

# DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE UNA PELÍCULA ACTIVA BIODEGRADABLE CON ANTIOXIDANTES (ALFA-TOCOFEROL) A PARTIR DE LAS PROTEÍNAS DEL LACTOSUERO

DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF AN ACTIVE BIODEGRADABLE FILM  
WITH ANTIOXIDANTS (ALPHA-TOCOPHEROL) FROM WHEY PROTEINS

Diana GRANDA-RESTREPO, PhD.<sup>1\*</sup>, Yaqueline MEDINA-PINEDA, Estudiante Ingeniería de Alimentos.<sup>1</sup>,  
Mario CULEBRAS-RUBIO, MSc.<sup>2</sup>, Clara GÓMEZ-CLARI, PhD.<sup>2</sup>

Recibido: Noviembre 18 de 2013 Aceptado: Enero 30 de 2014

## RESUMEN

**Antecedentes:** Las proteínas del suero son un subproducto de la industria de derivados lácteos que actualmente se han convertido en una fuente de contaminación de los efluentes. Estudios han mostrado sus excelentes propiedades para la fabricación de películas y recubrimientos con la adición de antioxidantes, considerada como una alternativa ecológica que reduciría el uso de polímeros sintéticos y garantiza la conservación de algunos alimentos. **Objetivo:** El objetivo del presente estudio fue caracterizar las propiedades mecánicas, ópticas, morfológicas y de biodegradación de una película activa, obtenida a partir de las proteínas extraídas del suero de quesería y el antioxidante natural alfa-tocoferol, para ser utilizada en la conservación de diferentes alimentos. **Métodos:** Las películas se elaboraron a partir de una solución 10% (w/w) de concentrado de proteínas de lactosuero (WPC) en agua, se adicionó glicerol como plastificante y alfa-tocoferol al 1 y 2% w/w disuelto en etanol. Se evaluaron las propiedades mecánicas de las películas bajo la norma ASTM D882-01; además, se analizaron por espectrofotometría, microscopía electrónica de barrido (SEM) y se realizó un análisis de biodegradación por control de la pérdida de masa. **Resultados:** Las películas obtenidas presentaron adecuada apariencia física y coloración ligeramente parda. La tensión disminuyó de manera similar con la adición de alfa-tocoferol al 1 y 2%; sin embargo, la más alta elongación se presentó para películas con alfa-tocoferol al 1%. Las películas mostraron una excelente propiedad de barrera, en el rango de 300-400 nm de la región UV. Las fotografías en SEM mostraron las microgotas del antioxidante en la superficie de la película y se confirmó el proceso de biodegradación en las películas evaluadas. **Conclusión:** Las propiedades mecánicas, ópticas, de morfología y biodegradación de las películas fueron directamente afectadas por la cantidad de alfa-tocoferol empleada en la formulación. La incorporación del compuesto natural en las películas de proteína tiene un potencial uso para extender la vida útil de alimentos grasos.

**Palabras clave:** Proteínas de lactosuero, alfa-tocoferol, películas, plastificante, biodegradable.

<sup>1</sup> Grupo de Investigación Biotecnología de Alimentos BIOALI, Departamento de Alimentos, Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia UdeA. Calle 70 No. 52-21, Medellín, Colombia.

<sup>2</sup> Instituto de Ciencia de Materiales. Universidad de Valencia. 46071 Paterna. Valencia, España.

