usados en alimentos líquidos o en ambientes muy húmedos (Vargas y col., 2008).

Quitosano

Es un derivado de la quitina que proviene de invertebrados marinos compuesto por unidades de 2-acetoamido-2-desoxi- β -D-glucopiranosil y 2-amino-2-desoxi- β -D-glucopiranosil, y es una sustancia GRAS reconocida en 2001. Es

insoluble en agua, así que para generar una DF debe usarse un ácido orgánico, por lo general ácido acético. Se demostró que el quitosano es un conservador natural, aunque su mecanismo antimicrobiano no ha sido elucidado aún, pero tiene efecto antagónico sobre diferentes microorganismos deterioradores y patógenos (Olivas y Barbosa-Cánovas, 2009).

Celulosa y Derivados

Es el polímero natural más abundante en la naturaleza, compuesto de unidades lineales de β -D-glucopiranosil, es de bajo costo pero tiene el inconveniente de ser insoluble en agua. La forma más común de encontrarlo es como sus derivados carboximetil celulosa (CMC), metil celulosa (MC), hidroxipropil celulosa (HPC) o hidroxipropilmetil celulosa (HPMC), cada una de estos derivados imparten características especiales a los empaques comestibles en sus propiedades de barrera, dependiendo del peso molecular de cada uno (Olivas y Barbosa-Cánovas, 2009).

Alginato

El alginato es un co-polímero compuesto de ácido β -D-manurónico y ácido α -L-gulurónico, extraído de diferentes algas marinas cafés. Los empaques formulados con este polímero son fuertes, translúcidos y brillosos, aunque comparándolas con otras formulaciones es la que tiene menores propiedades de barrera al oxígeno y al vapor de agua, pero son las que producen mejores propiedades físicas como elongación y fuerza de tensión (Olivas y Barbosa-Cánovas, 2009).

Pectina

Es un polímero ampliamente distribuido en la naturaleza, y está compuesto de ácido α -D-galacturónico, esterificado con metanol. Su gran solubilidad y

capacidad de gelificación la hacen apropiada para dispersiones filmogénicas (Campos y col., 2011).

Almidón

El almidón es la reserva de energía con mayor distribución en el reino animal, compuesto de amilosa (glucosa con enlaces α (1-4)) que representa 20-30% del almidón y amilopectina (mezcla de glucosa α (1-4) y ramificaciones α (1-6)) que representa el resto del almidón (70-80%) (Figura 2). Aunque existen diferentes tipos de almidones, cuya composición depende de su origen, por ejemplo el almidón proveniente de maíz ceroso está compuesto casi en su totalidad por amilopectina o en el otro extremo el almidón de maíz alto en amilosa contiene más del 70% de ésta.

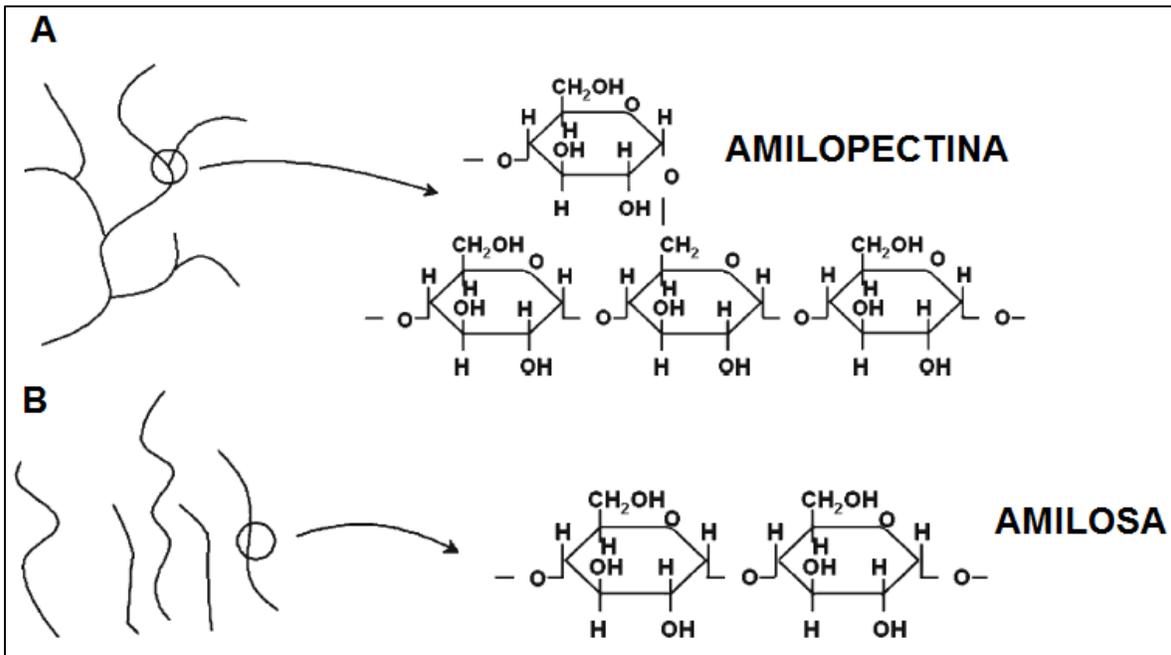


Fig. 2. Representación gráfica, estructural y molecular de A) Amilopectina y B) Amilosa (adaptación de Kramer, 2009).

La amilosa y la amilopectina se encuentran sistemáticamente empaquetadas en zonas cristalinas del gránulo, es por esto que el almidón nativo es mínimamente soluble en agua, tanto que se suele referir como insoluble. Al

calentar una dispersión acuosa de almidón, el gránulo comienza a hincharse e hidratarse, a este proceso se le conoce como “gelatinización”, sufriendo la amilosa y la amilopectina un reacomodo tridimensional en forma de red en la cual atrapan moléculas de agua formando un gel, a esto se le llama “gelificación”, cuya principal característica es el aumento de la viscosidad. El rango de temperatura en el que se da la gelatinización depende de la naturaleza del gránulo (Kramer, 2009).

Modificaciones del almidón

Los almidones en la industria de los alimentos son ampliamente usados, no solo por su aporte nutricional, sino además por las características de textura que puede aportar su incorporación en los alimentos. Aunque su uso también puede traer inconvenientes como la baja resistencia al cizallamiento, baja resistencia térmica, descomposición térmica y elevada tendencia a la retrogradación. La modificación de almidón nativo implica alteración de sus características físicas (morfología del gránulo y térmicas, entre otras) y químicas (formación de nuevos enlaces covalentes y sustitución de grupos funcionales) para mejorar sus características funcionales y/o contrarrestar los anteriores defectos (Singh y col., 2007).

Entrecruzamiento

Es una modificación química que consiste mantener más juntas las cadenas de amilosa y amilopectina y fortalecimiento intra- e inter- molecular de manera aleatoria dentro del granulo. Este tratamiento le confiere al almidón modificado la capacidad de no hidratarse tan fácilmente y una vez ya hinchado, no permite que el agua salga del gránulo, es decir, retrasa la retrogradación. Otra característica que confiere esta modificación es el aumento de la temperatura de gelatinización. Esta modificación ocurre con el uso de oxiclórico fosforoso o trimetafosfato de sodio, anhídrido acético, entre otros (Singh, 2007; Kramer, 2009).

Oxidación

La principal razón por la que se realiza esta modificación es por las características de adhesión del recubrimiento resultante usando este material como base de la DF. La oxidación se produce al reaccionar el almidón con clorito de sodio, o hipoclorito de calcio y/o de sodio, una característica particular es que los recubrimientos son muy permeables a la humedad, esto puede ser deseable en productos de frituras o panadería (Kramer, 2009).

Hidrólisis ácida

En esta modificación se reacciona el almidón con un ácido mineral para despolimerizarlo, la característica que aporta es una baja viscosidad dado que desramifica la amilopectina volviendo al almidón esencialmente lineal (Kramer, 2009).

Sustitución

La introducción de grupos funcionales a las moléculas de almidón ayuda a abrir sus estructuras y aumenta la afinidad por el agua, resultando en una reducción de la temperatura de gelatinización, aumento de la tasa de hidratación, así como la formación de geles suaves y claros; aunque es propenso a opacarse y a la retrogradación. Se lleva a cabo con reactivos como anhídrido succínico o acético, u óxido de propileno (Kramer, 2009). Todas las reacciones de sustitución son dependientes de factores como origen y conformación del almidón, así como condiciones de reacción como pH, temperatura o presencia de catalizador; otros factores son el tipo, distribución y concentración del sustituyente (Singh, 2007).

Acetilación

Esta es una reacción de esterificación del gránulo nativo de almidón con anhídrido acético en presencia de un catalizador alcalino. Para una reacción adecuada se deben considerar factores como la proporción entre amilosa y amilopectina, el empaquetamiento intergranular o la presencia de lípidos, ya que los almidones con bajo contenido de amilosa exhiben un mayor grado de sustitución, teniendo el anhídrido acético poco poder de penetración del gránulo. Algunas de las características que confiere esta modificación son una diversa distribución de tamaños de gránulo, resistencia a la retrogradación, rigidez, capacidad de hinchamiento y solubilidad incrementada (Singh, 2007).

Combinación de modificaciones

De acuerdo con Singh (2007), las dobles modificaciones tienen mejores características de procesamiento y almacenamiento del almidón, por ejemplo tienen mejor resistencia a la hidrólisis ácida, casi no presentan retrogradación, mayor viscosidad. Se deben considerar el orden de las reacciones, ya que una sustitución después del entrecruzamiento no se ve tan favorecida porque es más difícil la introducción de los sustituyentes por lo compacto del almidón.

2.3.1.4. Aditivos y otros componentes

Los recubrimientos o películas comestibles pueden ser soportes para diferentes compuestos que pueden aportar diversas propiedades al alimento implicado, tales como antioxidantes, saborizantes, aromáticas, antimicrobianos, nutrimentales, texturizantes y probióticos. El recubrimiento puede conferir características como mayor brillo u opacidad. Otros aditivos como los surfactantes pueden mejorar la flexibilidad y mojabilidad del recubrimiento.

Plastificantes

Los plastificantes se definen como sustancias no volátiles de alto punto de ebullición, no separable en fases (McHugh y Krochta, 1994). Tienen la capacidad de cambiar la temperatura de transición vítrea del polímero. Los plastificantes cambian un polímero a elastómero (hule). Lo que hacen es incrementar el volumen libre de las cadenas poliméricas permitiéndoles mayor movilidad (flexibilidad). Se añaden para mejorar las propiedades mecánicas de empaques confiriendo mayor resistencia y flexibilidad. Comúnmente se suelen usar compuestos comestibles con bajo peso molecular y de naturaleza hidrofílica, por ejemplo, mono-, di- u oligo-sacáridos, polioles como sorbitol, glicerol y derivados o polietilenglicol, fosfolípidos y ácidos grasos. Los plastificantes se unen mediante puentes de hidrógeno a las cadenas poliméricas de los biopolímeros usados como empaques comestibles, reduciendo su rigidez y alterando su estructura (Janjarasskul y Krochta, 2010).

Emulsificantes

Dada la amplia variedad de características que se buscan en los empaques comestibles, el uso de un solo componente como base de los empaques no es conveniente, por lo que se debe de tomar en cuenta el adicionar agentes hidrofóbicos que deben ser incorporados de forma homogénea en la matriz dispersante, esto es posible con el uso de emulsificantes o surfactantes. Los emulsificantes ayudan a estabilizar partículas en suspensión en la matriz del polímero usado como base tanto en la dispersión como en la película, mejora la adhesión entre el alimento y el recubrimiento comestible y mejora la extensibilidad de los sólidos presentes en la dispersión filmogénica. En el área de alimentos algunos de los emulsificantes con mayor uso son la lecitina, mono glicéridos acetilados, mono palmitato de glicerol, diversas proteínas, ácidos grasos o polisorbato como el Tween (Quesada-Gallo, 2009).

Antimicrobianos

Pueden incorporarse sustancias antimicrobianas en los recubrimientos y películas comestibles dándoles la denominación “activos”, los cuales previenen o inhiben el desarrollo de microorganismos patógenos o deterioradores si los compuestos activos mantienen una concentración adecuada y constante en la superficie, prolongando la vida de anaquel de los alimentos (Zhou, 2010). Los más usados en los empaques son ácidos orgánicos (acético, benzoico, láctico), polipéptidos (lisozima, peroxidasa, nisina), aceites esenciales (de orégano, canela, citronella), quitosano, nitritos, sulfitos (Martín-Belloso y col., 2009).

En las últimas décadas se ha reconocido el rechazo del uso de antimicrobianos sintéticos para prolongar la calidad de los alimentos, es por esto que se desea el uso generalizado de compuestos naturales. Los antimicrobianos naturales son sustancias extraídas, o sintetizadas a partir de fuentes biológicas, como pueden ser plantas, microorganismos, animales, etc., han tenido una amplia aceptación en la aplicación a alimentos debido a su fácil y rápido metabolismo, baja o nula toxicidad y amplio espectro de inhibición.

El arginato laurico o LAE, es el nombre que le dio la FDA para el etiquetado del monoclóhidrato ester etílico de $N\alpha$ -Lauroil-L-arginina, comercialmente conocido como Minerat-D® (Laboratorios Miret, S. A.), el cual es un poderoso antimicrobiano de origen natural, ya que es un derivado del ácido laurico, L-arginina y etanol. Es un sólido blanco higroscópico soluble en agua hasta 247 g/kg con punto de fusión de 50 °C a 58 °C y estabilidad en los rangos de pH desde 3 a 7, esto amplía su rango de actividad atacando hongos, levaduras, bacterias Gram positivas y negativas. Cuando es ingerido se hidroliza en componentes naturales y su consumo prolongado no genera riesgos a la salud, es por esto que el 1 de Septiembre de 2005 la FDA le otorgó el estatus GRAS para su uso como antimicrobiano en alimento hasta 200 ppm. Su propiedad como antimicrobiano se debe a su acción sobre las membranas citoplasmática de los microorganismos, de tal manera que

sus procesos metabólicos se alteran y su ciclo normal es inhibido pero sin lisis celular.

2.3.2. Recubrimientos compuestos

Ya que la finalidad de los empaques comestibles es muy amplia, el usar un solo polímero base no proporcionará todas las características esenciales de barrera a humedad, gases o propiedades mecánicas. Combinar los diferentes biopolímeros es una buena opción, así por ejemplo, una mezcla nos proporcionará una escasa pérdida de humedad gracias a lípidos, un buen intercambio de gases gracias a los carbohidratos y flexibilidad y resistencia mecánica gracias a los plastificantes.

Dadas las características hidrofílicas o hidrofóbicas de los biopolímeros, se deben crear matrices complejas basadas en los principios comunes en la formación de recubrimientos comestibles. Según Sorrentino y col. (2007) el almidón puede usarse como recubrimiento aunque no forme películas con propiedades mecánicas apropiadas, ya que esto puede mejorarse con ayuda de plastificantes, modificaciones químicas, o la incorporación de agentes hidrofóbicos en la matriz de la DF., debiendo de formularse con ayuda de técnicas como la emulsificación.

2.4 Emulsiones

Las emulsiones son termodinámicamente inestables y tienden, después de un tiempo, a la separación de fases. Una alternativa a este hecho es la formación de una nanoemulsión que aunque termodinámicamente son inestables dada la alta energía libre de Gibbs superficial y tienden a la separación de fases, esto se lleva en mucho más tiempo, debido al tamaño de la nanopartícula por lo cual se tiene un sistema más estable, esto al adicionar emulsificante suficiente (McClements, 2009).

2.4.1. Nanoemulsiones

Las microemulsión típicamente contienen partículas con diámetro entre 0.1 y 100 μm , mientras que en las nanoemulsiones el diámetro promedio está por debajo de 100 nm y se pueden clasificar según la matriz en la que está inmersa la fase dispersa. Si se tienen micelas de una sustancia hidrófoba suspendidas en agua, se denominan como de aceite en agua (O/W por siglas en inglés), e inversamente, si las micelas de agua se encuentran en matriz hidrofóbica, se denominan W/O (McClements, 2011; Yu Koroleva y Yurtov, 2012).

La formación de nanoemulsiones se parte de una formulación en donde se ha logrado una micro emulsión, posteriormente se reduce el tamaño de las micelas hasta el tamaño deseado utilizando el método adecuado (Cuadro 1).

Cuadro 1. Sistemas o métodos para formación de emulsiones (Tardos, 2004).

Método	Energía necesaria
Agitación baja (manual)	Baja
Mezcladores estáticos y agitadores	Baja-Mediana
Mezcladores de alta velocidad (ultraturrax)	Mediana
Ultrasonidos	Mediana-Alta
Homogenizador de alta presión	Alta

Un método por el cual podemos obtener nanoemulsiones es mediante equipos de homogenización donde se usan altas presiones, en las cuales, una premezcla es forzada a atravesar micro canales creados para crear un flujo extremadamente forzado. El tamaño de las micelas depende de la presión aplicada, del número de recirculaciones y de la viscosidad del fluido a tratar. Las presiones con las que se procesan las emulsiones por este método pueden alcanzar, mediante

el uso de pistones operados de forma pulsada, presiones de hasta 10^4 MPa (Trados, 2004).

Otro método para generar nanoemulsiones es con el uso de ultrasonido, donde una previa emulsión, se somete a vibraciones con frecuencias (≥ 20 kHz) y potencias de >500 W, lo que causa cavitación y fuerzas de cizallamiento extremos que rompe las micelas hasta formar nano partículas (Trados, 2004). La cavitación es la formación y subsecuente colapso de micro burbujas por la presión fluctuante de una onda sónica, en donde cada implosión de las burbujas causa niveles extremos de turbulencia, lo cual ayuda a la reducción del tamaño de las micelas (Kentish, 2008). Algo preocupante de este método es que las altas intensidades localizadas en el seno de la emulsión, pueden provocar varias reacciones indeseables como: desnaturalización de proteínas, despolimerización de polisacáridos y la oxidación de lípidos (McClements, 2011)

2.4.2. Estabilidad de las nanoemulsiones

Como en el caso de las emulsiones convencionales las nanoemulsiones son sistemas meta-estables las cuales tienden a romperse a través del tiempo por diferentes mecanismos como: separación gravitacional, floculación, coalescencia, “madurez de Ostwald” y degradación química, los cuales están relacionados con la carga electrostática y el tamaño de las partículas en suspensión (Figura 3). El conocimiento de las características interfaciales y de partícula de las nanoemulsiones es fundamental para poder controlar y predecir su estabilidad y posibles aplicaciones (McClements, 2011).

2.4.3. Tamaño de partícula.

Es una de las más importantes características de las nanoemulsiones ya que influye en las características ópticas, reológicas y potencial de estabilidad. El tamaño de partícula en una suspensión se obtiene como un rango de tamaños

distribuidos en la muestra, que es una medida de la distribución del tamaño predominante.

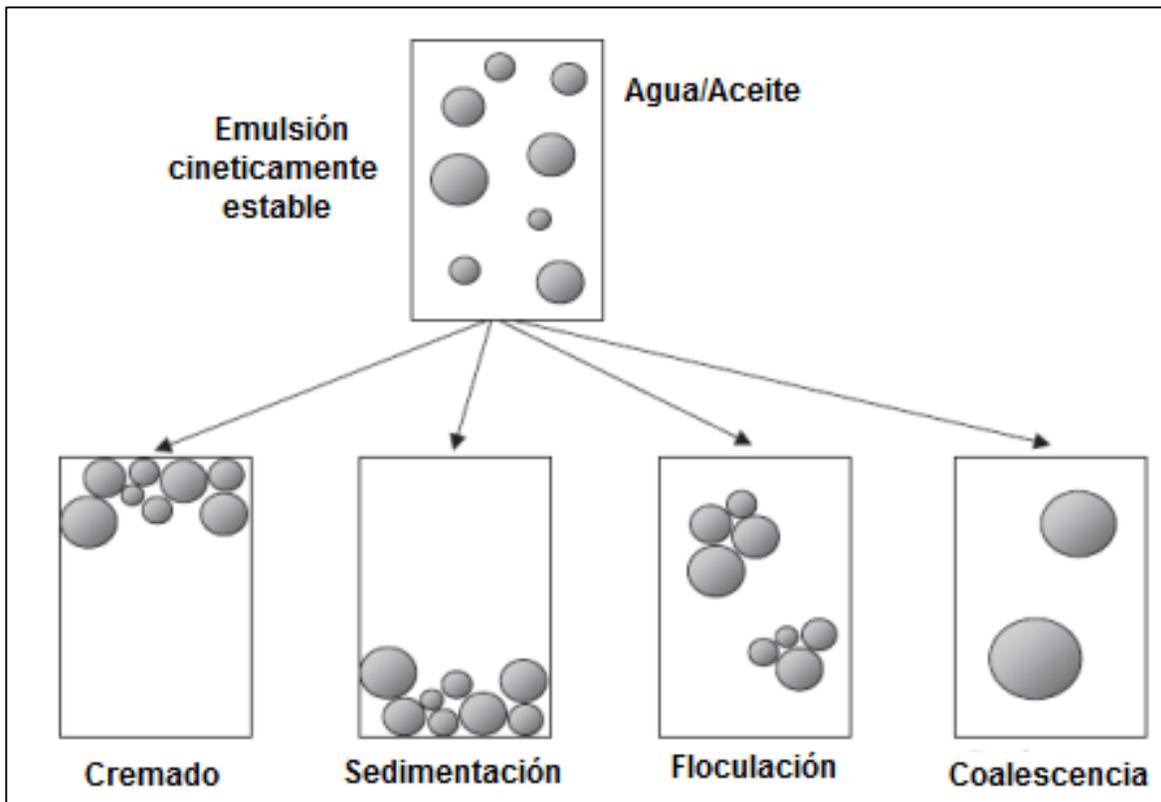


Fig. 3. Efectos de ruptura de emulsiones (McClements, 2009).

2.4.4. Movilidad electroforética

Las micelas suspendidas en las emulsiones suelen estar cargadas electrostáticamente debido a posible adsorción de minerales, emulsificantes o biopolímeros en su superficie (Weiss y col., 2006). Las propiedades eléctricas de las micelas son comúnmente caracterizadas en términos de la movilidad electroforética y esta su vez por el potencial zeta (ζ).

Todas las partículas en suspensión tienen una carga neta en su superficie, la cual va a estar rodeada fuertemente por iones de cargas contrarias, esta capa es llamada capa "Stern" o capa fija, la que a su vez está rodeada de otra capa de iones de carga similar que están unidos de una forma menos fuerte, a esta capa se le

llama “difusa”, por lo que se dice que las partículas cuentan con una doble capa eléctrica. El potencial zeta es la diferencia de cargas que existe entre la doble capa de Debye y el seno del líquido en que esta en suspensión. La Figura 4 es una representación de las cargas eléctricas de una partícula en suspensión, donde se muestra la doble capa y el potencial zeta. Es importante no confundir con el término de carga electrostática, ya que éste se usa en sólidos y polvos.