\* Autor a quien se debe dirigir la correspondencia: dianamgranda@gmail.com

## ABSTRACT

**Rationale:** Whey proteins are a by-product of the dairy industry that recently have been considered as a source of contamination of the natural effluents. Several studies have shown their excellent properties for the manufacture of films and coatings with the addition of antioxidants, and have been considered as an ecological alternative that would reduce the use of synthetic polymers while ensuring the preservation of some foods. **Objective:** The main objective of this study was to characterize the mechanical, optical, morphological, and biodegradation properties of an active film obtained from whey cheese proteins and the natural antioxidant  $\alpha$ -tocopherol, for its use in the preservation of different foods. **Methods:** The films were developed from a 10% solution (w/w) of whey protein concentrate (WPC) in water, 7% w/w of glycerol as plasticizer, and  $\alpha$ -tocopherol at 1 and 2% (w/w) dissolved in ethanol were added. Mechanical properties were evaluated under the ASTM D882-01; furthermore, the films were analyzed by spectrophotometry, scanning electron microscopy (SEM) and biodegradation analysis was performed by controlling of mass loss. **Results:** The obtained films showed adequate physical appearance and slightly brown coloration. Tension decreased similarly with the addition of  $\alpha$ -tocopherol at 1 and 2%; however, the highest elongation was for films with  $\alpha$ -tocopherol at 1%. The films showed excellent barrier property in the range of 300-400 nm of the UV region. The SEM photographs showed the droplets of the antioxidant on the surface of the film, and the biodegradation of films was confirmed in the evaluated films. **Conclusion:** Mechanical, optical, morphology, and biodegradation properties of the films were directly affected by the amount of  $\alpha$ -tocopherol used in the formulation. The incorporation of the natural compound in the films of protein has potential use to extend shelf life of fatty foods.

**Keywords:** Whey proteins,  $\alpha$ -tocopherol, films, plasticizer, biodegradable.

## INTRODUCCIÓN

El envasado de alimentos se ha usado a través de los tiempos para proteger los productos alimenticios de su entorno y para mantener la calidad de los mismos. Muchos materiales se han empleado para la fabricación de envases, pero la mayoría están hechos de plásticos sintéticos y tienen un uso generalizado, gracias a sus buenas propiedades mecánicas y su eficacia como barrera al oxígeno y al agua. Sin embargo, las películas de envase sintéticas representan un grave problema ecológico debido a su no biodegradabilidad. (1)

Esta preocupación ha llevado a los investigadores a desarrollar nuevos materiales que puedan cumplir con la función de envases para alimentos que, además de proteger, y conservar, sean amigables con el medio ambiente. Buscando satisfacer esta necesidad, se han estudiado películas a partir de recursos renovables, tales como la caseína, la soya, el maíz, la zeína, la queratina, el colágeno, el gluten de trigo, la albúmina de huevo y el suero de leche. (2-13)

De estas materias primas, se ha mostrado bastante interés en el suero de leche, debido a que es considerado un desecho industrial. El suero es el líquido resultante de la coagulación de la leche durante la elaboración del queso, el cual se obtiene

tras la separación de las proteínas (caseínas) y de la grasa. Este líquido constituye aproximadamente el 90% del volumen de la leche y la mayor parte de sus compuestos son solubles en agua. Dentro de la composición del suero, se pueden encontrar compuestos como agua, lactosa, proteínas con alto valor nutricional, vitaminas hidrosolubles y minerales como sodio, potasio, magnesio, cloruro y fosfato (14). Las principales proteínas de suero son  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -Lg) y  $\alpha$ -lactalbúmina ( $\alpha$ -LA), que constituyen cerca del 50% y 20% del total, respectivamente, mientras que, las inmunoglobulinas, la albúmina de suero bovino, las peptonas proteicas y otras proteínas menores, complementan la composición proteica de este derivado (15).

Las películas y recubrimientos elaborados, a partir de lactosuero, constituyen una alternativa de uso para un subproducto agrícola que, a pesar de su alto valor nutricional, es considerado un residuo de la industria quesera y, durante años, se han buscado aplicaciones para su aprovechamiento y, con ello, evitar su contaminación en efluentes.

Las propiedades funcionales de la fracción proteica del suero, especialmente los aislados de  $\alpha$ -lactoalbúmina y la  $\beta$ -lactoglobulina, tienen alto potencial para la elaboración de películas comestibles y envases flexibles. Productos que, además de

actuar como barreras selectivas para la migración de humedad, gas y soluto, pueden funcionar como vehículos de muchos ingredientes funcionales, tales como antioxidantes, agentes antimicrobianos, sabores, especias y colorantes que mejoran la funcionalidad de los materiales de envase (16).

Los antioxidantes se pueden incorporar en las películas con el fin de elaborar envases activos que permitan mejorar la estabilidad, funcionalidad y seguridad de los alimentos contenidos, lo que contribuye a la conservación de la calidad en los productos (17). Algunas investigaciones se han realizado con el fin de conocer el efecto de la incorporación de antioxidantes sobre una matriz biopolimérica (18-21). Sin embargo, pocos estudios se han llevado a cabo para analizar el efecto de la adición de alfa-tocoferol en películas de proteína de lactosuero (22-23). En este contexto, unas adecuadas características mecánicas, ópticas, morfológicas y de biodegradación de la película, elaborada a partir de proteínas de lactosuero y con antioxidantes, permiten un mayor acercamiento a la utilización de este subproducto como materia prima para la elaboración de envases activos para alimentos. Por tanto, el objetivo de este estudio fue desarrollar y caracterizar una película activa biodegradable, a partir de las proteínas extraídas del suero de quesería y el antioxidante natural alfa-tocoferol, con las propiedades adecuadas para la protección y almacenamiento de diferentes alimentos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materiales

Para la elaboración de las películas se empleó proteína concentrada de lactosuero con 80% de proteína y 7% w/w de lactosa, suministrada por la empresa Tecnas S.A (Medellín, Ant, COL); alfa-tocoferol sintético con 98% de pureza, suministrado por Alfa Aesar (Ward Hill, MA, USA); glicerol de 99% de pureza y etanol al 98%, suministrados por Panreac (Montcada i Reixac, Barna, ESP). Para las soluciones formadoras de las películas se empleó agua destilada.

### Preparación de la solución formadora de las películas

Para la elaboración de la solución formadora de películas se siguió el procedimiento descrito previamente (23), con algunas modificaciones. En este sentido, la proteína concentrada de lactosuero fue

disuelta en agua destilada a temperatura ambiente y con agitación constante hasta la obtención de una solución del 10% (w/w) de proteína. La mezcla se llevó a un baño María con una temperatura de 85° C por 20 min. La solución obtenida fue expuesta a un choque térmico con hielo por 15 minutos con agitación. Inmediatamente, se adicionó 7% de glicerol, como plastificante, y se mantuvo la agitación constante.

### Incorporación del alfa-tocoferol como antioxidante

La solución formadora de las películas fue puesta en un agitador Dispermat<sup>®</sup> R11 (Hemel, Herts, U.K) a 3000 rpm por 5 minutos y se agregó el alfa-tocoferol, a concentraciones de 1 y 2%, usando etanol puro como solvente para lograr la dispersión. La solución obtenida fue desgasificada durante 3 minutos usando un SpeedMixer Dac 400FVZ (Landrum, SC.USA). 10 mL de la solución obtenida fueron transferidos a cajas de Petri (12.5 cm de diámetro) de polietileno de alta densidad (HDPE). Las películas se formaron por secado de las soluciones, durante 48 horas a 23 °C en una campana de extracción.

Para las pruebas mecánicas, se realizó una modificación al procedimiento anterior. En este caso la solución obtenida fue vertida en placas recubiertas de teflón (20\*30 cm) y, para controlar el espesor, se vertió la misma cantidad de solución (40 mL) para cada tratamiento con alfa-tocoferol al 1% y 2%. Como testigo, se elaboró una película sin incorporación del antioxidante (alfa-tocoferol 0%). Estas películas se secaron en campana de extracción a temperatura ambiente por 48 horas y se almacenaron en condiciones controladas con humedad relativa de 50% y temperatura de 23° C.

### Caracterización de propiedades en tracción

El espesor de las películas se determinó con un calibrador digital Mitutoyo Absolute (Aurora, IL, USA). El porcentaje de elongación, la fuerza de tensión y el módulo de Young se determinaron utilizando probetas rectangulares (25.4\* 150 mm) y un espesor promedio de 0.28 mm con una separación entre mordazas de 100 mm, utilizando una máquina universal Multitest 1-i (Slinfold, West S. U.K), con una velocidad de 50 mm/min y un porcentaje de caída del 10% según la norma ASTM D882-01. Se realizaron 10 ensayos de cada sistema.