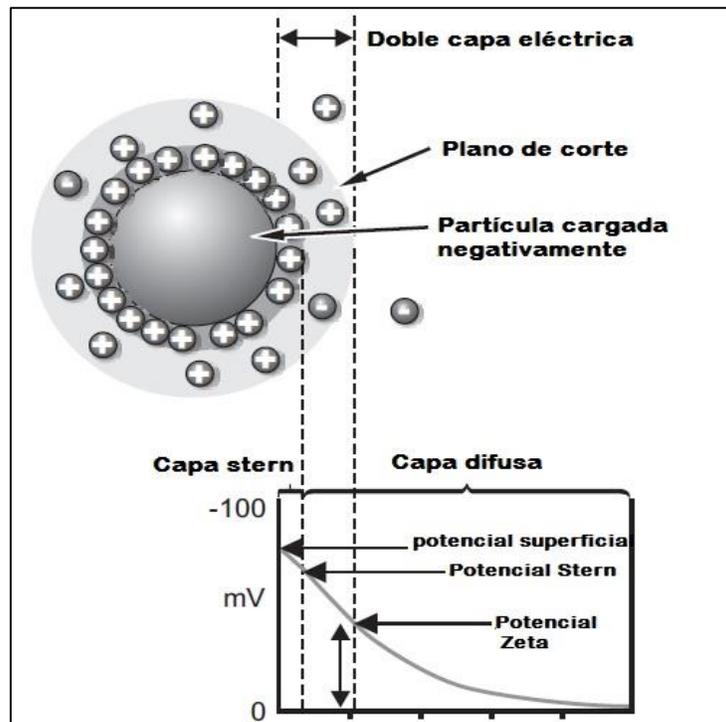


Fig. 4. Representación de doble capa eléctrica y potencial zeta.

La teoría DLVO (Derjaguin, Landau, Verwey y Overbeek) propone que existen dos tipos de fuerzas que trabajan sobre la estabilidad de un sistema coloidal; débiles y de corto alcance como lo son las fuerzas de atracción de Van der Waals y fuerzas de repulsión electrostáticas que son fuertes y de mediano alcance (Salopek y col., 1992). La combinación y equilibrio de estas fuerzas da principio a la estabilidad de los coloides. El potencial Zeta es un indicador del alcance de la repulsión electrostática, por lo tanto un indicador de la estabilidad de dispersiones. Así que entre mayor sea la magnitud del potencial zeta mayor será la estabilidad del coloide, como se muestra en el cuadro 2.

La medición del potencial zeta se basa en la movilidad electroforética, la cual se define como el movimiento de partículas cargadas en suspensión mediante la influencia de un campo eléctrico externo. Estas partículas se mueven al polo opuesto a su carga, la velocidad con la que se mueven es proporcional a la magnitud de su carga, por lo tanto para poder calcular el potencial zeta es necesario medir la dirección y velocidad de estas partículas bajo un campo eléctrico externo. La técnica empleada es dispersión de luz electroforética y se basa en la medida de la velocidad de las partículas mediante velocimetría láser por efecto Doppler, en donde se hace pasar una fuente de luz a través de la muestra mientras se le aplica un ligero campo eléctrico, en el que se moverán las partículas y son analizadas por la técnica de dispersión dinámica de luz, tomando en cuenta la velocidad y dirección en que se mueven, con lo que se medirá la magnitud (de la velocidad) y dirección (signo de la carga).

Cuadro 2. Estabilidad dependiendo del potencial zeta (Salopek y col., 1992).

Estabilidad	Potencial Zeta (mV)
Máxima desestabilidad	0 - ± 3
Muy baja estabilidad	± 5 - ± 15
Baja estabilidad	± 16 - ± 30
Buena estabilidad	± 31 - ± 60
Muy buena estabilidad	± 61 - ± 80
Excelente estabilidad	± 81 - ± 100

2.5. Caracterización de dispersiones filmogénicas y estimación de su comportamiento.

2.5.1. Caracterización molecular

Existen muchos instrumentos analíticos empleados en la caracterización de compuestos, bases, extractos, etc. La mayoría implica tener conocimientos previos y/o habilidades para su uso o procesamiento de las muestras, además de ser relativamente lentos. Análisis como espectroscopía de infrarrojo, tiene grandes ventajas como la poca o nula preparación de muestra, fáciles de usar, requieren poco mantenimiento y/o consumibles y los análisis no toman mucho tiempo.

El análisis por espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), es una técnica donde radiación infrarroja, pasa a través de una muestra y es absorbida por los enlaces moleculares de compuestos orgánicos e inorgánicos, con diferentes intensidades y en variadas frecuencias que se interpretan como picos o señales que son directamente relacionadas con la presencia de enlaces moleculares específicos. El espectro resultante es la representación de la energía absorbida, creando una huella digital de la muestra analizada, ya que ninguna otra muestra tendrá el mismo comportamiento de absorción y transmisión del espectro infrarrojo.

Mediante la técnica de “reflectancia total atenuada” (FTIR/ATR por sus siglas en ingles), puede proveer gran información sobre la estructura química y molecular de películas o recubrimientos delgados, ya que esta técnica se basa en que la radiación infrarroja entra a un cristal trasmisor de alto índice de refracción interna, esta señal llega a la muestra que está en contacto directo con el cristal y la energía absorbida es registrada (Yang y col., 2001; Bourbon y col., 2011; Piermaria y col., 2011).

Como se ha mencionado anteriormente, los componentes y su incorporación, repercuten en las características organolépticas y funcionales de los recubrimientos comestibles. Los componentes están expuestos a diferentes tipos de interacciones o modificaciones entre ellos mismos y a través del tiempo, que pueden afectar su vida útil o perder funcionalidad. Un componente de gran importancia es el antimicrobiano, ya que alguna modificación molecular, podrá disminuir o desaparecer su poder de inhibición (Zapf, 2009).

2.5.2. Mojabilidad

Un factor importante para formular un recubrimiento es conocer la capacidad que tienen para adherirse a la superficie de un alimento y se mantenga de esta manera desde el secado para formar una película uniforme hasta su comercialización, además de permitir un grosor adecuado.

La capacidad de mojado de un sólido por un líquido, está influenciado por el balance de fuerzas adhesivas (W_a) del líquido en el sólido y las fuerzas cohesivas (W_c) del propio líquido, esta propiedad de mojado se representa como coeficiente de mojabilidad (Ramírez, 2012). El coeficiente de mojabilidad se obtiene mediante la ecuación (1), ésta fuerza siempre será ≤ 0 , en donde mientras más cercano al cero, mejor será el mojado de la superficie.

$$W_s = W_a - W_c \quad (1)$$

Dónde:

$$W_a = \gamma_{LV} + \gamma_{SV} - \gamma_{SL} \quad W_c = 2\gamma_{LV}$$

Por lo que:

$$W_s = \gamma_{SV} - \gamma_{LV} - \gamma_{SL} \quad (2)$$

El ángulo de contacto de una dispersión en una superficie representa el equilibrio mecánico bajo la acción de tres fuerzas interfaciales: solido-vapor (γ_{sv}),

solido-líquido (γ_{SL}) y líquido-vapor (γ_{LV}) representado en la Figura 5. Este equilibrio se representa en la ecuación de Young (Ec. 3) (Choi, 2002).

$$\cos \theta = (\gamma_{SV} - \gamma_{SL})/\gamma_{LV} \quad (3)$$

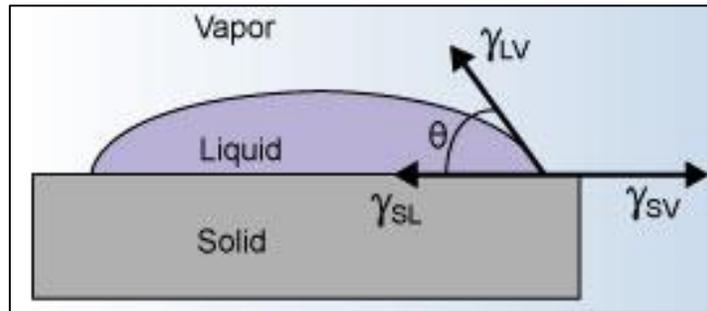


Fig. 5. Diagrama de fuerzas interfaciales y su influencia en el ángulo de contacto.

La mojabilidad de un líquido en una superficie depende de que la superficie que se desea mojar tenga una energía de superficie mucho mayor que el líquido. Para conocer la energía de la superficie de un sólido, Zisman (1964), propone la determinación de la tensión superficial crítica, único para cada sólido. Esta se estima midiendo el ángulo de contacto de una serie de líquidos de referencia con tensión superficial conocida sobre la superficie de interés, se traza una gráfica de la tensión superficial del líquido contra el coseno del ángulo de contacto y el intercepto donde el coseno es igual a 1, será la tensión superficial crítica. La tensión superficial crítica también es llamada energía de la superficie, donde valores por debajo de los 100 N/cm son llamadas superficies libres de energía. Para superficies libres de energía de acuerdo con Skurtys (2011), la tensión superficial crítica es igual a la tensión interfacial sólido-vapor.

3. JUSTIFICACIÓN

El interés en el desarrollo y uso de empaques y recubrimientos comestibles a base de biopolímeros naturales para prolongar la vida de anaquel y mejorar la calidad de los productos hortofrutícolas frescos mínimamente procesados, ha venido creciendo debido a la necesidad de reducir y sustituir el empleo de plásticos y envases sintéticos de baja biodegradabilidad, por materiales menos agresivos con el medio ambiente, aunado a la demanda de alimentos frescos, seguros y con mayor vida de anaquel. Por tal razón las películas y recubrimientos comestibles pueden resultar en una forma innovadora y efectiva de proteger los alimentos, esto mediante la principal característica de no modificar propiedades sensoriales del alimento recubierto; una estrategia es que el recubrimiento no sea visible, la adición del agente hidrofóbico en forma de nanoemulsión lo permite.

Existe la necesidad de contribuir con más información y conocimientos sobre el comportamiento y las características de las formulaciones de recubrimientos comestibles hechos a partir de almidón modificado con la incorporación de agentes hidrofóbicos en forma de nanoemulsión y antimicrobianos que proporcionen estabilidad a través del tiempo y frente a microorganismos deterioradores y patógenos para asegurar la inocuidad del alimento recubierto.

4. HIPÓTESIS

La incorporación de un agente hidrofóbico en forma de nanoemulsión a dispersiones filmogénicas a base de almidón de maíz proporciona aceptables propiedades de barrera, fisicoquímicas y estructurales, sin interacciones entre sus componentes; en esta forma es posible obtener recubrimientos comestibles, flexibles, translucidos, poco permeables y con gran potencial de esparcimiento sobre cualquier superficie alimenticia.

5. OBJETIVOS

5.1. General

Diseñar, sintetizar y caracterizar dispersiones filmogénicas para formar recubrimientos comestibles activos a base de almidón ceroso nativo y con modificaciones, incorporando ácido oleico como agente hidrofóbico y arginato láurico como antimicrobiano.

5.2. Específicos

- ❖ Diseñar, producir y caracterizar una nanoemulsión (O/W) a base de ácido oleico con Tween 80.
- ❖ Elaborar dispersiones filmogénicas que den origen a recubrimientos a base de dos almidones modificados y un almidón alto en amilopectina.
- ❖ Evaluar propiedades de mojado de la dispersión filmogénica y su comportamiento en diferentes superficies de alimentos modelo.
- ❖ Evaluar la composición e interacción “almidón-nanoemulsión-antimicrobiano” y su efecto en la estructura del material de recubrimiento.
- ❖ Determinar el efecto de la incorporación de la nanoemulsión y el agente antimicrobiano en las propiedades de barrera y fisicoquímicas del recubrimiento.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Materiales

Almidón acetilado-entrecruzado (ACLS) (Ingredion, San Juan del Río, Qro), almidón ceroso (Waxy) (Ingredion), almidón oxidado (OS) (Ingredion), Sorbitol (70 % p/p) no cristizable (Ingredion), Tween 80 (J.T. Baker, Toluca, México), ácido oleico (Baker), Arginato laurico “Mirenat-D” (Vedeqsa, Barcelona, España).

6.2. Métodos

6.2.1. Elaboración de una dispersión filmogénica y película a base de almidón ceroso, incorporando un agente hidrofóbico y un antimicrobiano natural.

La dispersión filmogénica de almidón ceroso (nativo, oxidado y acetilado-entrecruzado) se preparó mediante una dispersión acuosa [4 %(p/v), 6.5 %(p/v) y (4 %(p/v), respectivamente] con sorbitol no cristizable como plastificante (0.8 g/gramo de almidón), bajo agitación magnética a temperatura ambiente por 10 min para lograr la hidratación del almidón. Posteriormente se calentó a 90 °C por 20 min., para completar la gelatinización del almidón. Lo anterior es una modificación en la metodología reportada por Arredondo (2012) y Pérez-Gallardo (2012).

La nanoemulsión (1 %, v/v) (la formulación se explica en el punto 6.2.2.1) y el agente antimicrobiano (arginato láurico, Mirenat-D, 2500 ppm) se incorporaron a la dispersión filmogénica empleando un mezclador de alta velocidad Ultra-Turrax T25 (IKA, Wilmington, EUA) a una velocidad de 13,500 rpm durante 3 min., tomando como referencia recubrimientos con propiedades óptimas, reportados por Arredondo (2012).

La dispersión filmogénica final se desgasificó al vacío, hasta no observarse burbujas en su interior con ayuda de agitación magnética en velocidad media por aprox. 10-15 min.

Las dispersiones filmogénicas elaboradas que proporcionaron las mejores propiedades una vez analizadas se extendieron sobre superficies previamente niveladas y delimitadas, para lo cual se usaron placas de vidrio o de acrílico recubiertas con un polímero plástico auto adherible (Naviteq, modelo diamante, México). Se obtuvieron películas delgadas, añadiendo 120 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ de la dispersión filmogénica y se dejaron secar por 24 horas a 25 °C a una humedad relativa de 40%, o bien por 8 h a 40 % HR y 40°C usando una cámara climática (Mod. KBF 240, Binder, Tuttlingen, Alemania).

6.2.2. Formulación de nanoemulsión (O/W) de ácido oleico

6.2.2.1. Diseño experimental.

La nanoemulsión se formó a partir de una emulsión a partir de un diseño factorial 2^3 completo con un punto al centro y 3 formulaciones extra (considerando condiciones previas con buenas características visuales), como se muestra en el cuadro 3. Para realizar una nanoemulsión estable y con buenas características es necesario partir de una micro emulsión o emulsión primaria, mezclando agua caliente (~60 °C) donde se disuelve el surfactante y se adicionó poco a poco el ácido oleico una vez iniciado el mezclado con un equipo Ultra-Turrax T25 (IKA) a una velocidad de 13,500 rpm durante 3 min. Una vez obtenida la micro emulsión, 50 mL de esta se sometieron a ultrasonido (Sonics & Materials, Vibra-Cell VCX500, Connecticut, EUA) durante 5 min continuos en un baño de hielo para controlar la elevación de temperatura de la muestra (McClement y Rao, 2011; Salvia-Trujillo y col., 2012).

6.2.2.2. Análisis de tamaño de partícula

Se utilizó un equipo de dispersión dinámica de luz (Brookhaven Instruments modelo BI200SM, USA) equipado con un correlador digital de alta velocidad PCI-BI9000AT, un detector de fotones de estado sólido y un láser Melles Griot 9167EB-1 de He-Ne de 35 mW y con longitud de onda (λ) = 632.8 nm como fuente de luz. La determinación del tamaño de partícula se basa en el corrimiento en frecuencia de la luz láser dispersada (efecto Doppler) por las partículas suspendidas. Las muestras fueron diluidas con agua destilada ultra filtrada en una relación de 1:1000.

Los datos fueron analizados usando dos diferentes programas: NNLS (non negative least square) y regularización de CONTIN; ambos programas de análisis esencialmente evalúan el inverso de la transformada de Laplace, determinando la distribución de tamaño de partícula y, consecuentemente, su valor promedio. El tiempo de integración que se aplicó fue de 10 s para cada medición y solamente se tomaron mediciones con distribuciones unimodales. Las muestras se analizaron por duplicado y los resultados se presentan como promedios \pm desviación estándar (DE). Se realizaron las medidas en el Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (CFATA) de la UNAM.

6.2.2.3. Análisis de transparencia

Se determinó usando un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo instruments Genesys 10 UV, Wisconsin, EUA), se diluyó la muestra al 1% en agua microfiltrada con filtro de 0.22 μ m de tamaño de poro (Millipore MA. EUA) y se procedió a tomar la lectura de un barrido de transmitancia de 400 a 700 nm para cada muestra. La transparencia se definió como el área bajo la curva y se expresó como unidades de transmitancia x nanómetro (UT x nm). Los análisis se hicieron por duplicado y se reportaron como el promedio \pm DE.

Cuadro 3. Diseño factorial 2³ completo con un punto al centro y 3 formulaciones extras (tratamientos 10, 11 y 12).

Tratamiento	Ácido oleico (% v/v)	Tween 80 (% v/v)	Tiempo de Sonicación (s)
1	5	1	180
2	20	1	300
3	20	5	300
4	20	1	180
5	5	1	300
6	20	5	180
7	12.5	3	240
8	5	5	180
9	5	5	300
10	4	4	240
11	6.66	5	300
12	10	5	300

6.2.2.4. Medición del potencial zeta

Se utilizó el equipo ZetaPlus (Brookhaven Instruments Co., NY, EUA), el cual cuenta con un láser de estado sólido de 35 mW con $\lambda = 657$ nm, la muestra fue previamente diluida con agua desionizada (dispersiones filmogénicas 1:100 y nanoemulsiones 1:150) se colocó en una celda desechable a la cual se le incorpora la cámara electroforética, se conectó al equipo y se corrió el análisis. Los análisis se hicieron por duplicado y se reportó como el promedio \pm DE.

6.2.3. Propiedades fisicoquímicas de películas

6.2.3.1. Espesor

En las películas formadas, se realizaron doce mediciones en puntos aleatoriamente seleccionados con un micrómetro digital (Mitutoyo, Edo. de México)

sobre el área de prueba de la película. Los análisis se hicieron por triplicado y están presentados como los promedios en $\mu\text{m} \pm \text{DE}$.

6.2.3.2. Opacidad

La opacidad se determinó usando un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo) para lo cual se cortó un rectángulo de una película del tamaño de uno de los lados internos de una celda espectrofotométrica. Se hizo un barrido de absorbancia de 400 a 700 nm para cada muestra. La opacidad se definió como el área bajo la curva por nanómetro y se expresó como unidades de absorbancia x nanómetro (UA x nm). Lo anterior en base a lo expuesto por Arredondo (2012) y López y col. (2008). Los análisis se hicieron por triplicado y están presentados como los promedios $\pm \text{DE}$.

6.2.3.3. Permeabilidad al vapor de agua (PVA).

La permeabilidad al vapor de agua (PVA) de las películas se determinó de acuerdo a una modificación del método gravimétrico ASTM: E96-00 (2000) el cual se basa en la aplicación de la ley de Fick (Ecuaciones 4 y 5).

Las películas obtenidas, a las que previamente se les determinó su espesor y área de transferencia, se colocaron en celdas de permeabilidad, las cuales consisten en un recipiente de vidrio con agua destilada en su interior con un espacio de cabeza de 1 cm simulando un 100 % de humedad relativa (HR1), una tapa horadada con rosca y dos empaques de teflón que aseguraron el sello hermético (Figura 6). Las películas analizadas previamente se aclimataron a las condiciones de experimentación por 24 h.

Posteriormente se colocaron dentro de una cámara climática (Binder) donde se mantuvieron condiciones de humedad y temperatura ($\text{HR}_2 = 40\%$ y temperatura de $25\text{ }^\circ\text{C}$) a lo largo del experimento. El vapor de agua se difundió a través de la película y fue absorbido por el condensador de la cámara climática.

Se pesó la celda en intervalos de tiempo de 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 5, 6, 7, 8, 12 y 24 hrs. En cada determinación se registró peso de la celda, humedad relativa y temperatura.

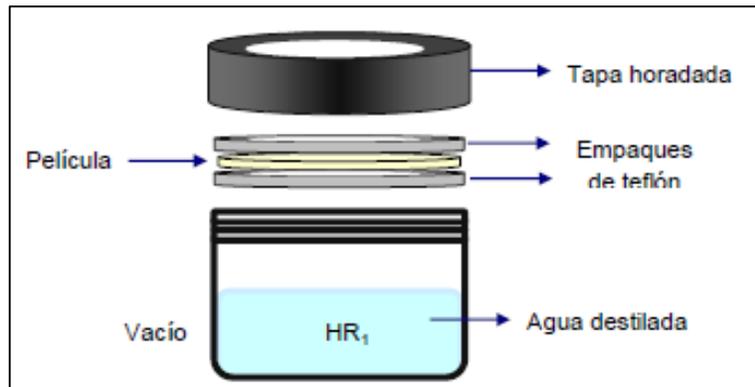


Fig. 6. Celda empleada para la determinación de la permeabilidad al vapor de agua (Magaña-Alemán, 2007).

La permeabilidad al vapor de agua se calculó mediante las siguientes ecuaciones:

$$PVA = \frac{G/t \cdot x}{A \cdot \Delta P} \quad (4)$$

$$\Delta P = \frac{P^*}{100} (HR_2 - HR_1) \quad (5)$$

Dónde:

PVA = Permeabilidad al vapor de agua (g·mm/m²·h·kPa)

$\frac{G/t}{A}$ = Permeanza [g/ (h·m²)]

x = Espesor promedio de la película (mm)

A = Área de la película (m²)

P* = Presión de vapor del agua a la temperatura del experimento (kPa)

HR₁ = Humedad al interior de la celda (%)

HR₂ = Humedad del interior de la cámara climática (%)

El término G/t de la ecuación (4), se obtuvo como la pendiente de la línea recta resultante de graficar la pérdida de peso respecto al tiempo. Los análisis se hicieron por triplicado y están presentados como los promedios \pm DE.

6.2.3.4. Materia soluble total

Se obtuvo la solubilidad de acuerdo a lo descrito por Pérez-Gallardo y col. (2012), que es una modificación de Romero-Bastida y col. (2005). Una vez obtenidas las películas se cortaron cuadros de 3 x 4 cm, los cuales se secaron a peso constante a 70 °C. Después se colocaron en frascos de vidrio con 80 mL de agua destilada por 1 h en agitación suave y a temperatura ambiente. Se filtró la solución y se recuperó la película no disuelta en un papel filtro (Whatman No. 5, Maidstone, Inglaterra), el cual se secó nuevamente a 70 °C hasta peso constante. Se calculó el porcentaje de materia soluble (% MS) mediante la ecuación (6). Los análisis se hicieron por triplicado y están presentados como los promedios \pm DE.

$$\%MS = \frac{Po-Pf}{Po} \quad (6)$$

Dónde:

%MS = Porcentaje de Materia Soluble

Po = Peso seco inicial de la película

Pf = Peso seco final de la película

6.2.3.5. Análisis de microestructura.

Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Se utilizó un microscopio electrónico de barrido (Philips, XL30, Eindhoven, Holland) para observar secciones transversales y superficiales de las películas formuladas con los diferentes almidones. Se utilizaron películas cortadas mediante crio fracturas con ayuda de nitrógeno líquido (López y col., 2008). Las películas fueron montadas con cinta de doble cara en soportes de bronce y recubiertas con

oro. Se obtuvieron las micrografías con voltaje de aceleración de 15 kV en alto vacío y respectivos aumentos mostrados en las fotografías.

Perfilometría por interferometría.

El análisis y control de superficies como la rugosidad son importantes en varias áreas como en el de películas delgadas. Típicamente se utiliza la microscopía de fuerza atómica o perfilometría por interferometría, aunque para la elección de alguna de estas metodologías hay que tomar en cuenta la naturaleza de la superficie a analizar, es decir, la textura y/o dureza de la superficie (Jahanmir y Wyant 1992).

La perfilometría por interferometría permite la elaboración de perfiles de superficies sin contacto, observadas por medio de un microscopio donde se logra una resolución nanométrica en la medición en el eje Z (picos y valles) (Pavlovic y col. 2012).

Se obtuvieron los parámetros de la raíz cuadrada del promedio de la sumatoria de las diferencias de alturas respecto del promedio elevadas al cuadrado (R_q) y la media de los valores absolutos de las diferencias de alturas con respecto al promedio (R_a) (Escamilla-García y col 2013). Se utilizó un equipo ContourGT InMotion 3D (Bruker, Arizona, EUA.), para la adquisición de imágenes en 3D de las superficies de las películas comestibles a base de los diferentes almidones, que se basa en la perfilometría por interferometría de luz blanca.