### Transmisión de luz de la película

Las propiedades de barrera a la luz ultravioleta y a la luz visible fueron medidas en las películas en un rango entre 300 y 800 nm, para lo cual se midió la transmitancia usando un espectrofotómetro Shimadzu UV-Vis UV-2501pc (Columbia, MD, U.S.A). Se realizaron tres medidas para cada sistema con películas de 50\*30 mm.

### Caracterización morfológica por microscopía electrónica de barrido

La caracterización morfológica se realizó con un microscopio electrónico de barrido (SEM) Hitachi S4800 (Urbana, IL, USA) a un voltaje de 10 kV, para las muestras en su estado original. Para identificar la presencia de las microgotas del antioxidante natural, se observó la superficie de las películas con y sin alfa-tocoferol.

### Biodegradación de las películas

Se evaluó la biodegradación de las películas elaboradas con alfa-tocoferol al 0%, 1% y 2%. Las muestras fueron evaluadas por triplicado, en compost preparado a partir de residuos de hojas secas, tallos, paja, cáscaras de frutas y tierra. Las películas fueron moldeadas en probetas de 2\*4 cm y se dispusieron en el compost manteniendo una humedad relativa entre 30-50%.

La pérdida de masa y apariencia física de las películas se evaluó en el tiempo hasta observar su biodegradación. Para ello, en tiempos seleccionados se retiraron las películas del compost, se limpiaron suavemente con una brocha y se pesaron en balanza analítica. Se calculó el porcentaje medio de pérdida de masa de cada tipo de material.

### Análisis estadístico

Los datos de propiedades mecánicas fueron procesados en el programa SPSS para Windows®, versión 19. En el análisis de las variables con distribución normal se utilizaron promedios y desviación estándar (DE) para la comparación entre los grupos. En todos los análisis se consideró un nivel de significancia del 95%.

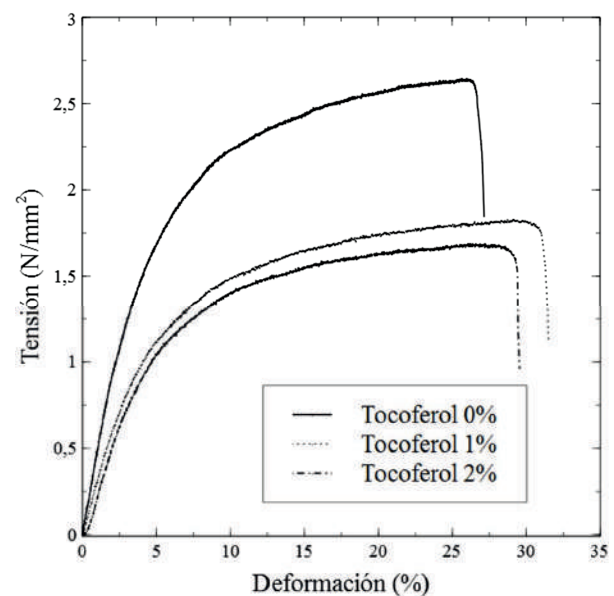
## RESULTADOS

Para todas las películas del ensayo con incorporación de alfa-tocoferol al 0%, 1% y 2% se obtuvieron soluciones estables, viscosas y fluidas de coloración cremosa y sin presencia de burbujas.

En la incorporación de alfa-tocoferol con etanol puro como solvente, se logró apreciar que la viscosidad de la solución disminuía notablemente, a mayor concentración de alfa-tocoferol menor era la viscosidad de la solución formadora de la película, lo que causó un aumento en su fluidez. Además, se observó que el etanol permitió conservar las propiedades físicas de color y ausencia de burbujas en la solución. Después del proceso de secado, todas las películas presentaron características muy similares entre ellas, con adecuada apariencia física, maleables y dúctiles, coloración ligeramente parda y con ausencia de burbujas. Las películas con incorporación de alfa-tocoferol mostraron sinéresis en la superficie, debido al carácter no polar de este compuesto.

### Caracterización mecánica en tracción

En la figura 1 se muestran las curvas características de tensión-deformación para cada uno de los tres sistemas estudiados; mientras que en la tabla 1 se resumen los valores numéricos obtenidos después de los ensayos de tracción.



**Figura 1.** Curva de tensión-deformación en películas de proteína de lactosuero con incorporación de alfa-tocoferol en diferentes concentraciones.