Utilizando el software de uso gratuito “Gwyddion” versión 2.32 (Necas y Klapetek, 2012), se obtuvieron los parámetros de rugosidad en un área de 1.2 mm x .95 mm, las rugosidades se obtuvieron por triplicado y se reportan las medias \pm D.E.

6.2.4. Análisis fisicoquímicos de dispersiones filmogénicas

6.2.4.1. Coeficiente de mojabilidad

El coeficiente de mojabilidad o esparcimiento se determina mediante las ecs. (1) y (2). Todos los análisis se hicieron por duplicado y se presentan como los promedios (mN/m) \pm DE.

Determinación de la tensión superficial líquido-vapor (γ_{LV})

La tensión superficial de las dispersiones filmogénicas fue medida con el uso de un tensiómetro superficial (CSC Scientific Company, VA, EUA) de acuerdo con lo expuesto por Harkins y Jordan (1930), para el uso del tensiómetro DuNouy con anillo de platino. Se realizaron mediciones consecutivas hasta alcanzar el equilibrio de cada muestra; las determinaciones se vuelven muy variables debido a que las muestras contienen surfactante. Se realizaron 5 o más lecturas de cada muestra. Se utilizó un factor de corrección de la tensión superficial siguiendo lo expuesto por Zuidema y Waters (1941), donde se considera: diámetro del anillo ($R=6\text{cm}$), diámetro del cable del anillo (r), tensión superficial sin corrección (P), densidad del líquido problema (D) y densidad del aire saturado en la superficie del líquido medido (d).

Determinación de tensión interfacial sólido-vapor (γ_{SV})

La tensión interfacial sólido vapor se conoce también como tensión superficial crítica, la cual se obtuvo de acuerdo a la metodología de la gráfica de Zisman (Zisman, 1964) con el uso de líquidos de referencia como agua desionizada, metanol (99.98%, Baker), glicerol (99.8%, Baker), formamida (99%, Baker) y/o propilén glicol (99%, Baker). Se graficó la tensión superficial teórica de los líquidos de referencia contra el coseno del ángulo que formaron en la superficie a un tiempo de 60 s (Choi y col., 2002, Casariego y col., 2010, Souza y col., 2010, Skurtys y col.,

2011, Velázquez y col., 2011 y Ramírez y col., 2012). La gráfica se extrapoló hasta coseno igual a uno, siendo ésta la tensión superficial crítica de cada superficie de los alimentos modelo que se utilizaron, los cuales se eligieron por sus características superficiales peculiares, como lo son jitomate, carne de cerdo y nuez pecana.

Determinación de la tensión interfacial sólido-líquido (γ_{SL})

La tensión interfacial sólido líquido, se obtuvo mediante la ecuación (3) tomando como θ , la medición del ángulo de contacto a los 60 s. Para la medición de ángulo de contacto, se colocó una gota (2 μ L) de las dispersiones filmogénicas en la parte externa de los alimentos modelos en cualquier zona lisa (Skurtys y col., 2011). Se usó el software de análisis de imágenes "Image J" (Rasband, 2007) con el paquete Drop shape analysis, basado en el algoritmo "B-spline snakes" (Stalder, 2006).

6.2.5. Análisis de las interacciones moleculares

Para el análisis de interacciones moleculares, se utilizó la técnica de espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier con cristal de diamante como accesorio de reflectancia total atenuada (FTIR/ATR) (Piermaria y col., 2011, Bourbon y col., 2011). Se utilizó un equipo Vector 33 (Bruker Corporation, Massachusetts, EUA) con un barrido de 4000 a 650 cm^{-1} . Se compararon los espectros de los diferentes componentes de las películas comestibles, así como las películas comestibles, donde se identificaron picos de absorbancia sobresalientes, además se buscaron diferencias en estos picos en las muestras de películas, identificando posibles interacciones moleculares. Se realizaron las medidas en el Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (CFATA) de la UNAM.

6.2.6. Análisis estadístico

Se efectuó un diseño experimental con un solo factor a tres niveles (tipos de almidones), los tratamientos se realizaron totalmente aleatorizados, realizando réplicas por duplicado y triplicado según la disponibilidad de equipos, las variables de respuesta para cada análisis fueron expresadas como el promedio \pm desviación estándar, haciendo comparación de medias por la prueba de Tukey, con un $\alpha = 0.05$ utilizando el paquete estadístico JMP 8.0

7. RESULTADOS Y DISCUSIONES

7.1. Formulación de dispersión filmogénica y formación de una película comestible.

La dispersión filmogénica fue formulada a partir de la formulación de almidón ceroso y con modificaciones químicas. Se modificó la metodología expuesta por Arredondo (2012) y Pérez-Gallardo (2012), ya que al adicionar una nanoemulsión con baja concentración de agente hidrofóbico (5 % en lugar de 20% v/v), fue necesaria aumentar la concentración de sólidos (de 3% al 4% para ACLS y ceroso, y 6-6.5% para el OS); esto con la finalidad de obtener una dispersión filmogénica con características reológicas óptimas para su manipulación.

Las dispersiones filmogénicas tienen buenas características reológicas, dado su capacidad para mezclarse, vaciarse y extenderse sobre las placas para formar las películas. Mediciones reológicas indicando propiedades satisfactorias de las dispersiones filmogénicas fueron reportadas por Pérez-Gallardo (2012). Las características que se aprecian en las fotografías de las películas comestibles demuestran ser firmes (Figura 7).

Una propiedad reológicas importante para predecir el desempeño de una dispersión filmogénica, es la viscosidad. Pérez-Gallardo y col. (2012), analizaron esta cualidad de dispersiones filmogénicas a base almidones cerosos nativos y con modificaciones (oxidado, acetilado-entrecruzado y octenil-succinilado 3%, 4% y 5% p/v), mostrando en gráficas los picos de viscosidad, donde se puede observar que a una concentración de 4% (p/v) el comportamiento reológico y los picos de viscosidad son aceptables ya que no se requiere mucho esfuerzo para su deformación, siendo entonces fácilmente manipulables.

Una vez formadas las películas, las propiedades de textura son características de importancia a considerar para optar por un empaque. Arredondo

(2012), caracterizó películas comestibles a base de almidones de maíz ceroso modificados (oxidado y acetilado-entrecruzado 6 y 3% p/w respectivamente) y cera de abeja en diferentes concentraciones. Las formulaciones con cera al 1% (v/v) presentaron las mejores propiedades mecánicas, donde se pueden destacar valores bajos de resistencia a la tensión (613.72 MPa) y módulo elástico (2102.97 MPa), mientras una elongación mayor (40.57%).

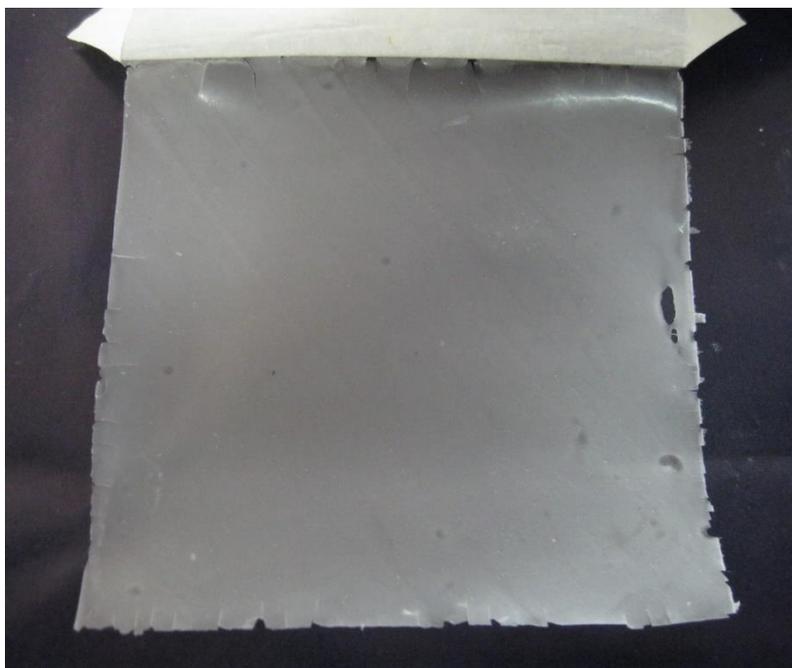


Fig. 7. Película comestible a base de almidón waxy (4% almidón + 1% ácido oleico + 0.8 g/g de almidón de sorbitol no cristalizable a 43% HR).

De todo lo anterior se partió para que en la presente investigación se eligieran concentraciones de almidón, agente hidrofóbico y sorbitol de 1% (v/v), 4% (p/v) y 0.8 g/g de almidón respectivamente.

7.2. Formulación de nanoemulsión de ácido oleico

Siguiendo el diseño experimental 2^3 presentado en el cuadro 2, se formularon las emulsiones, analizando el tamaño de partícula y la transparencia que estas presentaban. Se eligió la formulación que tuvo el tamaño de partícula más pequeño y la transparencia más elevada para usarse como agente hidrofóbico. Este

agente se utilizó en la dispersión filmogénica al 1% (v/v) por tener mejores propiedades mecánicas de acuerdo con los resultados de Arredondo (2012). Los resultados se presentan en el cuadro 4.

7.2.1. Análisis del tamaño de partícula de emulsiones

El tamaño de partícula de las emulsiones es una característica importante, ya que ejerce importante influencia en las propiedades ópticas, reológicas, estabilidad y liberación de compuestos activos (McClements, 2011).

Cuadro 4. Diseño factorial 2³ con tamaño de partícula y transparencia.

Tratamiento	Ácido oleico (% v/v)	Tween 80 (% v/v)	Tiempo Sonicación (s)	Tamaño de Partícula (nm)	Transparencia (UT x nm)
1	5	1	180	185.1 ± 6.9 ^{cd}	15,364.8 ± 2624.9 ^c
2	20	1	300	360.7 ± 21.2 ^a	174.350 ± 10.00 ^d
3	20	5	300	199.3 ± 12.8 ^c	2,280.70 ± 1089.8 ^d
4	20	1	180	282.6 ± 27.8 ^b	170.85 ± 20.3 ^d
5	5	1	300	189.9 ± 27.8 ^c	17,352.2 ± 1915.8 ^c
6	20	5	180	222.9 ± 22.1 ^{bc}	2,213.85 ± 496.7 ^d
7	12.5	3	240	270.3 ± 2.5 ^b	1,389.95 ± 743.1 ^d
8	5	5	180	101.3 ± 9.9 ^e	28,104.8 ± 307.4 ^a
9	5	5	300	95.9 ± 4.8 ^e	27,843.6 ± 230.2 ^a
10	4	4	240	98.2 ± 10.1 ^e	27,314.4 ± 1604.5 ^a
11	6.66	5	300	107.4 ± 0.5 ^e	25,876.6 ± 856.9 ^a
12	10	5	300	124.3 ± 1.1 ^{de}	21,220.2 ± 1344.0 ^b

Letras diferentes representan diferencias significativas por la prueba de Tukey (p < 0.05)

Con la finalidad de asegurar una verdadera nanoemulsión y conservar sus principales características como transparencia y estabilidad a través del tiempo, siguiendo lo reportado por McClements y Rao (2011). Ellos mencionan que un tamaño de partícula promedio entre 10 y 100 nm conferirá a la emulsión una apariencia de clara a ligeramente turbia, mientras que emulsiones con tamaños promedio por encima de los 100 nm se observan turbias u opacas, con una baja estabilidad y tendencia al rompimiento.

Se puede observar que las formulaciones con una relación grande de ácido oleico-Tween 80, tienden a un tamaño de partícula elevado no importando el tiempo que se someten a ultrasonido (tratamientos 2 y 4). El caso contrario se da cuando la relación se reduce (tratamientos 3 y 6), donde el tiempo de sonicación es un factor importante en la reducción de tamaño de partícula. En el cuadro 4 se observa que las formulaciones con menor tamaño de partícula son los tratamientos 8, 9 y 10, que no presentan diferencia significativa ($\alpha < 0.05$) y con tamaños de partícula por debajo de los 100 nm, por lo que sólo a éstas se les podrá llamar “nanoemulsiones”.

El tamaño de partícula de las emulsiones depende de diferentes factores como el agente emulsificante que se utiliza, el método de emulsificación o la naturaleza del agente a emulsificar. Leong y col. (2009) prepararon una nanoemulsión de aceite de girasol en agua con diámetro promedio de 40 nm, con ayuda de una mezcla de emulsificantes (Tween 80 y Span 80), aplicando 20 min de ultrasonido con una amplitud de 30 μm . Consideramos que el tiempo de uso del equipo de ultrasonido no resultaría en futuras aplicaciones a mayor escala. Wooster y col. (2008), usaron la técnica de microfluidización para emulsificar aceite de cacahuate con Tween 80 y SDS como emulsificantes, logrando una reducción de tamaño de partícula a 174 nm, con una presión de 100 MPa en 5 ciclos.

7.2.2. Determinación de transparencia de emulsiones.

En el cuadro 4 se puede observar la media de la transparencia de las emulsiones formuladas, donde se pueden destacar los tratamiento 8, 9 y 10, ya que son las formulaciones con mayor transparencia que el resto. Esto indica que no son opacas, es decir, son traslúcidas lo cual es una característica principal de las nanoemulsiones. Se analizó además la transparencia del agua pura, obteniendo 30,000 UT·nm, indicando una alta transparencia de las nanoemulsiones.

Se observó que las emulsiones con un diámetro de partícula promedio por debajo de los 100 nm resultaron más transparentes que aquellas cuyo diámetro promedio fue >100 nm, lo que nos dio otro indicativo de que trabajamos con verdaderas nanoemulsiones. Las propiedades ópticas de los coloides pueden variar dependiendo del tamaño de partícula que contengan dispersadas en su matriz (McClements, 2011).

La transparencia de emulsiones no ha sido reportada mediante la técnica empleada en este trabajo. Mason y col. (2006), reportaron gráficas de transmitancia de una nanoemulsión de 40 nm de tamaño de partícula y una emulsión de 3.5 μm , donde observaron el porcentaje de transmitancia en la región del espectro visible y concluyen que entre más pequeño sea el diámetro promedio de la partícula, mayor será la transparencia, lo que corresponde con lo encontrado en esta investigación.

A partir del tamaño de partícula, donde buscamos una nanoemulsión con diámetro promedio por debajo de los 100 nm y de la transparencia, donde buscamos la mayor transparencia indicada por una nanoemulsión, fue que elegimos la formulación No. 9 que se usó en la dispersión filmogénica, ya que esta nanoemulsión tiene un tamaño de partícula bajo (95.9 nm) y transparencia alta (27,843.6 UT·nm) además de una concentración de agente hidrofóbico elevada.

7.2.3. Medición de potencial zeta

El potencial zeta en todas las muestras analizadas, mostró un valor negativo, solo las muestras de nanoemulsión de ácido oleico muestran una magnitud lo suficientemente grande para poder predecir que es un coloide con estabilidad a largo plazo (Salopek y col. 1992), basándonos solo en este parámetro. El cuadro 5 presenta los datos obtenidos.

Cuadro 5. Determinación de potencial zeta.

Muestra	Potencial Z (mV)	pH
Nanoemulsión	-35.08 ± 1.26	4.31 ± 0.05
ACLS	-5.98 ± 3.17	2.91 ± 0.12
OS	-7.83 ± 0.65	3.29 ± 0.03
Waxy	-11.67 ± 0.12	3.08 ± 0.04

Las dispersiones filmogénicas no presentaron un potencial zeta de gran magnitud, esto se debe a la poca o nula disociación de las moléculas de almidón o de grupos funcionales, aportando cargas libres. Si tomamos en cuenta este parámetro para predecir su estabilidad a largo plazo, teóricamente las dispersiones no serán estables y precipitarán en un corto plazo. No obstante, la estabilidad de las dispersiones no solo se define por esta característica, ya que la estabilidad estérica juega un papel muy importante en este caso, porque está basada en un soporte extra, comúnmente el uso de polímeros estabilizantes, que en el presente trabajo fue el almidón, otorgándole mayor vida útil a nuestra dispersión filmogénica.

En el apéndice 1, se anexa un ejemplo de cómo reporta el equipo ZetaPlus los resultados de una medición, en donde se observa que el potencial electrocinético es monodisperso.

7.3. Caracterización de películas comestibles

En el cuadro 6 se presenta un condensado de la caracterización de las películas comestibles a base de los diferentes almidones utilizados, y cada parámetro evaluado se discute por separado.

7.3.1. Espesor

El espesor promedio de las películas comestibles formadas a partir de los 3 diferentes almidones fue de 74.8 ± 5.7 , 63.6 ± 23.4 y 61.0 ± 12.4 μm , para los almidones ACLS, OS y Waxy respectivamente; sin encontrar diferencias estadísticamente significativas. Los espesores obtenidos son más grandes y con más variabilidad que los reportados por Arredondo (2012), al tener valores de 56.9 y 64.5 μm en películas de almidón ACLS y OS con 1% de cera de abeja, esto se puede deber al aumento en la concentración de sólidos en el almidón y por lo tanto de sorbitol, aunque en promedio se encuentran por debajo del límite sensorialmente perceptible (Longares y col., 2004).

7.3.2. Opacidad

La opacidad y/o transparencia son propiedades sensoriales de las películas comestibles implicadas en la aceptación del posible consumidor: un alimento que no aparente su color verdadero, no será aceptado. La opacidad está relacionada directamente con el espesor y la composición de la película comestible, es decir, entre más grosor tenga una película, más será la opacidad.

La opacidad promedio de las películas de la presente investigación se presenta en el cuadro 6. Pérez-Gallardo (2012) obtuvo una opacidad promedio en películas de almidón waxy, ACLS y OS con aceite de girasol como agente hidrofóbico de 48.9, 32.5 y 38.8 UA·nm respectivamente. La diferencia observada en el presente trabajo se puede deber al espesor promedio que tienen las películas

formuladas, otra cuestión a que se puede deber es la distribución que tiene el agente hidrofóbico en la matriz de la película.

Cuadro 6. Caracterización de películas comestibles.

Almidón	Espesor ($\mu\text{m} \pm \text{DE}$)	Opacidad (UA·nm \pm DE)	PVA ($\text{g}\cdot\text{mm}/\text{m}^2\cdot\text{h}\cdot\text{kPa}$ a \pm DE)	Solubilidad (%MS \pm DE)
ACLS	74.8 ± 5.7^a	192.91 ± 2.0^a	1.367 ± 0.13^a	52.85 ± 2.0^c
OS	63.6 ± 6.4^a	177.41 ± 14.9^a	1.209 ± 0.18^a	93.53 ± 2.2^a
Waxy	61.0 ± 12.4^a	178.21 ± 30.9^a	1.212 ± 0.18^a	81.14 ± 7.4^b

Letras diferentes representan diferencias significativas por la prueba de Tukey ($p < 0.05$)

7.3.3. Permeabilidad al vapor de agua (PVA).

En el cuadro 6 se presentan los valores de PVA de películas con los diferentes almidones y la misma concentración de agente hidrofóbico. Se puede observar que la PVA no es dependiente del almidón en estas concentraciones de agente hidrofóbico, lo que concuerda con Arredondo (2012) donde observó que el factor dependiente es la concentración del agente hidrofóbico analizando 2 almidones (OS y ACLS) a diferentes concentraciones de cera de abeja (0.2, 0.6 y 1% p/v) observando valores de PVA entre 0.56 a 0.77 $\text{g}\cdot\text{mm}/\text{m}^2\cdot\text{h}\cdot\text{kPa}$.

La PVA es una propiedad relacionada directamente con la composición y el espesor de la película. En la formulación de los empaques comestibles, si se busca controlar la PVA, se colocan diversos lípidos como ceras, aceites, ácidos grasos o cualquier compuesto hidrofóbico que se pueda incorporar adecuadamente a la matriz de la película. Películas comestibles a base de carbohidratos como el almidón son conocidos como polímeros con alta PVA, por esta razón se adicionó ácido oleico como agente hidrofóbico. Para poder seleccionar un empaque comestible hay que conocer las características del producto a recubrir, por lo que no siempre se buscan películas con valores de PVA bajos.

Escamilla-García y col. (2013) formularon películas comestibles de quitosano, zeína de maíz y sus mezclas en diferentes proporciones, las PVA tienen de los 2.0 g·mm/m²·h·kPa en películas de zeína a los 4.8 g·mm/m²·h·kPa en películas de quitosano, las imágenes de microscopía de fuerza atómica que presentan, no se observan porosidades evidentes, por lo que los valores elevados de permeabilidad se pueden deber a transferencia intermolecular del vapor de agua.

Maran y col. (2013), midieron la PVA de películas de almidón de maíz, sorbitol, agar y Tween 80 en diferentes concentraciones, obteniendo valores en un intervalo de los 0.065-0.147 g·mm/m²·h·kPa los que a diferencia de los presentados en esta investigación son mucho menores. Esto se puede deber a la composición de las películas, ya que el almidón que utilizaron contenía un 28% de amilosa, fracción conocida por tener un carácter hidrofóbico, además de contener agar, el cual se conoce por crear geles compactos, potenciando la reducción de la PVA mediante reducción de interacciones (puentes de hidrógeno) amilosa-amilopectina, al sustituir almidón por sorbitol (Soliva-Fortuny, 2012). Algo similar presenta García y col. (2009), donde usando almidón alto en amilosa (20 g/L), sorbitol (20 g/L) y aceite de girasol (2 g/L), obtuvieron películas con una PVA de 0.3492 g·mm/m²·h·kPa.

Por otra parte, se cree que al adicionar el agente hidrofóbico en forma de nanoemulsión, este queda recubierto en la totalidad de su área superficial con el emulsificante, por lo cual, el efecto de impedir el paso de vapor de agua a través de la matriz polimérica se neutralizaría, en otras palabras el área hidrofóbica real (sin emulsificante) no es suficiente para crear una barrera contra el paso al vapor de agua. La Figura 8 representa la idea anterior; donde las líneas azules simbolizan el vapor de agua, los círculos amarillos simbolizan el agente hidrofóbico y las líneas verde, aluden al emulsificante

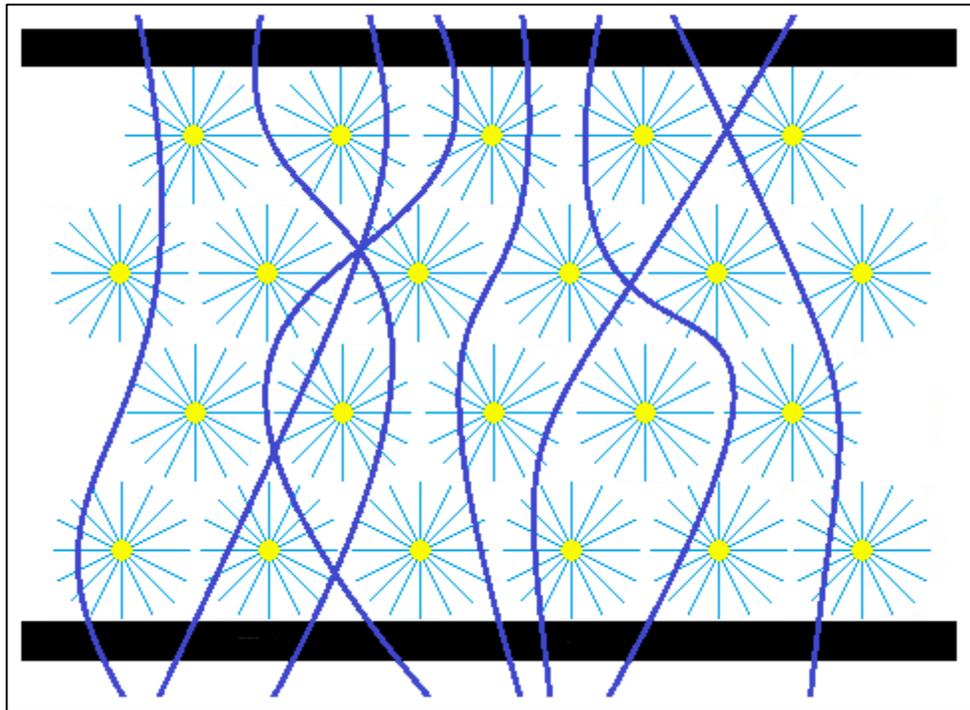


Fig. 8. Representación de nanoemulsión con exceso de emulsificante en película comestible.