En general, se observó que la incorporación del antioxidante afectó las propiedades mecánicas de la película, causando una disminución en la tensión nominal a la ruptura, y mostrando que, aunque no hay diferencia significativa entre las películas con alfa-tocoferol al 1% y al 2% w/w, se aprecia una notoria diferencia entre éstas y la película testigo sin tocoferol.

La adición del antioxidante alfa-tocoferol tiene efecto sobre las propiedades mecánicas de las películas (tabla 1). En este sentido, la muestra elaborada sin adición de alfa-tocoferol resultó ser más rígida que las películas a las que se les incorporaron alfa-tocoferol en concentraciones de 1 y 2 %. La rigidez más alta en las películas sin alfa-tocoferol se corroboró con el resultado del Módulo de Young, debido a que en dichas muestras se obtuvo estadísticamente el valor más alto. A su vez, se evidenció un efecto plastificante, ejercido por el antioxidante natural sobre las muestras después de su incorporación.

**Tabla 1.** Comparación de propiedades mecánicas de películas de proteína de lactosuero con incorporación de alfa-tocoferol a concentraciones de 0%,1% y 2%.

Películas	Tensión nominal a la ruptura (N/mm <sup>2</sup> )	Deformación total (%)	Módulo de Young (N/mm <sup>2</sup> )
Alfa-tocoferol 0%	0.71±0.05	27.69±0.98	12.45±0.75
Alfa-tocoferol 1%	0.49±0.02	31.37±2.71	7.49±0.55
Alfa-tocoferol 2%	0.50±0.03	26.15±2.06	8.73±0.55

Los valores corresponden al promedio ± desviación estándar de 10 réplicas. En el análisis de las variables con distribución normal se utilizaron promedios y desviación estándar para la comparación entre los grupos.

### Transmisión de luz de las películas

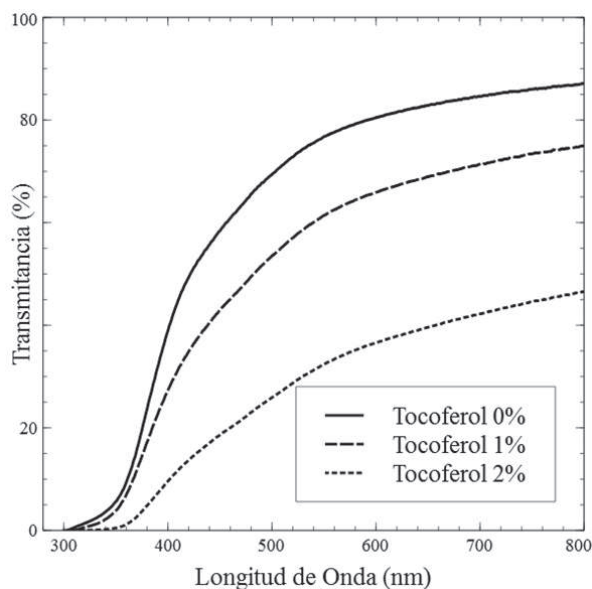
La exposición a la luz visible y ultravioleta (UV-Vis) produce el deterioro oxidativo de los alimentos envasados, lo que lleva a la pérdida de nutrientes (vitaminas A, C y riboflavina), alteración del color y volatilización de sabores (18). Por ello, es necesario verificar la barrera a la luz que presentan estos materiales a longitudes de onda entre 350 y 600 nm, donde se presenta el mayor deterioro en los productos exhibidos en estanterías. En la tabla 2 y en la figura 2 se presentan los resultados obtenidos en la caracterización óptica de las películas. En este sentido, la adición de alfa-tocoferol a la formulación influyó directamente en la absorbancia y transmitancia de la película (a mayor porcentaje de alfa-tocoferol mayor absorbancia y menor transmitancia de las películas).