7.3.4. Material soluble total

La solubilidad de los empaques comestibles es una característica de gran importancia, esta característica ayudará a la elección del uso de un empaque comestible en cierto alimento, debido a la compatibilidad y/o resistencia que tenga el alimento al empaque, si el alimento exuda agua a lo largo de su almacenamiento, no es deseable un empaque altamente soluble, ya que este podrá perder su integridad y su efectividad de conservación. Por otro lado, si se acostumbra a lavar el alimento antes de su consumo, el empaque comestible deberá ser altamente soluble pudiéndose retirar fácilmente, volviéndolo más susceptible a ser biodegradable (Tajik y col., 2013, Zamudio-Flores y col. 2009).

Las solubilidades de las películas de la presente investigación, presentan diferencias estadísticamente significativas aunque con valores altos. La solubilidad es más alta en el almidón oxidado (93.5%), esto se debe a la modificación química del almidón, la oxidación del almidón aumenta el carácter hidrofílico, elevando la

solubilidad y PVA, al igual que almidones acetilados incrementan su hidrofobicidad, por lo que los valores de solubilidad se verán disminuidos (Zamudio-Flores y col. 2010). Esto concuerda con nuestros resultados de solubilidad en películas de almidón ACLS (52.85%). Maran y col. (2013) mencionan películas comestibles que incrementan su solubilidad a medida que se incrementa la amilopectina y decrece la amilosa, lo que concuerda con los valores elevados en general, de la presente investigación.

7.3.5. Microestructura de películas comestibles.

7.3.5.1. Microscopia Electrónica de Barrido (SEM, “Scanning Electron Microscopy”)

En la Figura 9 se presenta en aumento de 2,000x de una película de almidón ACLS, donde se observan las porosidades, lo cual favorece la alta permeabilidad de la película. En la Figura 10 se presenta la misma película con un aumento de 500x donde se puede observar la gran cantidad y distribución de poros y cavidades, por lo que la opacidad y brillo de la película se ven afectados ya que se refleja incoherentemente la luz presentando un aspecto opaco y sin brillo. Los espacios oscuros son probablemente matriz de almidón embebida de ácido oleico.

En la Figura 11 se muestra una película de almidón OS con amplificación de 1,000x en donde se puede observar una reducida distribución de cavidades, las cuales pueden tener una influencia para la trasmisión de vapor de agua, lo que se traduce en valores de PVA no tan bajos como se esperaba, aunque bajos con respecto a los demás almidones usados en esta investigación. Se pueden observar grandes regiones lisas o sin cavidades ni porosidades, lo que representa una película brillante y tersa.

En la Figura 12 se puede observar la micrografía de una película hecha a base del almidón Waxy con un aumento de 1,000x, donde podemos observar una

gran cantidad de cavidades en comparación a la Fig. 11, aunque sin ser tan marcados o profundos como en la Fig. 9, lo que concuerda con valores de PVA de mediana magnitud.

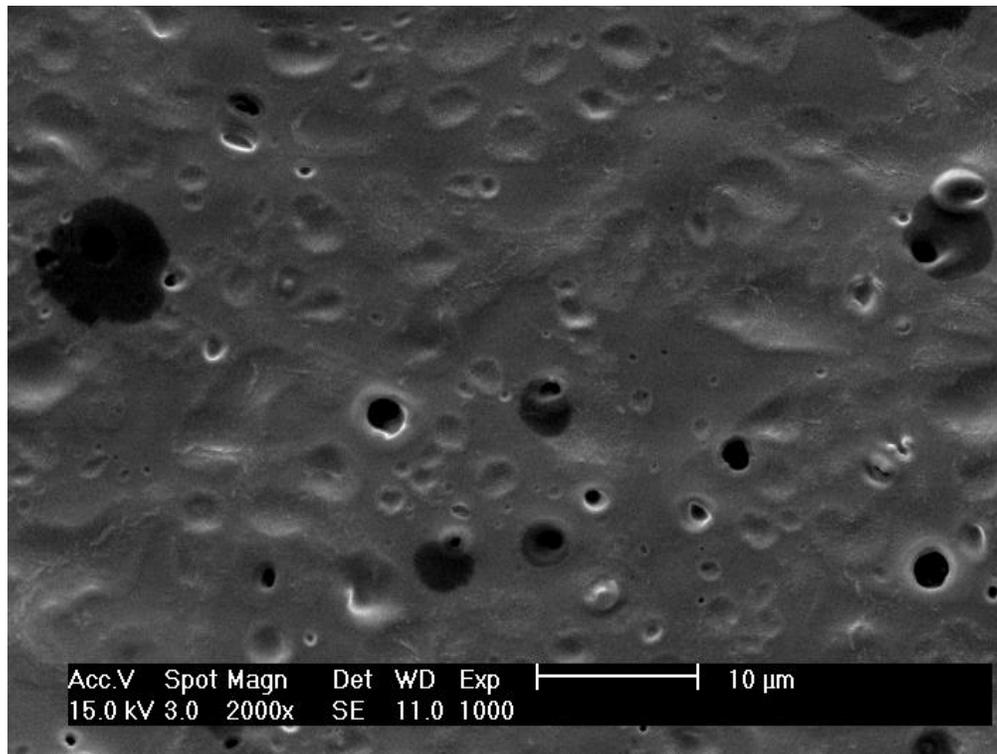


Fig. 9. SEM de película de almidón ACLS 2,000x

La Figura 13 representa un crio-corte transversal de una película de almidón Waxy, donde se puede observar la amplia porosidad en la matriz de la película.

Debido a la naturaleza de las muestras y a las características propias de las muestras, no se pudieron hacer acercamientos mayores a los 2,000x sin sacrificar nitidez y claridad de las imágenes o la integridad de la muestra, al igual, no se pudo visualizar estas películas en modo ambiental del microscopio electrónico.

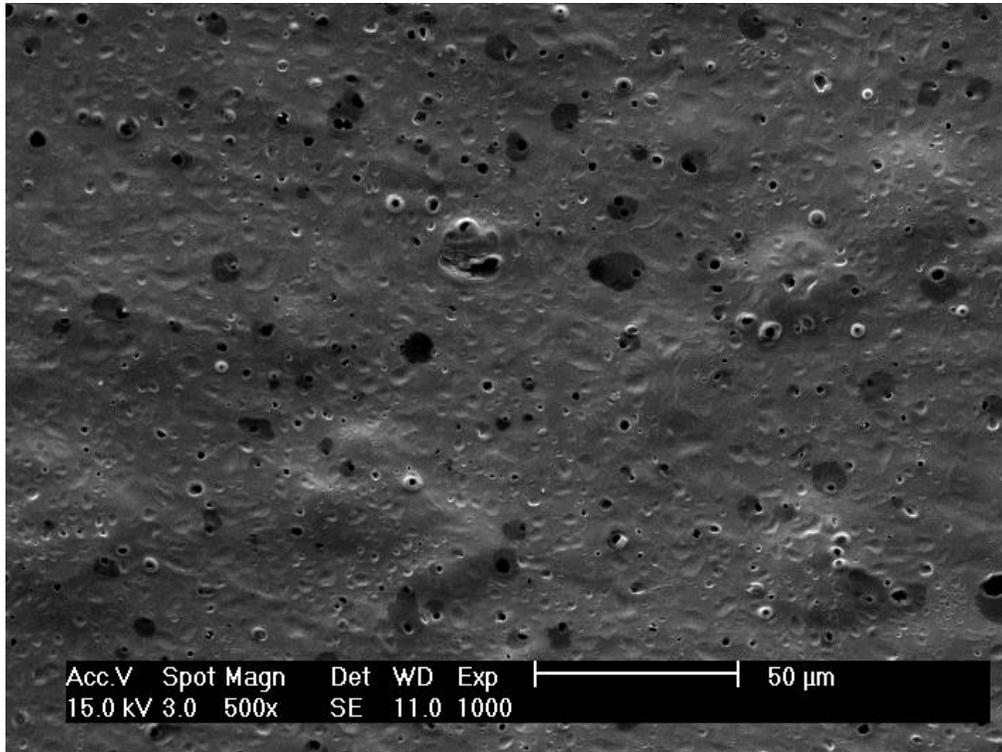


Fig. 10. SEM de película de almidón ACLS 500x.

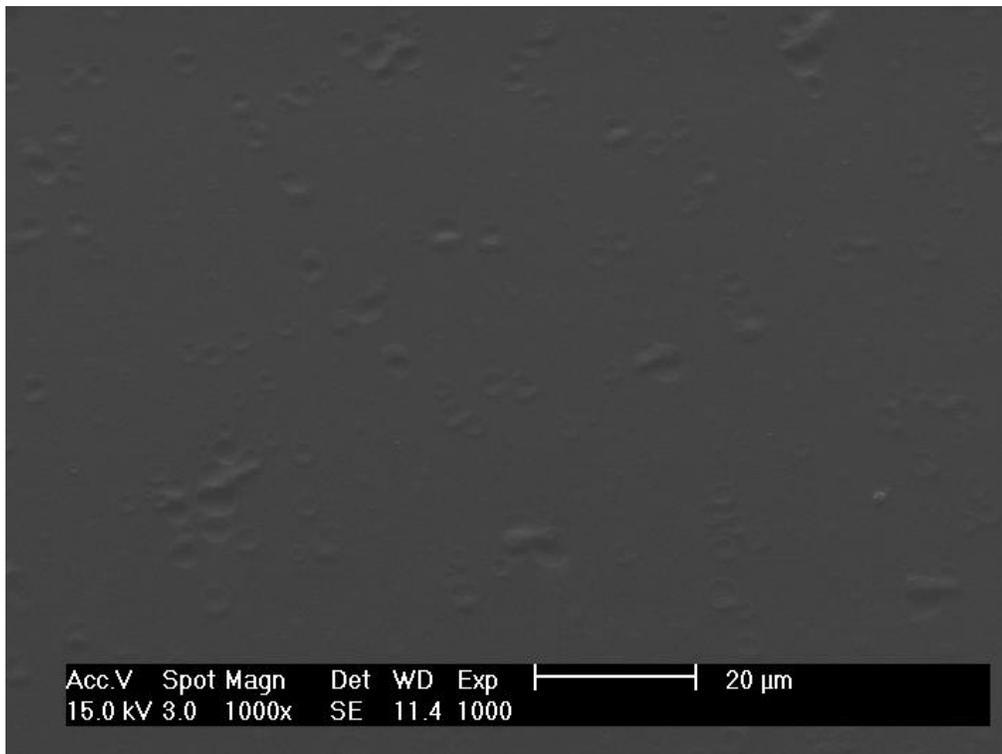


Fig. 11. SEM de película de almidón OS 1000x.

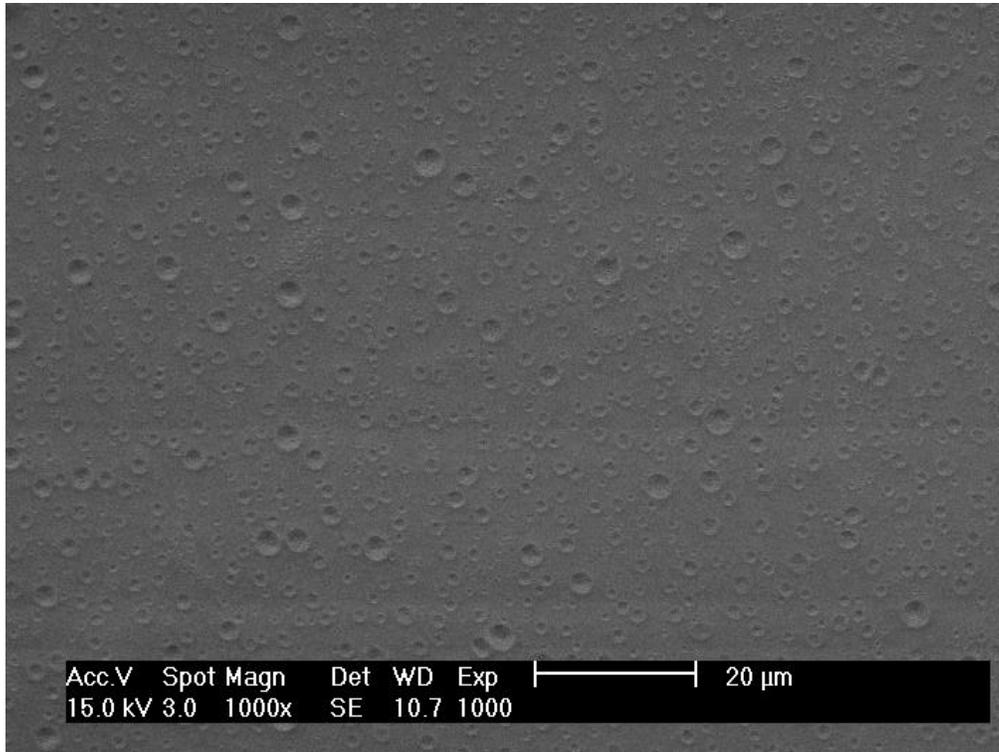


Fig. 12. SEM de película de almidón Waxy 1000x.

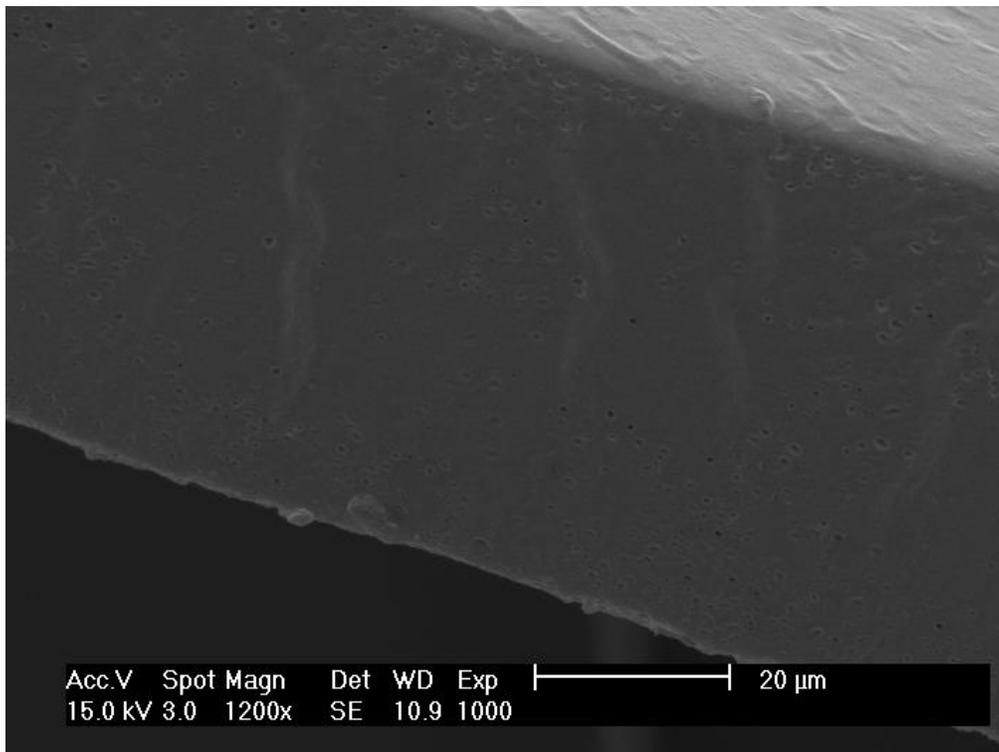


Fig. 13. SEM de crio-corte transversal de película de almidón Waxy 1200x.

7.3.5.2. Rugosidad por perfilometría.

La información que se puede obtener acerca de la morfología de películas, depende de varios factores como la técnica utilizada o del aumento que se use para adquirir las imágenes, entre otros. La microscopía de fuerza atómica es la técnica con mayor uso dada su alta resolución (Arzate-Vázquez y col. 2012). Jahanmir y Wyant, (1992) concluyen que tanto con el uso de Microscopía de fuerza atómica (AFM) y perfilometría por interferometría no se observan diferencias significativas en la medición de rugosidad de superficies como discos magnéticos, cintas magnéticas, vidrio, silicón y películas de poli silicón.

Cuadro 7. Rugosidad de películas comestibles.

Almidón	Rugosidad	
	Rq ($\mu\text{m} \pm \text{DE}$)	Ra ($\mu\text{m} \pm \text{DE}$)
ACLS	1.72 \pm 0.39 ^a	1.35 \pm 0.32 ^a
OS	0.24 \pm 0.02 ^b	0.18 \pm 0.02 ^b
Waxy	0.59 \pm 0.0 ^b	0.41 \pm 0.01 ^b

Letras diferentes representan diferencias significativas por la prueba de Tukey ($p < 0.05$)

En el cuadro 7 se presentan los valores de rugosidad de las diferentes películas de almidón ceroso y modificados, donde se observa una relación en la rugosidad con el tipo de almidón con el que son formuladas. Esto se debe al acomodo de sus componentes y/o porosidades, donde las películas formadas con el almidón OS resultaron las de menor rugosidad, por lo que serán más brillosas, mientras que las películas formadas con almidón ACLS presentan una mayor rugosidad siendo menos brillosas a simple vista. Bosques-Molina y col. (2010) comprueban que al aumentar la concentración de cloruro de calcio en películas de goma de mezquite hasta 0.3 g/100g, la rugosidad también aumenta, mientras que elevando la concentración aún más, la rugosidad disminuyó, realizando las mediciones en áreas de 80 x 80 μm .

Las observaciones de la presente investigación, corresponden a lo obtenido en las imágenes con SEM, por lo que se puede concluir que el recubrimiento con oro, no afectó la morfología superficial de las películas. Asimismo, se observa una clara relación entre la rugosidad y la PVA. Existen varios reportes de rugosidad promedio reportadas para películas comestibles, aunque por lo general se utiliza la técnica de AFM, ya que al analizar un área pequeña, las diferencias en alturas, picos o valles encontrados, así como poros o cualquier otro defecto, será menos probables encontrarlas, mientras que en la presente investigación con el uso de perfilometría al analizar áreas tan grandes las diferencias de superficies serán más contundentes y significativas para la rugosidad promedio. Un ejemplo de lo anterior es la investigación de Escamilla-García y col. (2013), donde en películas de quitosano, zeína de maíz y algunas mezclas, reportan valores para Ra en el rango 9.5-26.3 nm y para Rq de 10.5-30.8 nm, siendo en ambos casos los valores más altos para las películas formadas con zeína en un área de 5 x 5 μm para todos los análisis.

En los apéndices (2-4) se presentan las imágenes en 3D de superficies de las películas comestibles de los diferentes almidones.

7.4. Caracterización de dispersiones filmogénicas.

Comportamientos como la adherencia de las dispersiones filmogénicas en superficies de alimentos dependerán de propiedades propias de la dispersión filmogénica, propiedades de la superficie a recubrir y su interacción. La propiedad de mojabilidad en conjunto con características de esparcimiento, nos ayudan a descifrar este comportamiento de adherencia.

7.4.1. Determinación de la tensión interfacial líquido-vapor (γ_{LV}).

La tensión interfacial γ_{LV} toma en cuenta las fuerzas implicadas en los límites de la dispersión filmogénica con el aire que está en contacto, estas fuerzas

son también llamadas simplemente “tensión superficial del líquido”. En el cuadro 8 se presentan los valores de la tensión interfacial γ_{LV} de las dispersiones filmogénicas a base de los diferentes almidones, los cuales serán utilizados posteriormente para el cálculo de mojabilidad. El factor de corrección se obtuvo siguiendo la gráfica que se encuentra en el apéndice 5.

Cuadro 8. Tensión interfacial líquido-vapor (γ_{LV}).

Almidón	γ_{LV} sin corrección (mN/m)	Factor de corrección	γ_{LV} (mN/m)
ACLS	35.82	0.89	31.88 ± 0.16^a
OS	34.67	0.89	30.86 ± 0.0^a
Waxy	34.64	0.89	30.83 ± 0.1^a

Letras diferentes representan diferencias significativas por la prueba de Tukey ($p < 0.05$)

7.4.2. Determinación de tensión interfacial Sólido-vapor (γ_{SV}).

Cada superficie tanto orgánica como inorgánica posee características diferentes como ceras naturales o cutículas que les confiere cargas hidrofílicas o hidrofóbicas. Las superficies de los alimentos modelo, representan una variedad de características superficiales, por ejemplo, la superficie cerosa, hidrofóbica y sin imperfecciones del jitomate, mientras que la superficie de la nuez es rugosa, rica en aceites y seca y por último la superficie hidrofílica, acuosa e irregular de la carne de cerdo (pierna).

En el cuadro 9, se presentan los ángulos de contacto que se formaron a los 60 s de colocar los líquidos de referencia en las diferentes superficies (jitomate, nuez y carne de cerdo, respectivamente). Se muestran también la tensión superficial de los líquidos de referencia, además del resultado de la tensión superficial crítica de cada superficie, resultante de extrapolar estos ángulos en la correspondiente gráfica de Zisman (apéndices 7-9). Para la carne de cerdo se registró el ángulo de

contacto a los 10 s después de haber colocado el líquido de referencia debido a la poca precisión y rápido esparcimiento a los 60 s.

Cuadro 9. Ángulo de contacto de líquidos de referencia en superficie de alimentos modelo y (γ_{sv}).

Superficie	Líquido de referencia	Tensión Superficial Teórica (mN/m)	Ángulo de contacto (Θ)	Coseno de Θ	Tensión superficial crítica (γ_{sv}) (mN/m)
Jitomate	Agua	72.35	80.45	0.1659	15.04
	Glicerol	64.88	97.76	0.2912	
	Formamida	57.70	71.79	0.3124	
	Propilenglicol	37.49	52.92	0.6029	
	Metanol	22.61	20.20	0.9384	
Nuez	Agua	72.3	73	0.2923	35.92
	Glicerol	64.883	70	0.342	
	Etilenglicol	49.4186	42	0.7431	
Carne de cerdo	Agua	72.3	11	0.9816	43.83
	Glicerol	64.88	8	0.9902	
	Etilenglicol	49.42	5	0.9961	

Letras diferentes representan diferencias significativas por la prueba de Tukey ($p < 0.05$)

Diferentes superficies de alimentos han sido caracterizadas, por ejemplo Skurtys y col. (2011), determinaron tensión superficial crítica de arándano con y sin cera epicuticular reportando valores de 26.8 y 34.1 mN/m, utilizando como líquidos de referencia agua, etilenglicol, formamida glicerol y α -bromonaftaleno. Velásquez y col. (2011), determinaron igualmente el ángulo crítico por el método de Zisman usando agua, formamida, etilenglicol y α -bromonaftaleno como líquidos de referencia en la tensión superficial crítica de manzana, aguacate, plátano, arándano, uva, limón, melón, nectarina, naranja, pera, ciruela, membrillo, fresa y tomate,

reportando valores entre 37 y 44 mN/m. Ramírez y col. (2012), demostraron, con el uso de agua, etilenglicol y glicerol como líquidos de referencia para la manzana y membrillo la tensión superficial crítica fue de 18.56 y 18.71 mN/m respectivamente. Casariego y col. (2008), reportaron valores de 17.4 mN/m para tomate y 24.1 mN/m para zanahoria, este resultado puede ser comparable con lo obtenido para tomate del presente trabajo con 15.04 mN/m; la variación podría deberse a la variedad de tomate utilizada en cada estudio. Souza y col. (2010) determinaron la tensión superficial crítica de filetes de salmón igualmente por el método de Zisman demostrando valores de 30.13 mN/m, al comparar este valor con el obtenido para la carne de cerdo (43.83 mN/m) se observa una diferencia considerable. Cabe aclarar que la tensión superficial crítica depende de varias fuerzas como dipolos, inductivas, enlaces de hidrógeno o interacciones metálicas inherentes de cada superficie.

7.4.3. Determinación de la tensión interfacial sólido-líquido (γ_{SL}).

La tensión interfacial γ_{SL} considera fuerzas implicadas en los límites del líquido problema y la superficie que se quiere recubrir, por lo que se utilizó el ángulo de contacto que se forma al colocar la dispersión filmogénica en las superficies de los alimentos evaluados a los 60 s despejando de la ecuación de Young (Ec. 4). Los resultados de la tensión interfacial γ_{SL} se presentan en el cuadro 10.

$$\gamma_{SL} = \gamma_{SV} - (\cos\theta \cdot \gamma_{LV}) \quad (4)$$

Cuadro 10. Tensión interfacial sólido-líquido (γ_{SL}).

Superficie	Almidón	Ángulo de contacto	Coseno de Θ	γ_{LV} (mN/m)	γ_{SV} (mN/m)	γ_{SL} (mN/m)
Jitomate	OS	61.5	0.4771	30.86	15.04	15.025
	Waxy	61.0	0.4848	30.83	15.04	15.024
	ACLS	61.0	0.4848	31.88	15.04	15.025
Nuez	OS	40.5	0.7604	30.86	35.92	35.895
	Waxy	40.5	0.7604	30.83	35.92	35.895
	ACLS	51.0	0.6293	31.88	35.92	35.900
Carne	OS	1.0	0.9998	30.86	43.83	43.798
	Waxy	1.0	0.9998	30.83	43.83	43.798
	ACLS	9.5	0.9862	31.88	43.83	43.799

7.4.4. Coeficiente de mojabilidad

Resolviendo las ecuaciones 1 y 2, obtuvimos el coeficiente de mojabilidad W_s , presentado en el cuadro 11. Recordando que este coeficiente será siempre negativo y entre más cercano al cero, la superficie será mejor mojada por el líquido problema (Choi y col. 2002).

Nuestras dispersiones filmogénicas tienen un gran potencial para recubrir estos alimentos modelos. En el caso del jitomate, el coeficiente de mojado se observa mayor que en las otras superficies, aunque no depende del almidón usado, lo cual se debe a la cutícula cerosa que tiene el jitomate proporcionándole una característica hidrofóbica, mientras que la dispersión filmogénica es de composición acuosa. En todas las superficies analizadas se observa que la formulación con almidón ACLS disminuye su capacidad de mojado, esto se puede deber a que tiene características más viscosas que las otras formulaciones y a su naturaleza hidrofóbica.

Cuadro 11. Fuerzas adhesivas (W_a), Fuerzas Cohesivas (W_c) y Coeficiente de mojabilidad (W_s).

Superficie	Almidón	W_a (mN/m)	W_c (mN/m)	Coeficiente de Mojabilidad W_s (mN/m)
Jitomate	OS	45.58	61.72	-16.14 ± 0.24^a
	Waxy	45.78	61.66	-15.88 ± 0.71^a
	ACLS	47.34	63.76	-16.42 ± 1.38^a
Nuez	OS	54.33	61.72	-7.39 ± 0.21^a
	Waxy	54.27	61.66	-7.39 ± 0.22^a
	ACLS	51.94	63.76	-11.82 ± 0.0^b
Carne	OS	61.71	61.72	-0.01 ± 0.0^a
	Waxy	61.65	61.66	-0.01 ± 0.0^a
	ACLS	63.32	63.76	-0.44 ± 0.19^b

Letras diferentes representan diferencias significativas por la prueba de Tukey ($p < 0.05$)

En el cuadro 12, se presenta un condensado de investigaciones de mojabilidad realizadas con diferentes dispersiones filmogénicas en diferentes superficies de alimentos modelo. Se puede destacar lo realizado por Casariego y col. (2008), donde utilizando la misma superficie de alimento que en la presente investigación (Jitomate), obtienen un coeficiente de mojado (-22.81 mN/m) mucho menor, es decir, un coeficiente de mojado desfavorable, esto se debe a la composición de la dispersión filmogénica siendo la nuestra más fácil y de mejor esparcimiento en esta superficie. Otra investigación que hay que destacar es la realizada por Ribeiro y col. (2007), donde evalúan el coeficiente de mojado en fresa de una dispersión filmogénica similar a la utilizada en la presente investigación, donde demuestran un coeficiente muy bajo (-44.61 mN/m), aunque es evidente que un factor importante a resaltar es la diferencia en la superficie, se demuestra una gran capacidad de mojado de nuestras dispersiones filmogénicas al retarlas con superficies muy variadas, demostrando en general buenas capacidades de mojado.

En el apéndice 6 se presenta la imagen de una micro gota de agua en superficie de jitomate, demostrando del uso del software de análisis de imágenes “Image J” con el paquete “Drop shape analysis”.

Cuadro 12. Investigaciones donde determinan coeficientes de mojado de dispersiones filmogénicas en diferentes alimentos.

Superficie (alimento)	Dispersión filmogénica	Coefficiente de Mojabilidad (mN/m)	Referencia
Arándano c/cera	Quitosano (1.4%) + Tween 80 (20%)	-32.00	Skurtys y col. (2011)
Arándano s/cera	Quitosano (1.0%) + Tween 80 (20%)	-25.00	
Manzana Fuji	Quitosano (1.5%) + alginato de sodio (1%)	-66.87	Choi y col. (2008)
Manzana Fuji	Quitosano (1.5%) + alginato de sodio (1%) + Tween 80 (1000 ppm)	-27.06	
Manzana	CMC (2%) + Glicerol (0.5%) + Aceite de girasol (0.47%)	-43.28	Ramírez y col. (2012)
Membrillo	CMC (2%) + Glicerol (0.5%) + Aceite de girasol (0.47%)	-48.29	
Jitomate	Quitosano (1.5%) + Tween 80 (0.1%)	-22.81	Casariego y col. (2008)
Zanahoria	Quitosano (1.5%) + Tween 80 (0.1%)	-29.71	
Salmón	Quitosano (1%) + Tween 80 (0%)	-4.73	Souza y col. (2010)
Fresa	Almidón (2%) + Sorbitol (2 g/L)	-44.61	Ribeiro y col. (2007)
Fresa	Carragenina (0.3%) + Glicerol (0.75%) + Tween 80 (0.1%)	-45.28	

7.5. Análisis de interacciones moleculares

7.5.1. FTIR/ATR

A continuación se presentan los espectros de FTIR de los componentes de las películas comestibles (apéndices 10-20), donde se señalan las frecuencias en las cuales se observan picos de absorbanza típicos.

Las Figuras 25-27 muestran los espectros FTIR/ATR superpuestos de las diferentes películas con sus diferentes componentes individuales, donde se puede observar la presencia de los mismos picos de los ingredientes en los espectros de las películas, es decir, no resaltan picos nuevos, lo que nos dice que no existen interacciones al formar la película comestible. En el cuadro 13 se muestra de forma más detallada la localización de los picos señalados y su correspondiente banda y tipo de vibración de acuerdo con diferentes referencias. Bourbon y col. (2011) reporta análisis de FTIR de películas de quitosano adicionando diferentes compuestos, donde al haber una diferencia mayor a 20 cm^{-1} de desplazamiento de picos es indicativo de interacciones de sus componentes. En la frecuencia $\sim 1730\text{ cm}^{-1}$, se encontró un pico de absorbanza presente en todas las muestras, la cual según la literatura, hace referencia a un enlace C=O, lo que resalta en las muestras de almidón, por lo que crea desconfianza de la pureza de las muestras de almidones, aunque faltarían más estudios para comprobar esto.

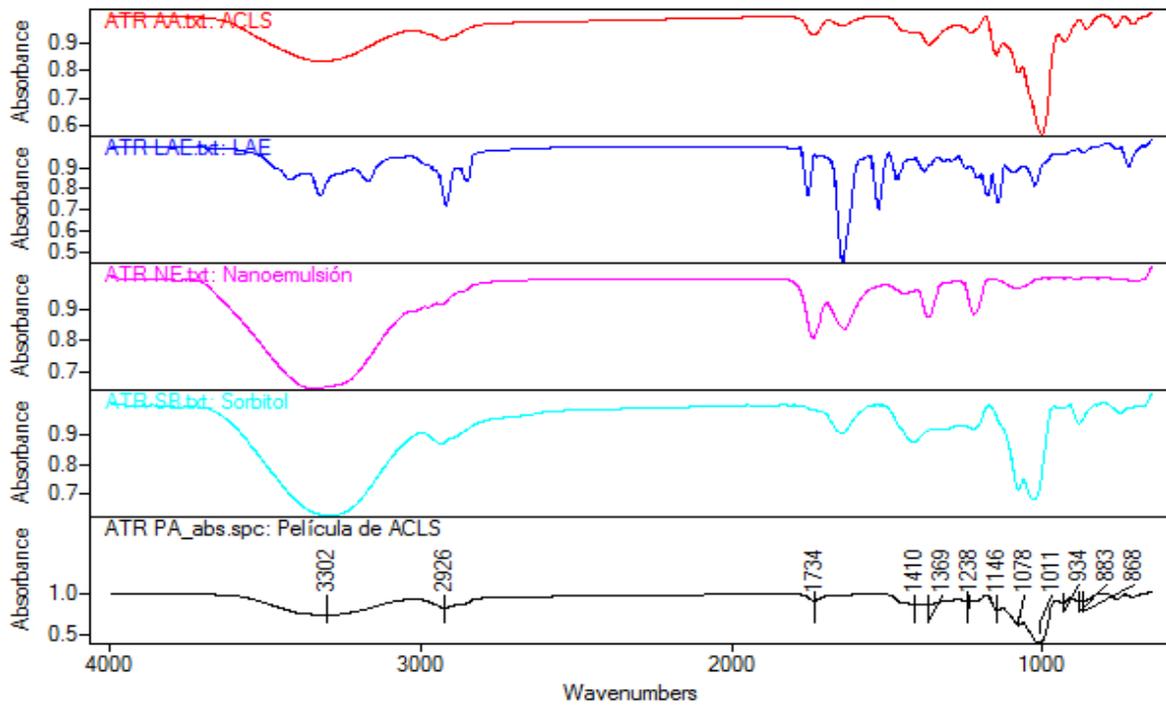


Fig. 14. Comparación de espectros FTIR/ATR de película de ACLS y sus componentes

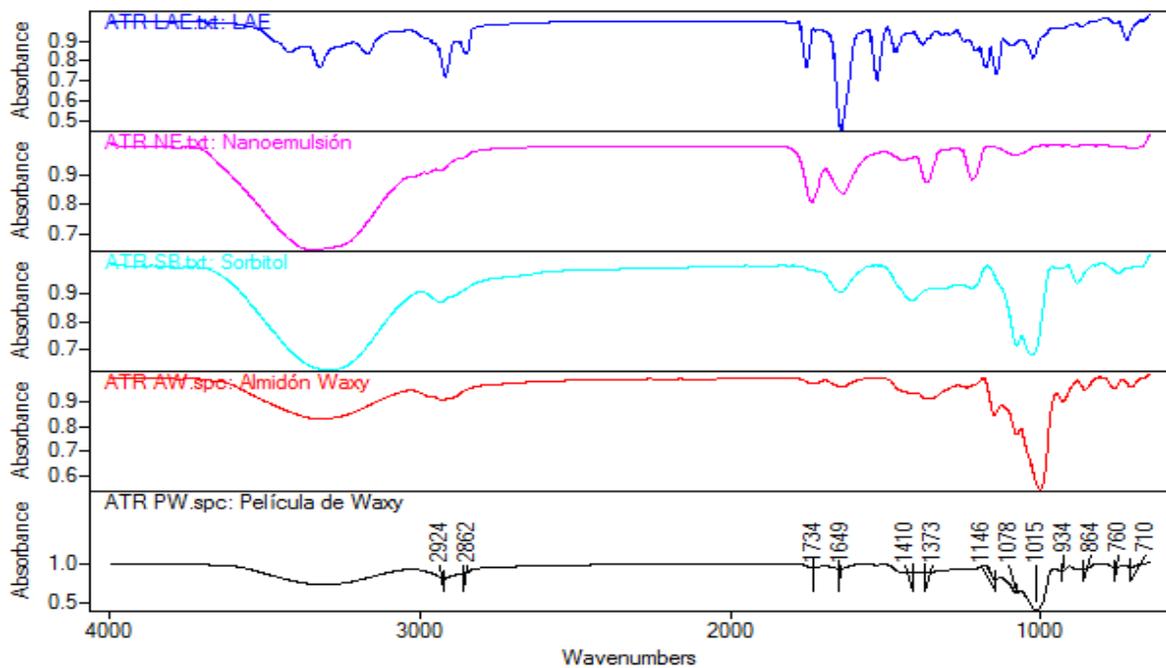


Fig. 15. Comparación de espectros FTIR/ATR de película de Waxy y sus componentes

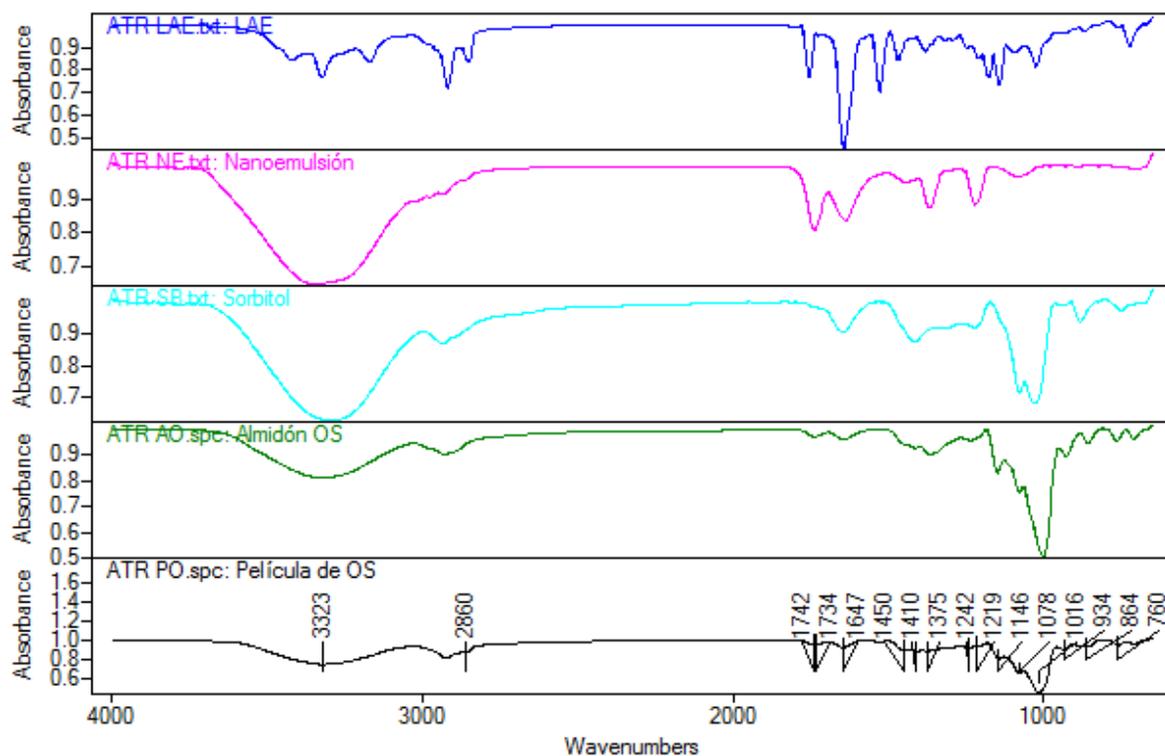


Fig. 16. Comparación de espectros FTIR/ATR de película de OS y sus componentes

Cuadro 13. Asignación de picos de absorbancia de los espectros FTIR/ATR.

Waxy		OS		ACLS		Aditivos			Señal correspondiente	Referencia
Película	Almidón	Película	Almidón	Película	Almidón	LAE	Nanoemulsión	Sorbitol		
						3421			O-H proveniente de agua y carbohidratos (estiramiento)	Chen (2008)
3320	3322	3323	3323	3301	3322	3324	3347	3292		
						3171				
						3072				
						2980	2977		C-H asimétrico	Galat (1980)
2924	2930	2924	2930	2925	2930	2919	2931	2935	C-H asimétrico	Piermaria
						2853			C-H simétrico	
						1755			C=O (estiramiento)	Kizil (2002)
1734	1736	1742	1738	1734	1736	1728	1738		C=O (estiramiento)	
1649	1638	1647	1641	1665	1641	1645	1636	1644	-OH (Flexión) -NH	Bourbon (2011)
		1527				1527	1525		N-H (flexión, amide II)	Chen (2008)
						1467			-CH (flexión)	Yang (2001)
1410	1414	1410	1414	1410	1418			1414	CH ₂ (estiramiento)	Kizil (2002)
1373	1366	1375	1366	1369	1367	1380	1368		C-OH (flexión)	Galat (1980)
						1318			C-O de ac grasos	Lv (2010)
						1294				
	1238	1242	1236	1238	1229	1247			CH ₂ -OH	Kizil (2002)
		1219				1211	1220	1220	C-O-H (flexión)	Galat (1980)
						1178			C-O	
1146	1150	1145	1150	1145	1150	1142			C-O, C-C (estiramiento)	Kizil (2002)
1078	1078	1078	1078	1078	1078	1090	1082	1078	C-O	
1015		1016		1011		1024		1028	C-OH	Galat (1980)
	1001		1001		1001				C-OH	
934	930	934	928	934	930				C-O-C enlace 1-4	
864	856	864	856	868	858				C-H, CH ₂	
760	764	760	764	762	764		749	749	C-C-O (flexión)	Almeida (2010)
						723			H-OH	Galat (1980)
710	710	711	710	709	710		708		C-H (rocking)	Yang (2005)
							689		C-H (rocking)	

8. CONCLUSIONES

Se logró caracterizar dispersiones filmogénicas formadoras de películas comestibles a base de almidón ceroso (nativo o waxy, oxidado y acetilado-entrecruzado), ácido oleico como agente hidrofóbico y arginato laurico como antimicrobiano natural.

Mediante un diseño experimental 2³ se logró formular y caracterizar una nanoemulsión de ácido oleico demostrándose las concentraciones de emulsificante y ácido oleico necesarias para lograr crear una verdadera nanoemulsión de tamaño de partícula <100 nm y electrostáticamente estables.

Para conocer la capacidad de mojado de las dispersiones filmogénicas en alimentos modelo, se midieron las fuerzas de cohesión y adhesión de la dispersión filmogénica que se forma al colocarlo en cada superficie modelo.

Mediante técnicas microscópicas se logró evaluar la morfología y topografía de las películas comestibles, mientras que mediante espectroscopía se demostró la nula interacción de sus componentes.

Se obtuvieron parámetros de barrera como la capacidad de permeabilidad de vapor de agua y fisicoquímicos como solubilidad, opacidad y espesor, que definen a cada material utilizado como empaques comestibles y biodegradables en los alimentos.

Las dispersiones filmogénicas a base de almidón de maíz ceroso, ácido oleico en nanoemulsión y arginato láurico son suspensiones estables y con gran capacidad de mojado en superficies alimenticias; formando un recubrimiento, medianamente soluble, opaco y altamente permeable al vapor de agua, sin observarse algún tipo de interacción molecular.

BIBLIOGRAFÍA

- Almeida, M.R., Alves, R.S., Nascimbem, L.B.L.R., Stephani, R., Poppi, R.J. y Oliveira, L.F.C. 2010.** Determination of amylose content in starch using Raman spectroscopy and multivariate calibration analysis. *Journal of Annual Bioanalytical chemistry*. 397:2693-2701.
- Arredondo Ochoa, T. 2012** Diseño de empaques comestibles activos a base de almidón modificado para su posible aplicación en alimentos en fresco. Tesis para obtener grado de Maestro en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Arzate-Vázquez, I., Chanona-Pérez, J.J., Calderón-Domínguez, G., Terre-Rojas, E., Garibay-Febles, V., Martínez-Rivas, A. y Gutiérrez-López, G.F. 2012.** Microstructural characterization of chitosan and alginate films by microscopy techniques and texture image analysis. *Carbohydrate polymers*. 87: 289-299
- ASTM E96-00. 2000.** Standard test method for water vapor transmission of materials. Standard Designation. American Society for Testing and Materials. Philadelphia, EUA.
- Bosques-Molina, E., Tomás, S.A. y Rodríguez-Huezo, M.E. 2010.** Influence of CaCl_2 on the water vapor permeability and the Surface morphology of mesquite gum based edible films. *LWT Food Science and Technology*. 43: 1419-1425.
- Bourbon, A.I., Pinnheiro, A.C., Cerqueira, M.A., Rocha, C.M.R., Avides, M.C., Quintas, M.A.C. y Vicente, A.A. 2011.** Physico-chemical characterization of chitosan-based edible films incorporating bioactive compounds of different molecular weight. *Journal of Food Engineering*. 106: 111-118.
- Bourtoom, T. 2008.** Edible films and coatings: characteristics and properties. *International Food Research*. 15: 237-248.
- Campos, C.A., Gerschenson, L.N. y Flores, S.K. 2011.** Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. *Food bioprocess Technology*. 4:849-875.
- Casariego, A., Souza, B., Vicente, A., Teixeira, J., Cruz, L., Díaz, R. 2008.** Chitosan coating Surface properties as affected by plasticizer, surfactant and polymer concentrations in relation to the Surface properties of tomato and carrot. *Food Hydrocolloids*. 22:1452-1459.
- Choi, W., Park, H., Ahn, D., Lee, J., y Lee, C. 2002.** Wettability of chitosan coating solution on "fuji" Apple skin. *Food engineering physical properties*. 67:2668-2672.

- Chen, J., Liu, C., Chen, Y., Chen, Y., y Chang, P. 2008.** Structural characterization and properties of starch/konjac glucomannan. *Carbohydrate Polymers*. 74: 946-962
- Embuscado, M.E. y Huber, K.C. 2009.** Edible films and coatings for food applications. Springer, New York. p: v
- Escamilla-García, M., Calderón-Dominguez, G., Chanona-Pérez, J.J., Farrera-Rebollo, R.R., Andraca-Adame, J.A., Arzate-Vazquez, I., Mendez-Mendez, J.V. y Moreno-Ruiz. 2013.** Physical and structural characterization of zein and chitosan edible films using nanotechnology tools. *International Journal of Biological Macromolecules*. 61: 196-203.
- García, M.A., Pinotti, A., Martino, M.N. y Zaritzky, N.E. 2009.** Characterization of starch and composite edible films and coating. En: M.E. Embuscado y K.C. Huber (Ed.). Edible films and coatings for food applications. p:169-210. Springer, New York.
- Galat, A. 1980.** Study of the Raman scattering and infrared absorption spectra of branched polysaccharides. *Acta Biochimica Polonica*. 27:135-142.
- Gwyddion 2.32,** Software de uso libre. <http://gwyddion.net>. Revisado 29/09/13.
- Harkins, W. y Jordan, H. 1930.** A method for the determination of surface and interfacial tension from the maximum pull on a ring *Journal of the American Chemical Society*. 52:1751-1772.
- Jahanmir, J. y Wyant, J.C. 1992.** Comparison of surface roughness measured with an optical profiler and a scanning probe microscope (Invited Paper). *Proc. SPIE 1720, Intl Symp on Optical Fabrication, Testing, and Surface Evaluation*. 111: 111-118
- Janjarasskul, T. y Krochta, M.J. 2010.** Edible packaging materials. *Annual Review of Food Science and Technology*. 1: 415-448.
- Kentish, S., Wooster, T.J., Ashokkumar, M., Balachandran, S., Mawson, R. y Simons, L. 2008.** The use of ultrasonics for nanoemulsion preparation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 9: 170-175.
- Kizil, R., Irudayaraj, J. y Seetharaman. 2002.** Characterization of irradiated starches by using FT-Raman and FTIR spectroscopy. *Journal of agricultural and food Chemistry*. 50: 3912-3918.
- Kramer, M.E. 2009.** Structure and functions of starch-based edible films and coatings. En: M.E. Embuscado y K.C. Huber (Ed.). Edible films and coatings for food applications. p 113-134. Springer, New York.

- Krochta**, J.M. y De Mulder-Johnston, C. **1997**. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. *Food Technology*. 51: 61-74.
- Leong**, T.S.H., Wooster, T.J., Kentish, S.E. y Ashokkumar, M. **2009**. Minimising oil droplet size using ultrasonic emulsification. *Ultrasonics Sonochemistry*. 16: 721-727.
- Lin**, D. y Zhao, Y. **2007**. Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 6: 60-71.
- Longares**, A., Monahan, F.J., O'Riordan, E.D., y Sullivan, M.O. **2004**. Physical properties and sensor y evaluation of WPI films of varying thickness. *LWT Food Science and Technology*. Vol. 37(5): 545-550.
- López**, O.V., García, M.A. y Zaritzky, N.E. **2008**. Film forming capacity of chemically modified corn starches. *Carbohydrate Polymers*. 73: 573-581.
- Lv**, J., Shen, Y., Peng, L., Gou, X. y Ding, W. **2010**. Exclusively selective oxidation of toluene to benzaldehyde on ceria nanocubes by molecular oxygen. *Chemical Communications*. 46: 5909-5911.
- Magaña-Alemán**, F. **2007**. Diseño de un material de empaque biodegradable a base de aislado de proteína de suero adicionado con agentes antimicrobianos naturales. Tesis para obtener el grado de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Mason**, T.G., Wilking, J.N., Meleson, K., Chang, C.B. y Graves, S.M. **2006**. Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. *Journal of Physics: Condensed Matter*. 18: R635- R666.
- Maran**, J.P., Sivakumar, V., Thirugnanasambandham, K. y Sridhar, R. **2013**. Response Surface modeling and analysis of barrier and optical properties of maize starch edible films. *International Journal of Biological Macromolecules*. 60: 412-421.
- Marsh**, K. y Bugusu, B. **2007**. Food packaging-roles, materials and environmental issues. *Jornal of food science*. 72: R39-R55.
- Martín-Belloso**, O., Rojas-Graü, M.A. y Soliva-Fortuny, R. **2009**. Delivery of flavor and active ingredients using edible films and coatings. En: M.E. Embuscado y K.C. Huber (Ed.). Edible films and coatings for food applications. p 295-313. Springer, New York.

- Mason**, T.G., Wilking, J.N., Meleson, K., Chang, C.B. y Graves, S.M. **2006**. Nanoemulsions: Formation, structure, and physical properties. *Journal of Physics-Condensed Matter*. 18: R635–R666.
- McClements** D.J. **2009**. Biopolymers in Food Emulsions, en: Kasapis, S., Norton, I.T. y Ubbink, J.B. 2009. *Modern Biopolymer Science*. ELSEVIER (Ed.). p. 138-166
- McClements** D.J. **2011**. Edible nanoemulsions: fabrication, properties, and functional performance. *Soft Matter*. 7: 2297-2316.
- McClements**, D.J. y Rao, J. **2011**. Food-grade nanoemulsions: Formulations, fabrication, properties, performance, biological fate and potencial toxicity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 51: 285-330.
- McHught**, T.H. y Krochta, J.M. **1994**. Sorbitol vs glycerol plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 42: 841-845.
- Necas**, D. y Klapetek, P. **2012**. Gwyddion: an open-source software for SPM data analysis. *Central European journal of physics*.10: 181-188.
- Olivas**, G.I. y Barbosa-Cánovas, G. **2009**. Edible films and coating for fruits and vegetables. En: M.E. Embuscado y K.C. Huber (Ed.). *Edible films and coatings for food applications*. p 221-244. Springer, New York.
- Pavlath**, A. E. y Orts W. **2009**. Edible films and coatings: Why, What, and How? En: M.E. Embuscado y K.C. Huber (Ed.). *Edible films and coatings for food applications*. p 1-23. Springer, New York.
- Pavlovic**, Z., Risovic, D. y Novakovic. **2012**. Comparative study of direct and indirect image-based profilometry in characterization of surface roughness. *Surface and interface analysis*. 44: 825-830.
- Pérez-Gallardo**, A., Bello-Pérez, L.A., García-Almendarez, B., Montejano-Gaitán, G., Barbosa-Cánovas, G. y Regalado C. **2012**. Effect of structural characteristics of modified waxy corn starches on rheological properties, film-forming solutions, and on water vapor permeability, solubility, and opacity of films. *Starch/Stärke*. 64: 27-36.
- Pérez-Gago**, M.B. y Krochta, J.M. **2001**. Lipid particle size effect on water vapor permeability and mechanical properties of whey protein/beeswax emulsion films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49: 996-1002
- Piermaria**, J., Bosch, A., Pinotti, A., Yantorno, O., Garcia, M.A. y Abraham, A. G. **2011**. Kefiran films plasticized with sugars and polyols: Water vapor barrier

and mechanical properties in relation to their microstructure analyzed by ATR/FT-IR spectroscopy. *Food Hydrocolloids*. 25: 1261-1269.

Quezada-Gallo, J.A. 2009. Delivery of food additives and antimicrobials using edible films and coatings. En: M.E. Embuscado y K.C. Huber (Ed.). *Edible films and coatings for food applications*. p: 315-333. Springer, New York.

Ramírez, C., Gallegos, I., Ihl, M. y Bifani, V. 2012. Study of contact angle, wettability and water vapor permeability in carboxymethylcellulose (CMC) based film with murta leaves (*Ugni molinae Turcz*) extract. *Journal of Food Engineering*. 109: 424-429.

Rasband, W. 2007. ImageJ. <http://rsb.info.nih.gov/ij/index.html> (consultado en Abril 2013).

Regalado, C., Pérez-Pérez, C., Lara-Cortés, E. y García-Almendárez, B. 2006. Advances in Agricultural and Food Biotechnology. Research Signpost, Kerala: 2-18.

Ribeiro, C., Vicente, A., Teixeira, J., Miranda, C. 2007. Optimization of edible coating composition to retard strawberry fruit senescence. *Postharvest Biology and Technology*. 44:63-70.

Romero-Bastida, C.A., Bello-Pérez, L.A., García, M.A., Martino, M.N., Solorza-Feria, J. y Zaritzky, N.E. 2005. Physicochemical and microstructural characterization of films prepared by thermal and cold gelatinization from non-conventional sources of starches. *Carbohydrate Polymers*. 60: 235-244.

Salopek, B., Krasić, D., Filipović, S. 1992. Measurement and application of zeta-potential. *Rudarsko-Geološko-Naftni Zbornik*. 4:147-151.

Salvia-Trujillo, L., Rojas-Graü, A., Soliva-Fortuny R., Martín-Belloso, O. 2012. Physicochemical Characterization of Lemongrass Essential Oil–Alginate Nanoemulsions: Effect of Ultrasound Processing Parameters. *Food Bioprocess Technology*. 9: 2439-2446

Singh, J., Kaur, L. y McCarthy, O.J. 2007. Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications - A review. *Food Hydrocolloids*. 21: 1-22.

Skurtys, O., Velásquez, P., Henriquez, O., Matiacevich, S., Enrione, J. y Osorio, F. 2011. Wetting behavior of chitosan solutions on blueberry epicarp with or without epicuticular waxes. *Food Science and Technology*. 44: 1449-1457.

Stalder, A., Kuli, G., Sage, D., Barbieli, L. y Hoffmann, P. 2006. A snake-based approach to accurate determination of both contact points and contact angles.

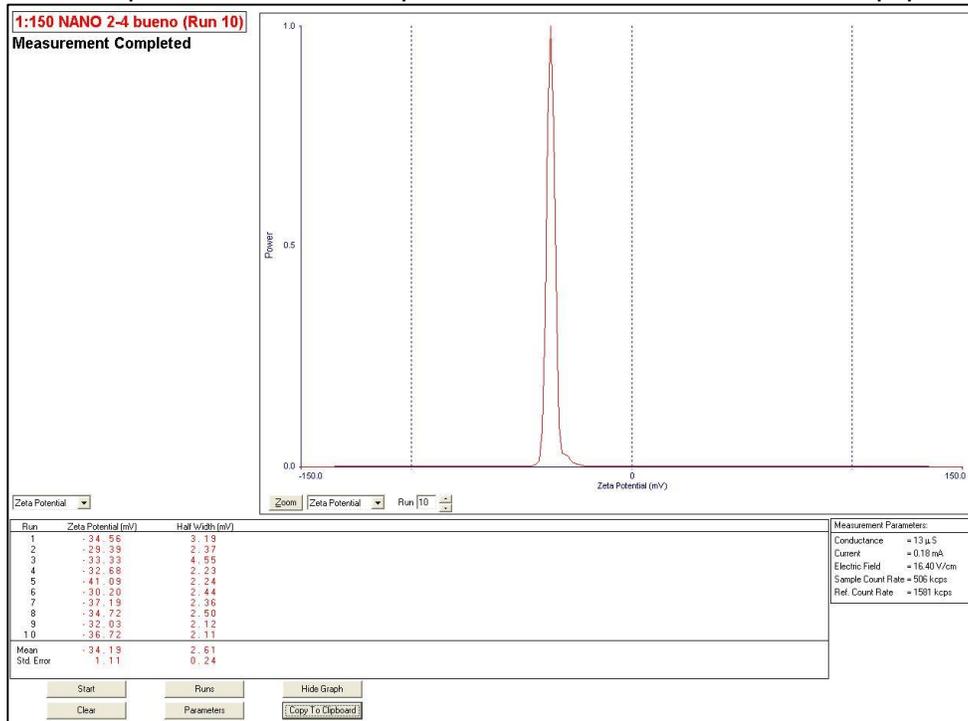
Colloids and surfaces A: Physicochemical and engineering aspects. 286:92-103.

- Soliva-Fortuny**, R., Rojas-Graü, M.A., Martín-Belloso, O. **2012**. Polysaccharide coatings. En: E. Baldwin, R. Hagenmaier y J. Bai (Ed.). *Edible coatings and films to improve food quality*. p 104-136. CRC Press, Florida.
- Sorrentino**, A., Gorrasi, G. y Vittoria, V. **2007**. Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. *Trends in Food Science & Technology* 18: 84-95
- Souza**, B., Cerqueira, M., Ruiz, H., Martins, J., Casariego, A., Teixeira, J. y Vicente, A. **2010**. Effect of chitosan-based coatings on the shelf life of salmon (*Salmo salar*). *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 58: 11456-11462.
- Tadros**, T., Izquierdo, P., Esquena, J. y Solans, C. **2004**. Formations and stability of nano-emulsions. *Advances in Colloids and Interface Science*. 108-109: 303-318.
- Tajik**, S., Maghsoudlou, Y., Khodaiyan, F., Jafari, S.M., Ghasemlou, M. y Aalami, M. **2013**. Soluble soybean polysaccharide: A new carbohydrate to make a biodegradable film for sustainable green packaging. *Carbohydrate Polymers*. 97: 817-824.
- Tharanathan**, R.N. **2003**. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends in Food Science and Technology*. 14: 71-78.
- Vargas**, M., Pastor, C., Chiralt, A., McClements, J.D. y González-Martínez, Ch. **2008**. Recent advances in edible coating for fresh and minimally processed fruits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 48: 496-511.
- Velásquez**, P., Skurtys, O., Enrione, J., Osorio, F. **2011** Evaluation of Surface free energy of various fruit epicarps using acid-base and Zisman approaches. *Food Biophysics*. 6:349-358
- Villada**, H.S., Acosta, H.A., Velasco, R.J. **2007**. Biopolymers natural used in biodegradable packaging. *Temas agrarios*. 12 (2): 3-13.
- Weiss**, J., Takhistov, P. y McClements, J. **2006**. Functional material in food nanotechnology. *Journal of food science*. 71: R107-R116.
- Wooster**, T.J., Golding, M. Sanguansri, P. **2008**. Impact of oil type on nanoemulsion formation and Ostwald ripening stability. *American Chemical Society*. 24:12758-12765.

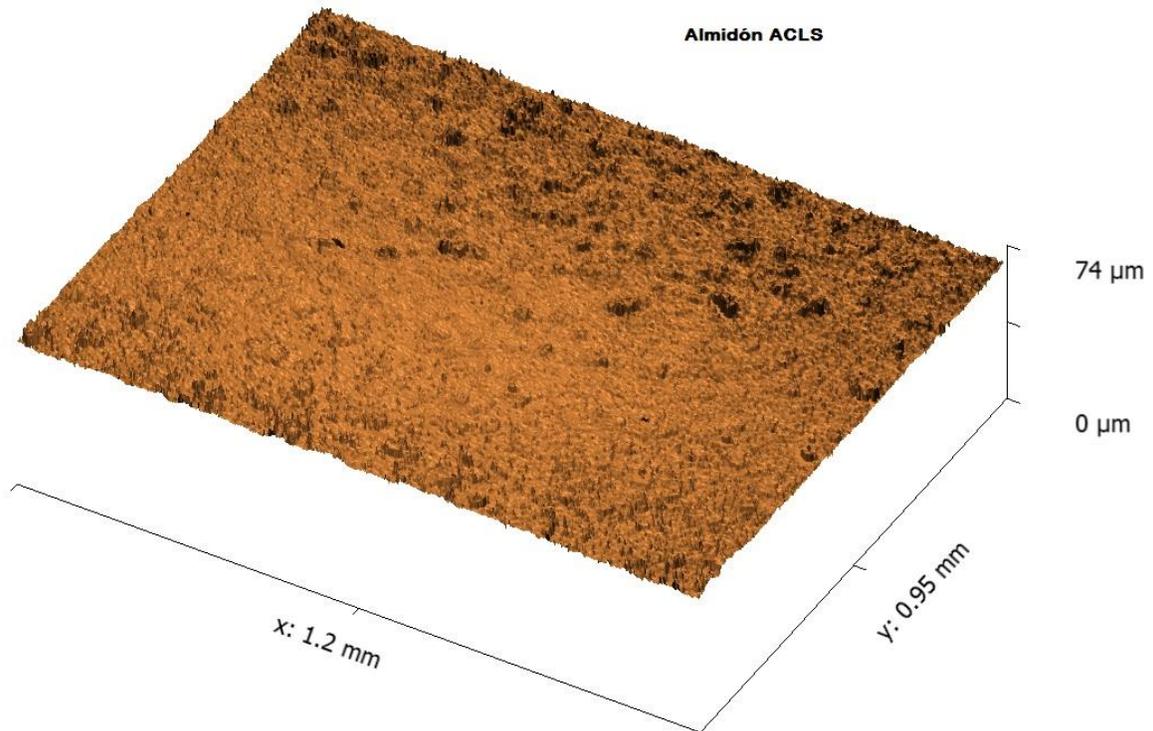
- Yang, H., Irudayarai, J. y Sakhamuri, S. 2001.** Characterization of edible coatings and microorganisms on food surfaces using Fourier transform infrared photoacoustics spectroscopy. *Applied Spectroscopy*. 55: 571-583.
- Yang, H., Irudayarai, J. y Paradkar, M.M. 2005.** Discriminant analysis of edible oils and fats by FTIR, FT-NIR and FT-Raman spectroscopy. *Food Chemistry*. 93: 25-32.
- Yu Koroleva, M. y Yurtov, E.V. 2012.** Nanoemulsions: the properties, method of preparation and promising applications. *Russian Chemical Reviews*. 81: 21-43.
- Zamudio-Flores, P., Bautista-Baños, S., Salgado-Delgado, R. y Bello-Pérez, L.A. 2009.** Effect of Oxidation Level on the Dual Modification of Banana Starch: The Mechanical and Barrier Properties of Its Films. *Journal of Applied Polymer Science*. 112: 822-829.
- Zamudio-Flores, P., Vargas-Torres, A., Salgado-Delgado, R. y Bello-Pérez, L.A. 2010.** Influence of the Oxidation and Acetylation of Banana Starch on the Mechanical and Water Barrier Properties of Modified Starch and Modified Starch/Chitosan Blend Films. *Journal of Applied Polymer Science*. 115: 991-998.
- Zuidema, H.H. y Waters, G.W. 1941.** Ring method for the determination of interfacial tension. *Industrial and Engineering Chemistry*. 13: 312-313.
- Zapf, C.M. 2009.** Application of infrared analysis to edible films. En: M.E. Embuscado y K.C. Huber (Ed.). *Edible films and coatings for food applications*. p: 335-346. Springer, New York.
- Zhou, G.H., Xu, X.L. y Lui, Y. 2010.** Preservation technologies for fresh meat. *Meat Science*. 86: 119-128.
- Zisman, W. A. 1964.** Relation of the equilibrium contact angle to liquid and solid constitution. En: F. M. Fowkes (Ed.). *Contact angle wettability and adhesion*. p: 1-51. American Chemical Society. EUA.

9. APÉNDICE

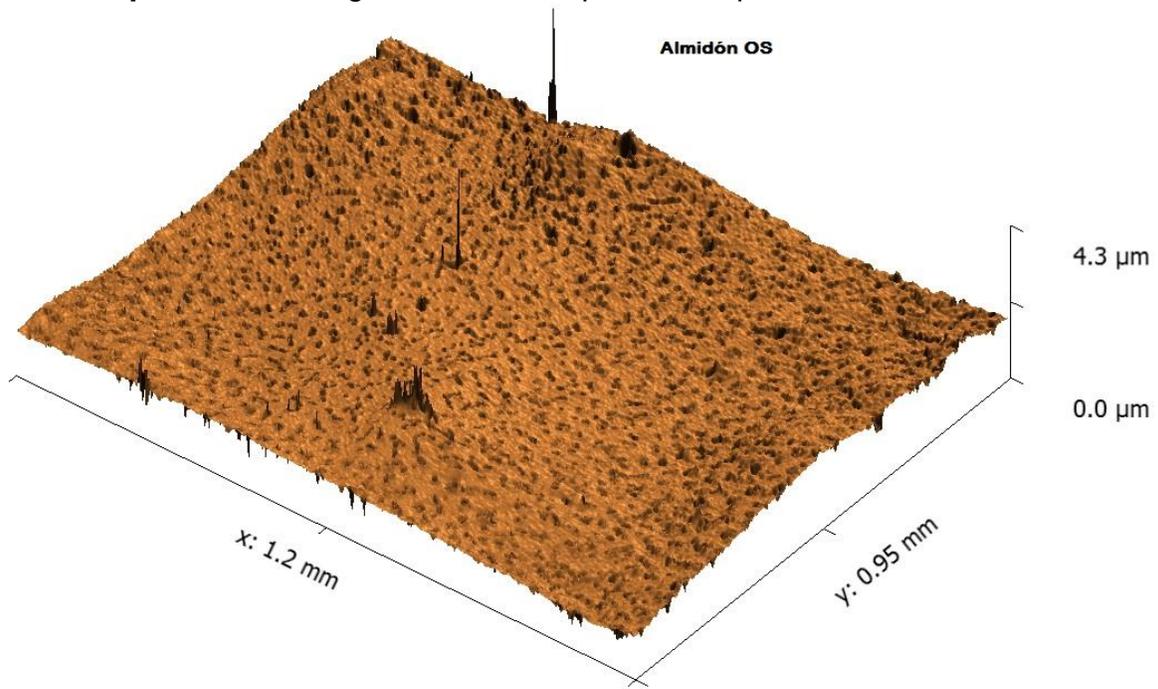
Apéndice 1. Reporte de análisis de potencial Zeta en el software del equipo ZetaPlus.



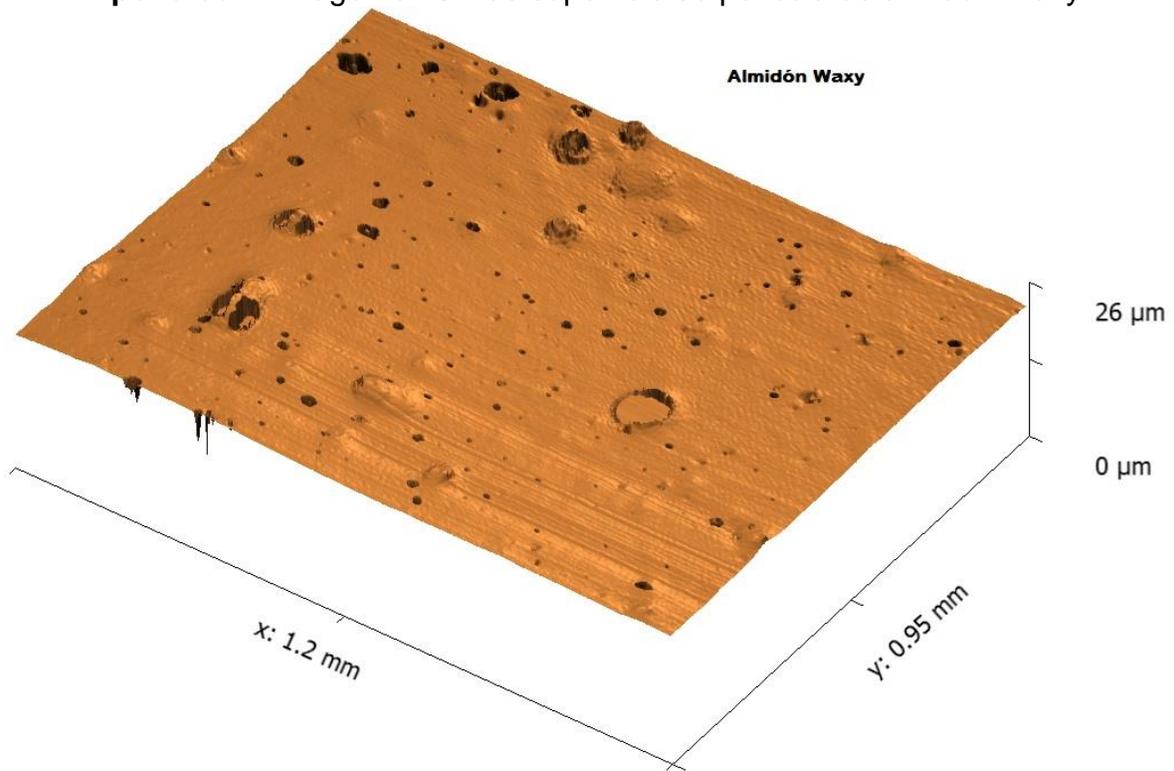
Apéndice 2. Imagen en 3D de superficie de película de almidón ACLS



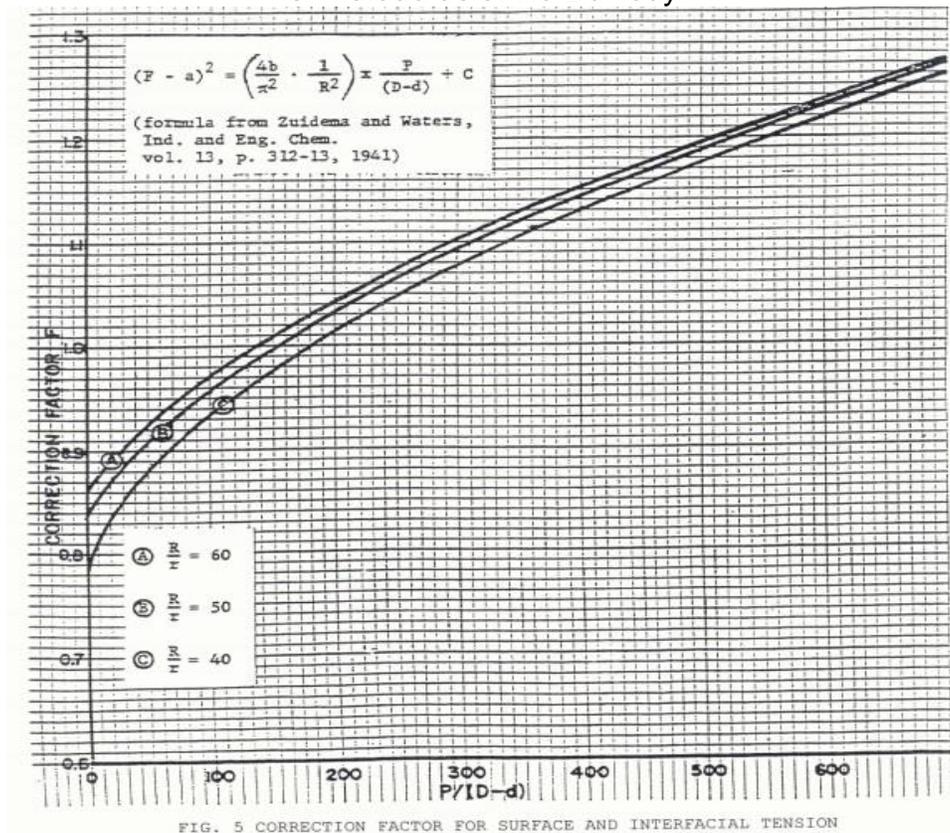
Apéndice 3. Imagen en 3D de superficie de película de almidón OS



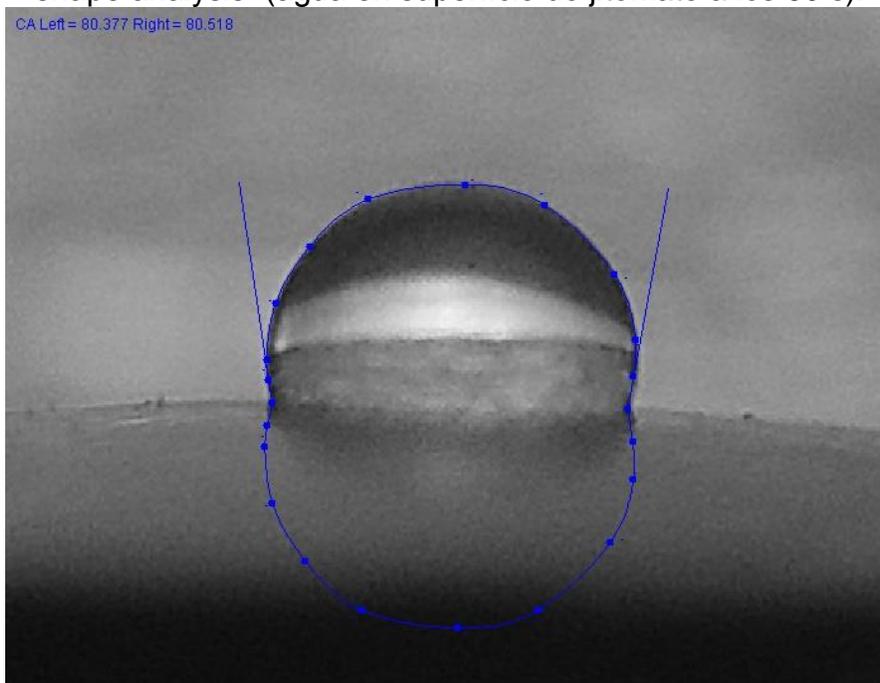
Apéndice 4. Imagen en 3D de superficie de película de almidón Waxy.



Apéndice 5. Grafica para obtener el factor de corrección de tensión superficial por el método de anillo DuNouy.

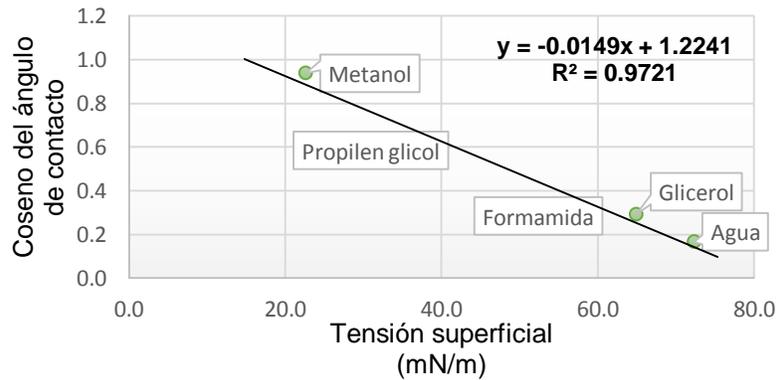


Apéndice 6. Representación del uso del software “image J” con el paquete “Drop shape analysis” (agua en superficie de jitomate a los 60 s).



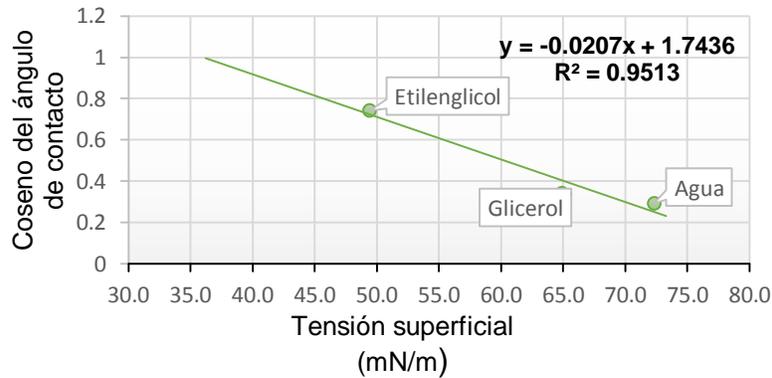
Apéndice 7. Grafica Zisman de Jitomate.

Grafica Zisman "Jitomate"



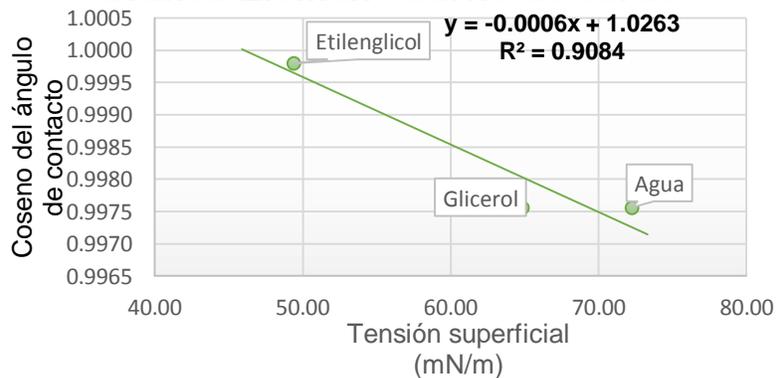
Apéndice 8. Gráfica Zisman de Nuez.

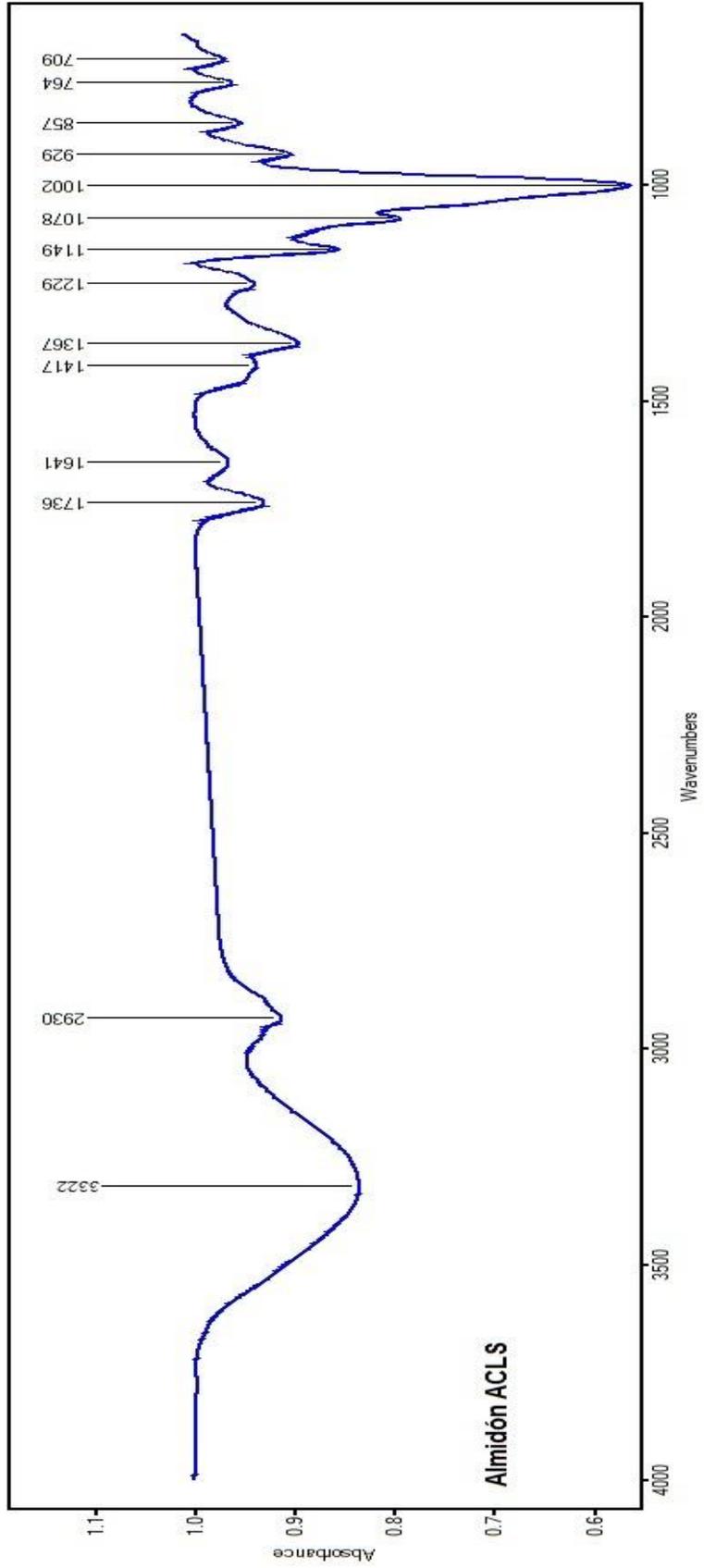
Grafica Zisman "Nuez"



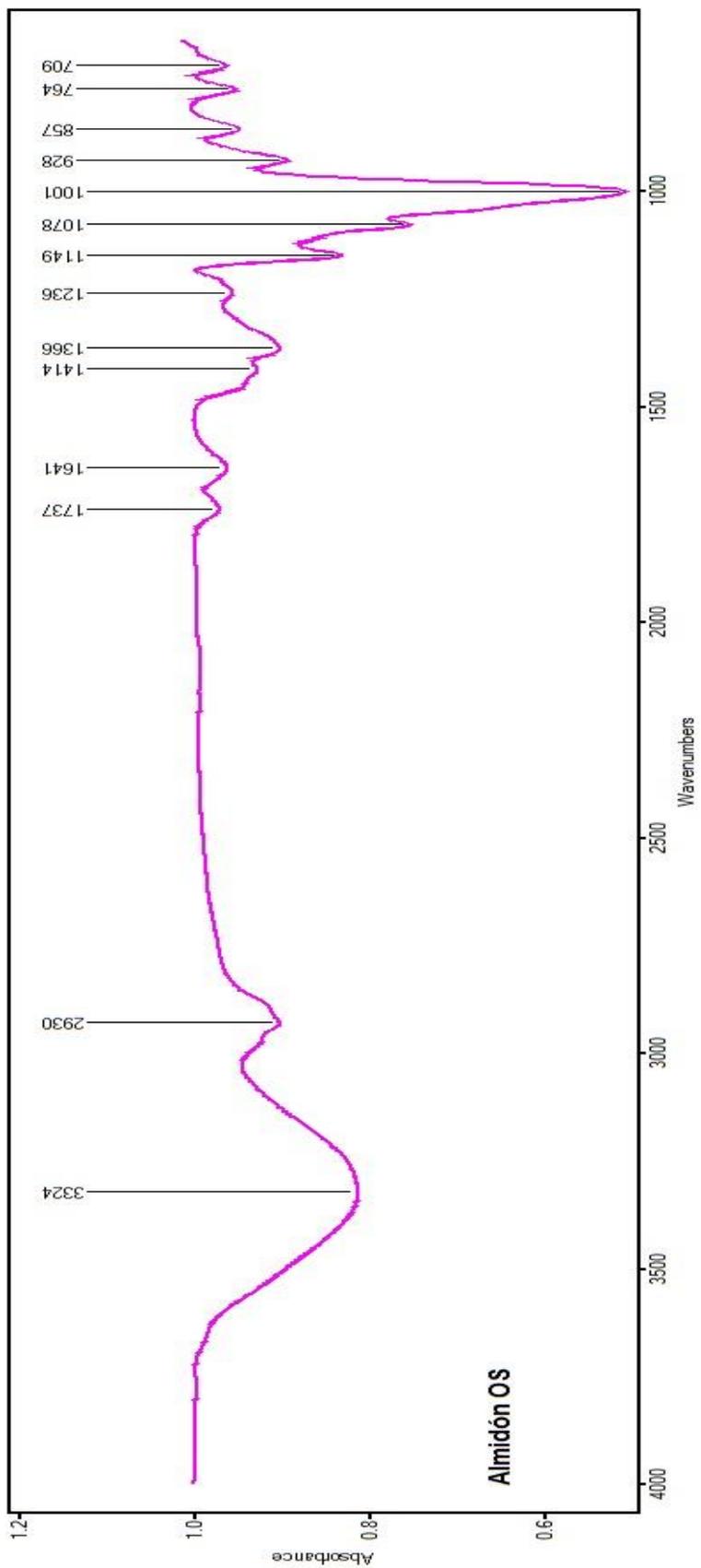
Apéndice 9. Gráfica Zisman de Carne de cerdo.

Grafica Zisman "Carne de cerdo"

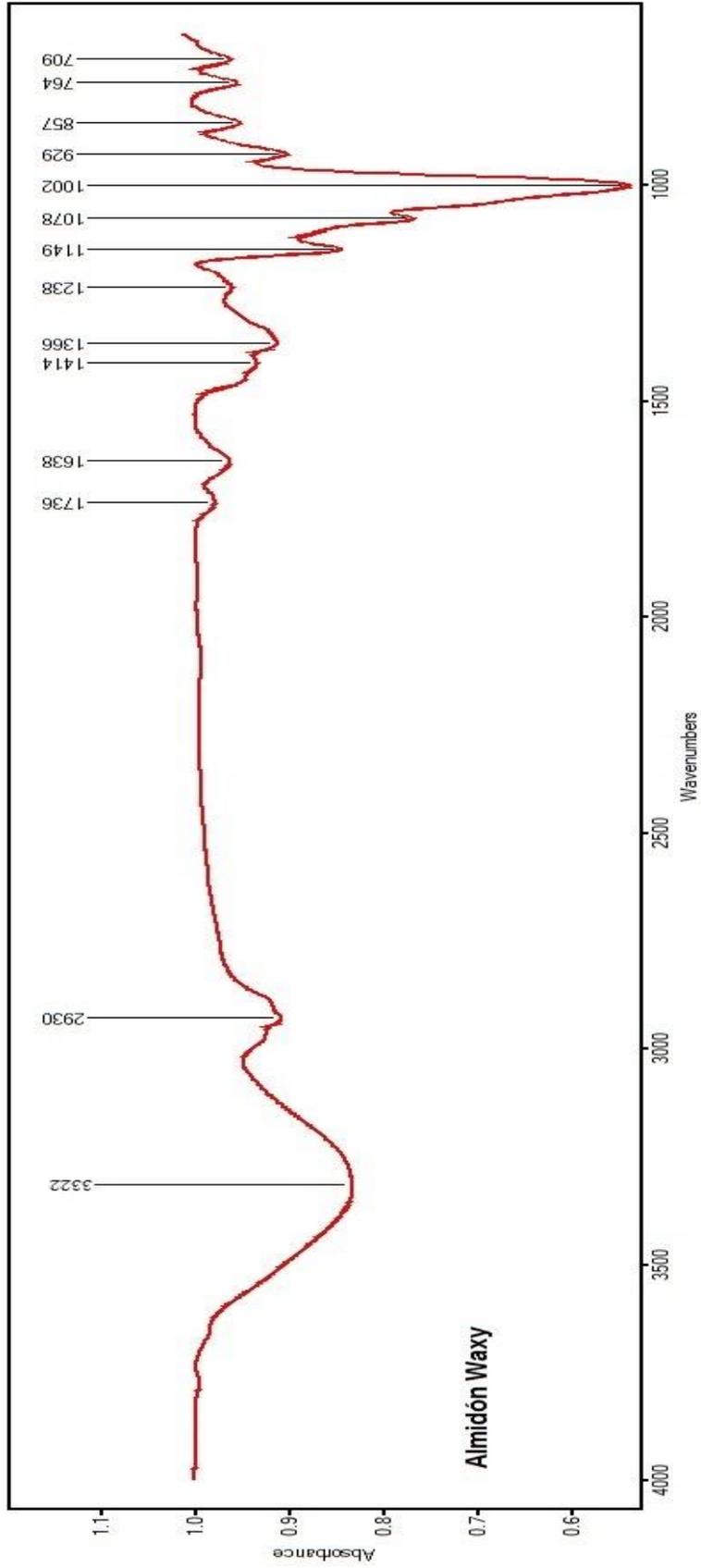




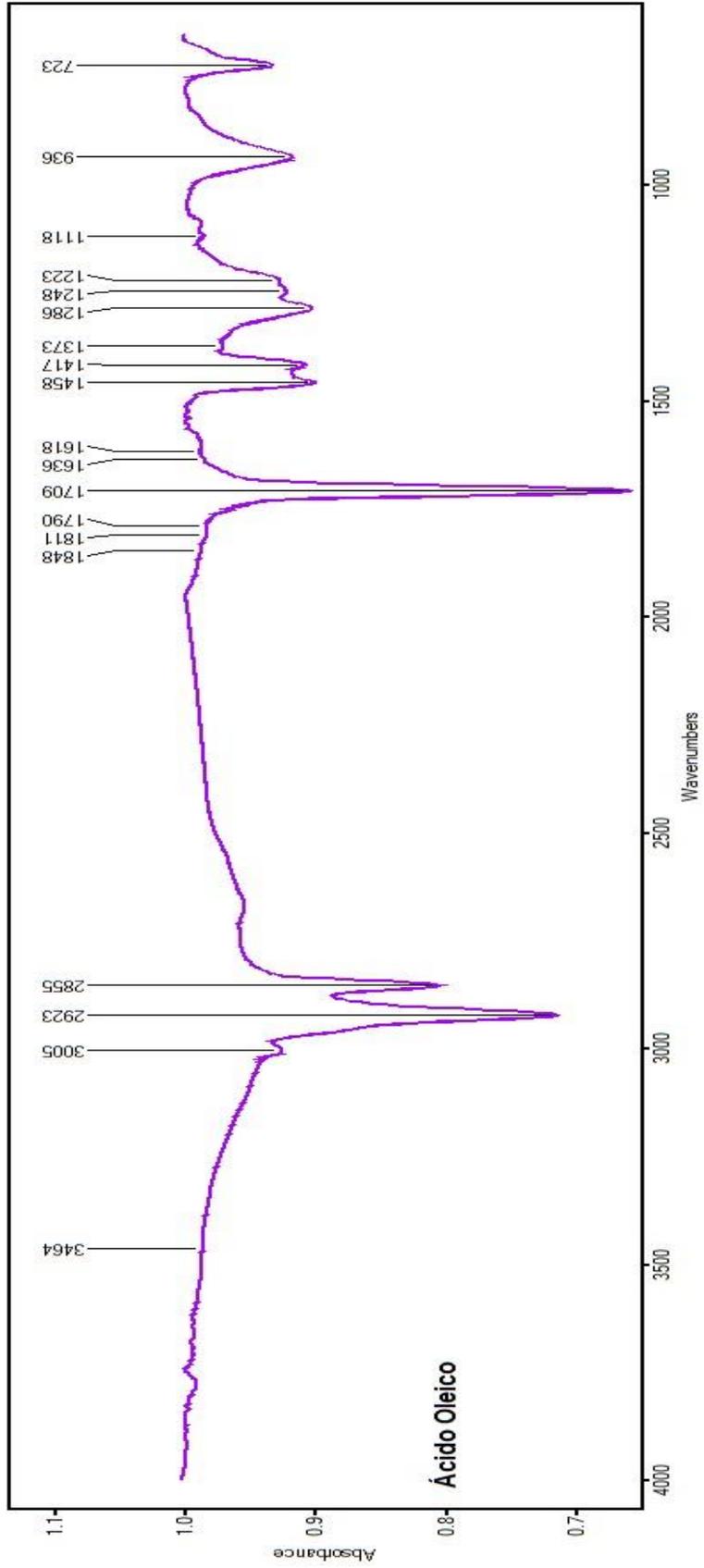
Apéndice 10. Espectro FTIR/ATR de almidón ACLS



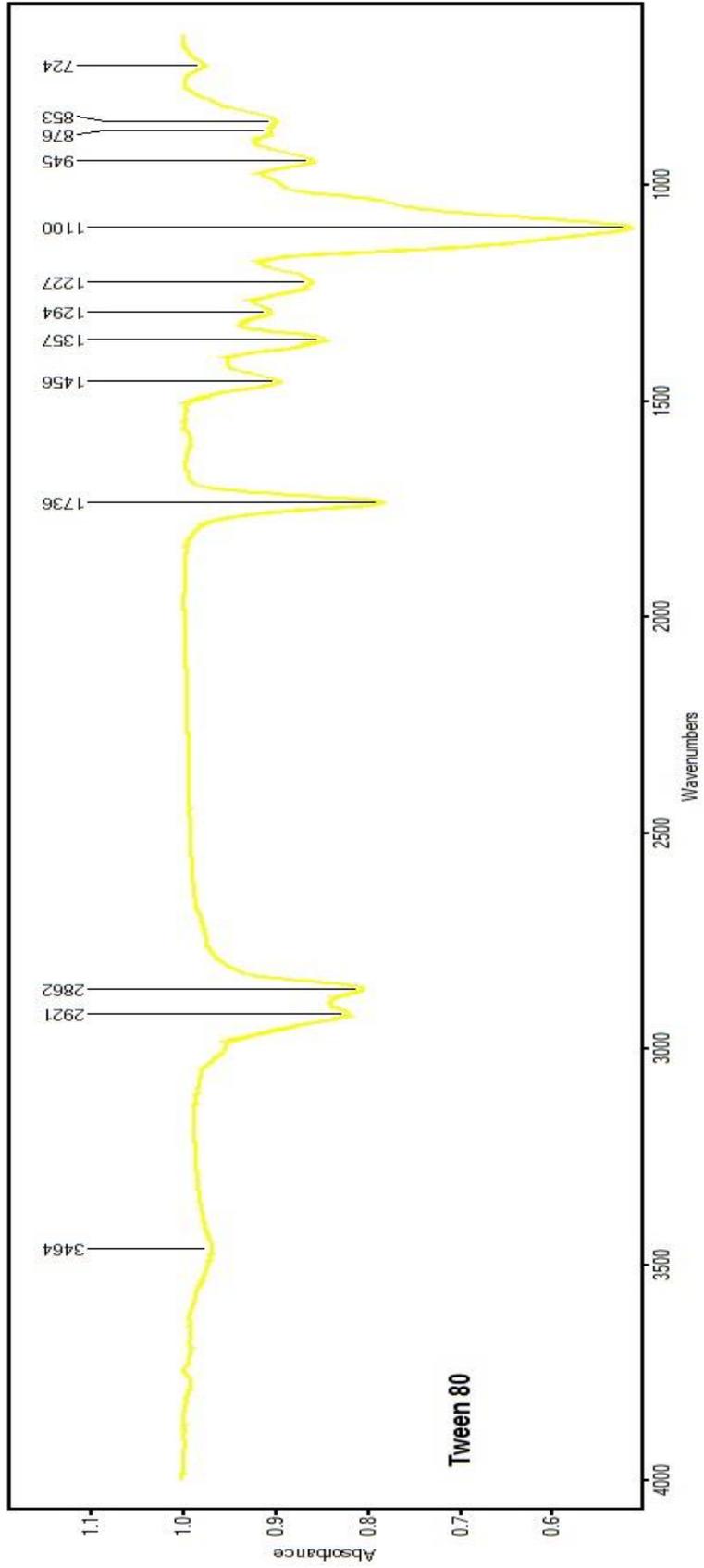
Apéndice 11. Espectro FTIR/ATR de almidón OS



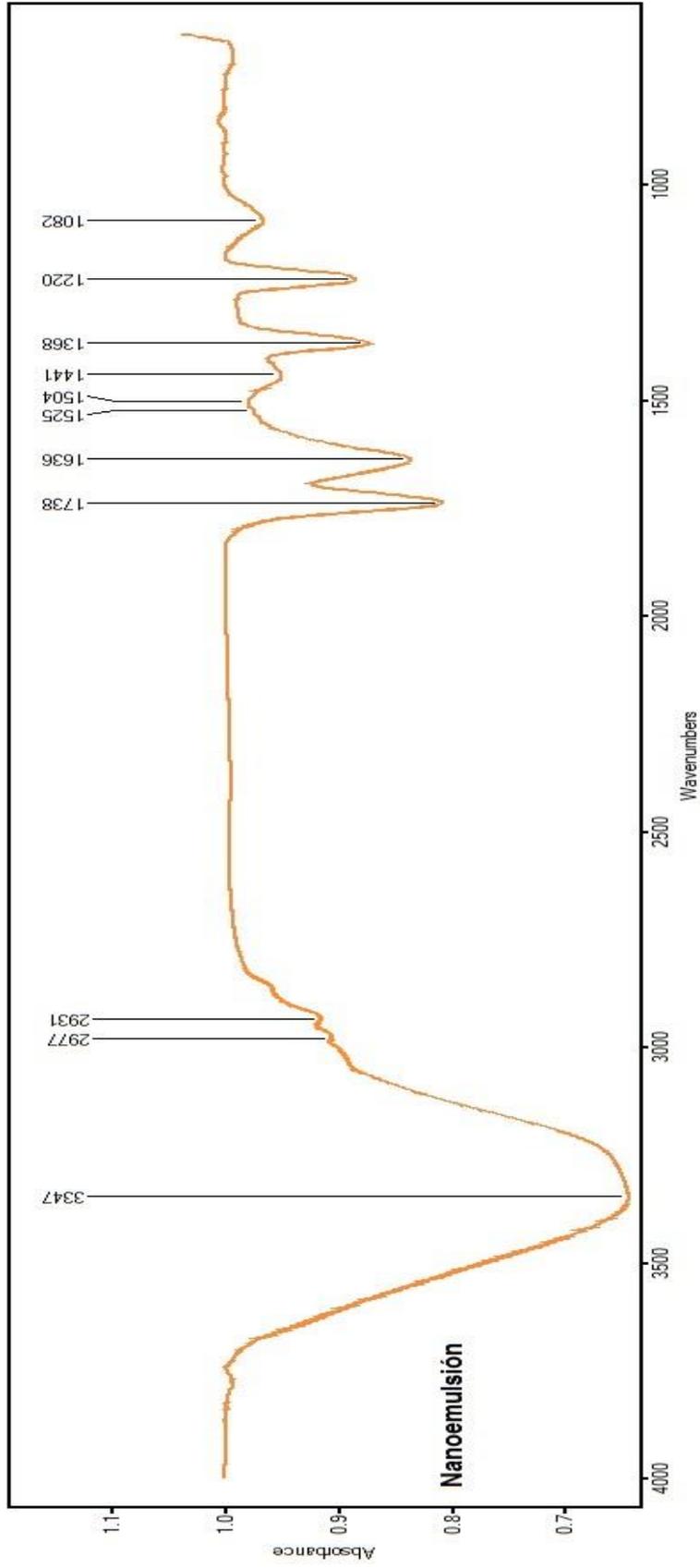
Apéndice 12. Espectro FTIR/ATR de almidón Waxy



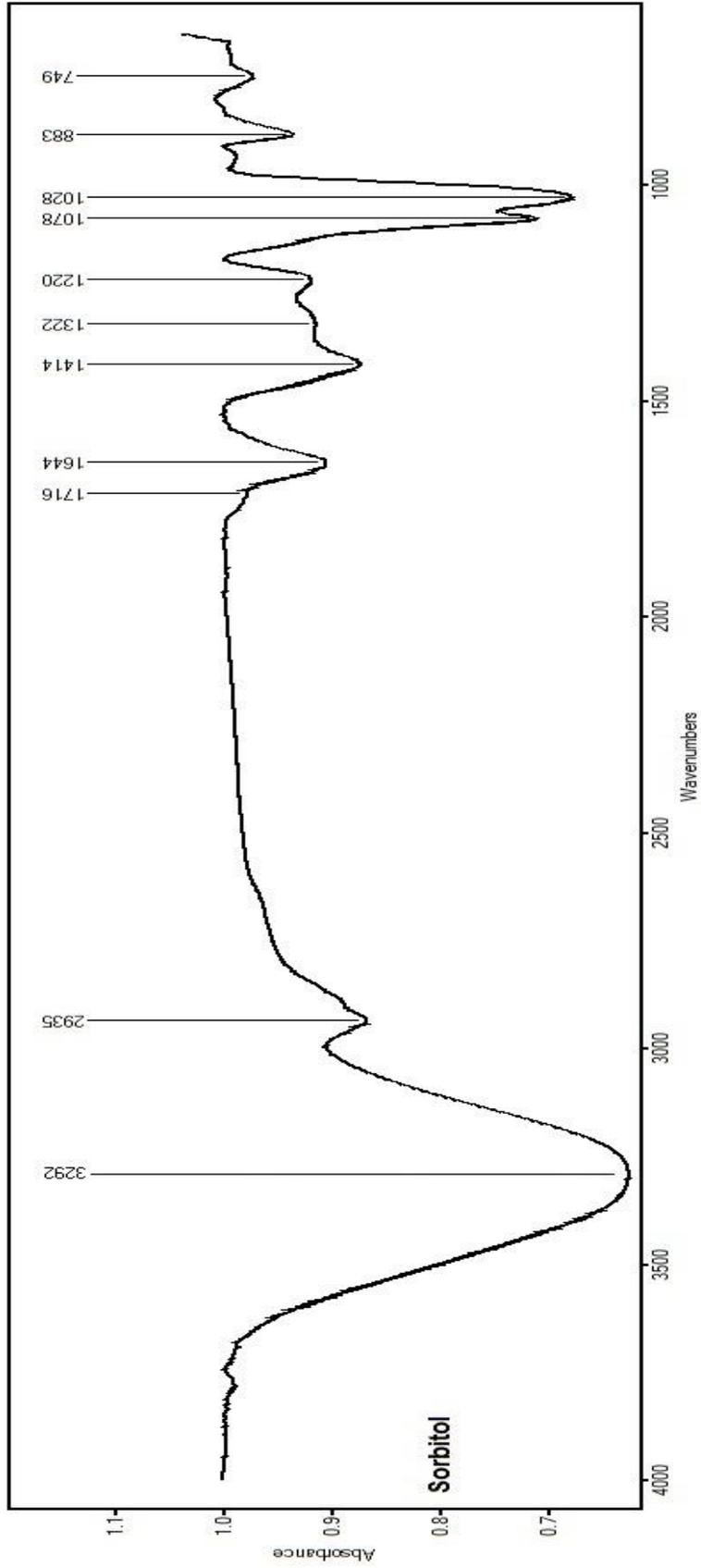
Apéndice 13. Espectro FTIR/ATR de Ácido oleico



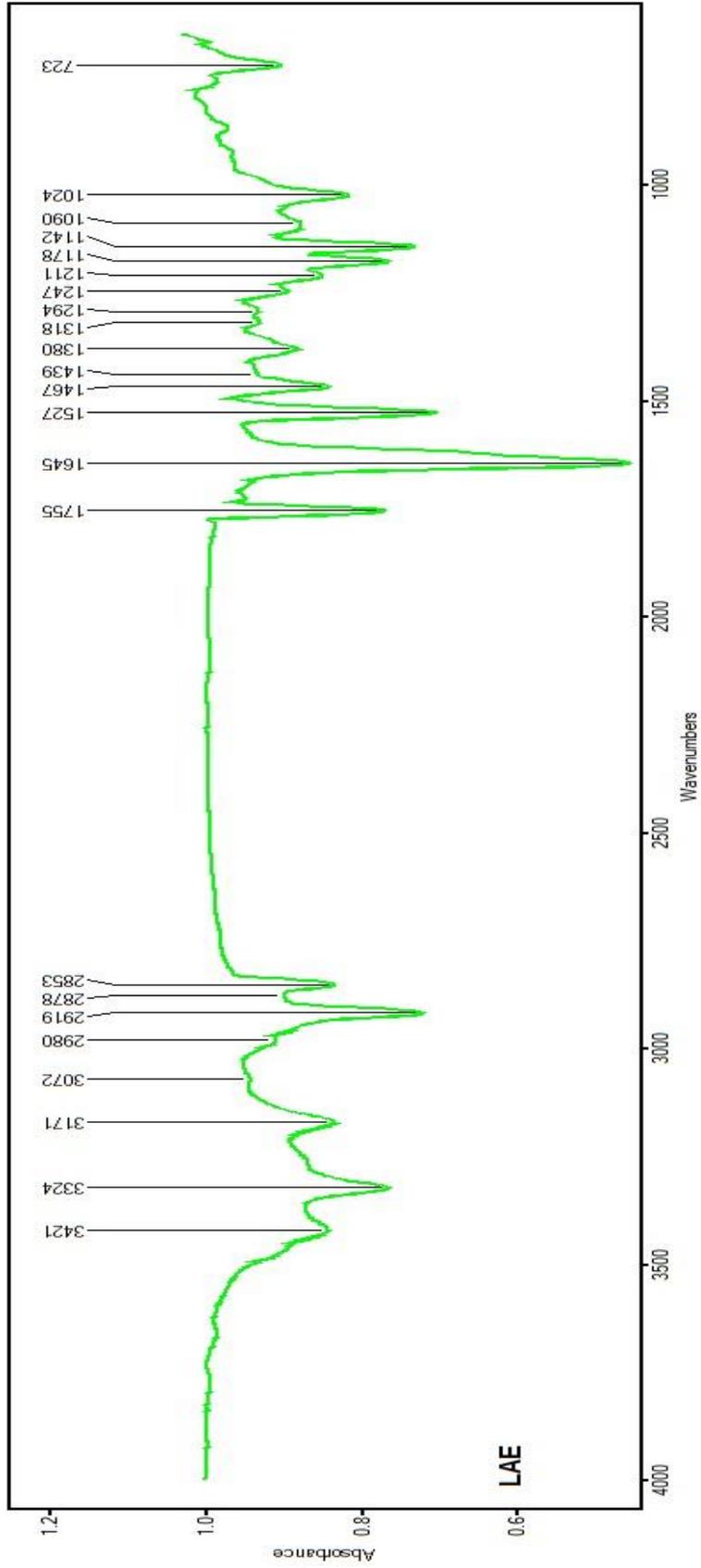
Apéndice 14. Espectro FTIR/ATR de Tween 80



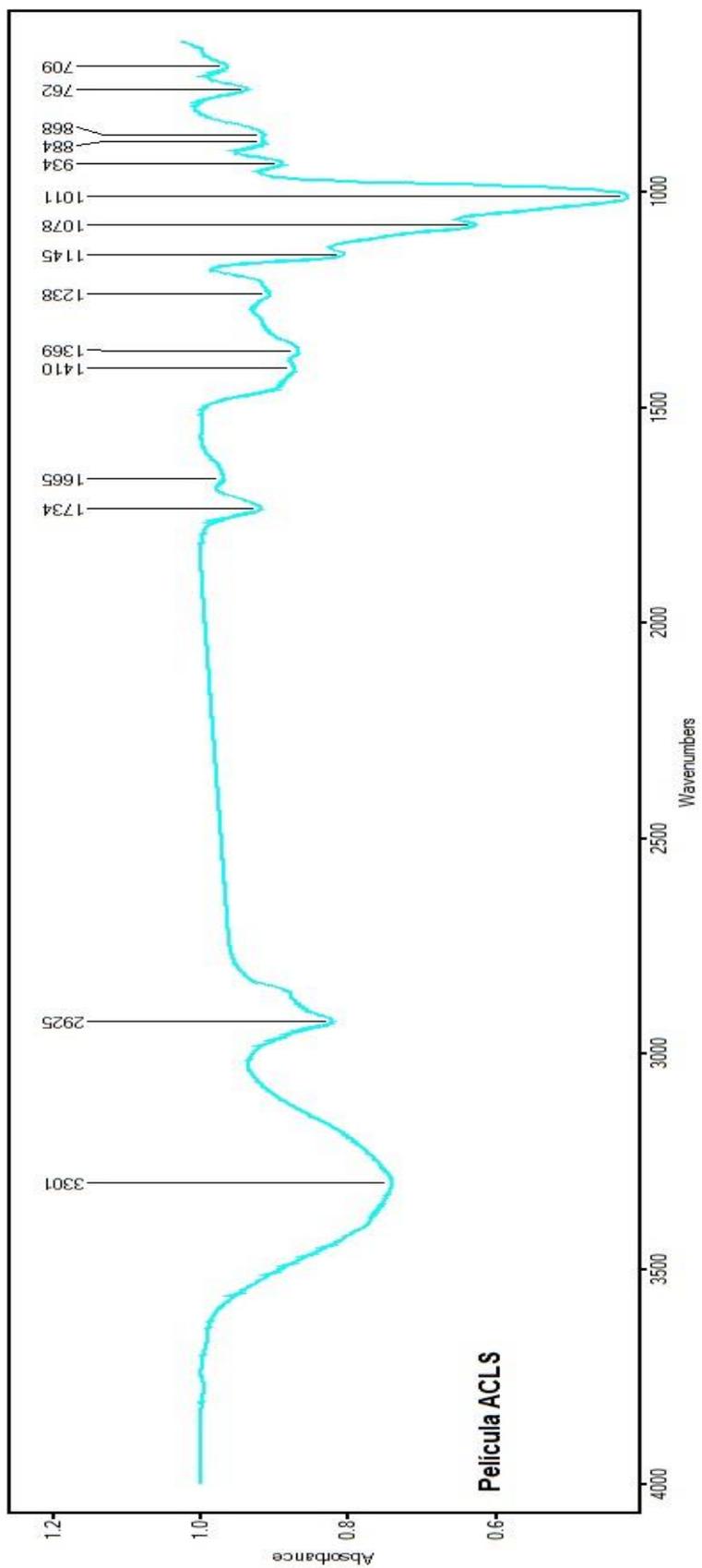
Apéndice 15. Espectro FTIR/ATR de Nanoemulsión



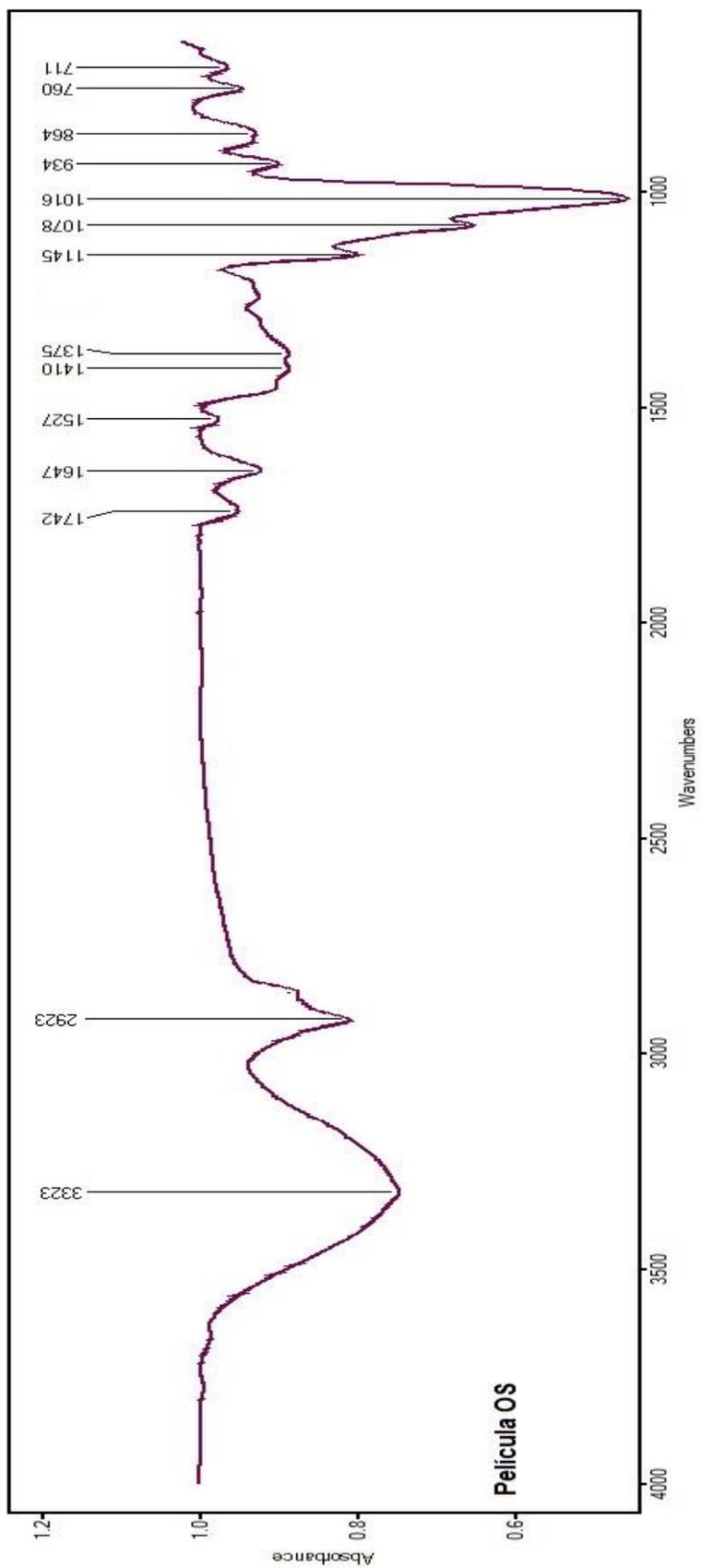
Apéndice 16. Espectro FTIR/ATR de Sorbitol



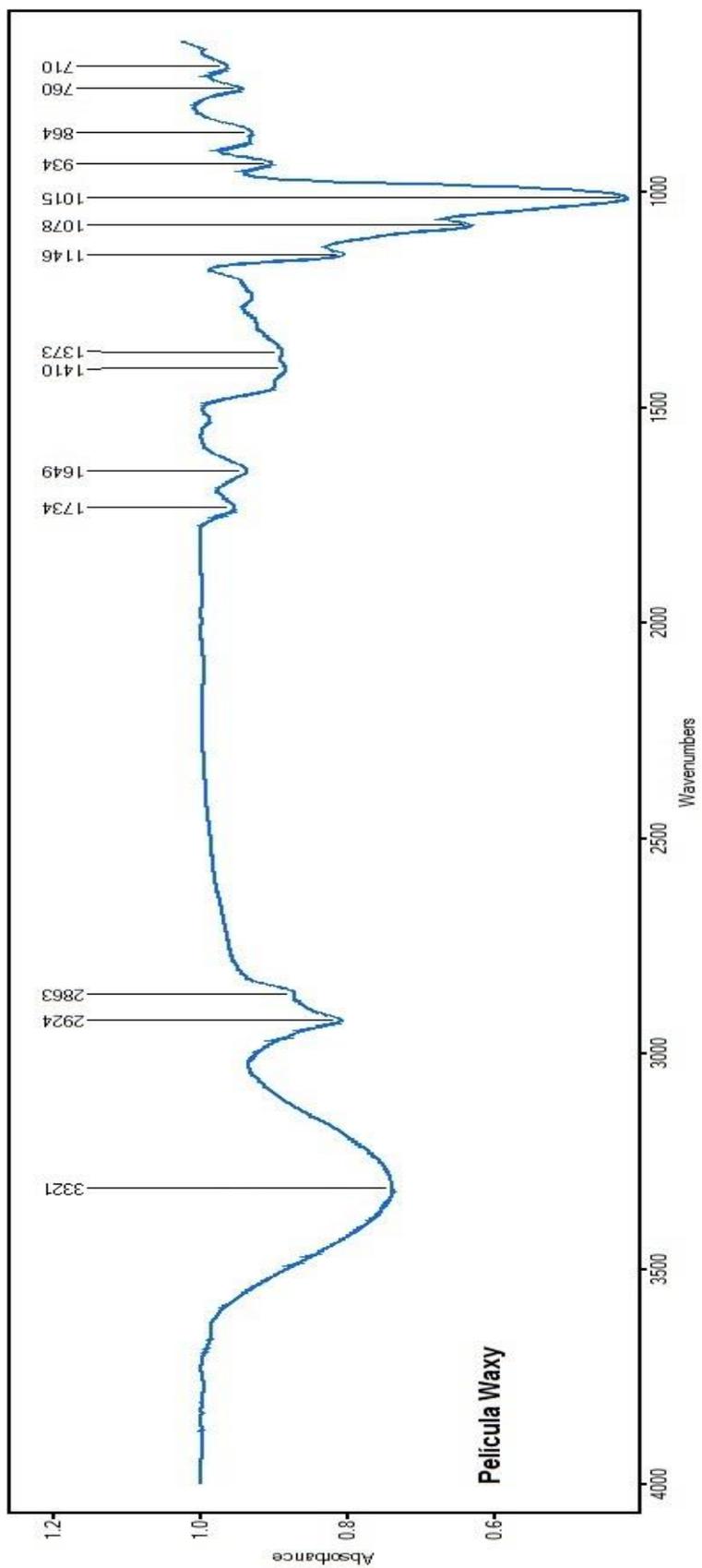
Apéndice 17. Espectro FTIR/ATR de arginato láurico



Apéndice 18. Espectro FTIR/ATR de película de ACLS



Apéndice 19. Espectro FTIR/ATR de película de OS



Apéndice 20. Espectro FTIR/ATR de Película de waxy