En la figura 2 se presenta el barrido que se realizó entre 300 y 800 nm para verificar la barrera a la luz que presentan estos materiales a longitudes de onda que causan gran impacto negativo sobre los alimen-

tos. Se observó que a valores menores de 350 nm, las películas con tocoferol o sin tocoferol transmitieron la menor cantidad de luz; además, en todo el barrido, se evidencia que a mayor porcentaje de tocoferol adicionado, menor es la medida de la transmitancia en las muestras y, por tanto, se presentó un mejor efecto protector sobre los alimentos envasados.

**Tabla 2.** Comparación de propiedades ópticas de las películas de proteína de lactosuero con incorporación de alfa-tocoferol a concentraciones de 0%,1% y 2%.

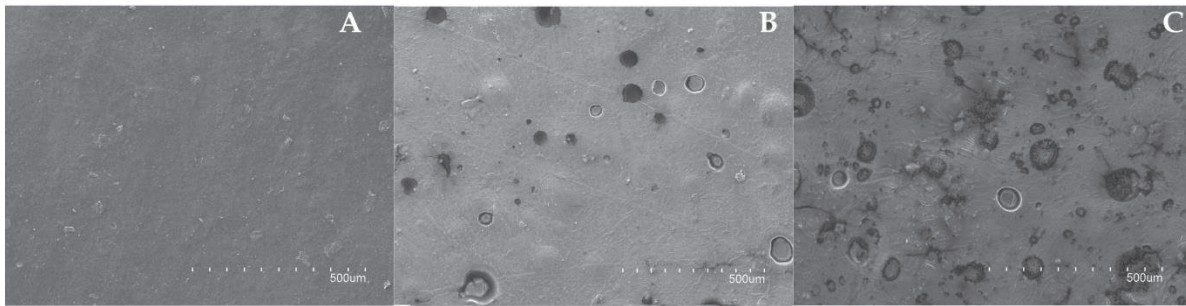
alfa-tocoferol	Espesor (mm)	Absorbancia a 600 nm
0%	(0.26±0.03)	(0.1±0.02)
1%	(0.25±0.05)	(0.24±0.06)
2%	(0.33±0.06)	(0.44±0.03)



**Figura 2.** Características de transmisión de luz para films de lactosuero con incorporación de alfa-tocoferol a concentraciones de 0%,1% y 2%.

### Caracterización morfológica por microscopía electrónica de barrido

El análisis de la microestructura de las películas permite obtener información sobre la organización de sus componentes. En la figura 3 se presentan imágenes de la superficie de las películas con y sin incorporación de alfa-tocoferol. La microestructura de las películas se estudió cualitativamente con el objetivo de observar el efecto del antioxidante sobre la estructura de la película.

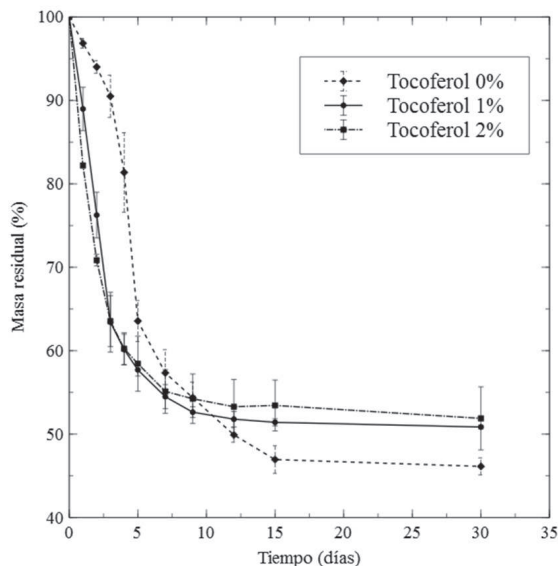


**Figura 3.** Imágenes de microscopía electrónica de barrido de superficie de las películas de proteínas de lactosuero con incorporación de alfa-tocoferol a concentraciones de 0% (A), 1% (B) y 2% (C).

En la figura 3A se observa la superficie de la película de proteína de lactosuero plastificada con glicerol y sin adición de alfa-tocoferol, donde se presentó una fase homogénea comparada con las figuras 3B y 3C, en las que se observaron defectos en su estructura como burbujas o microgotas que representan el alojamiento del alfa-tocoferol en la película.

### Análisis de biodegradación

El análisis de biodegradación, de las películas testigo y con alfa-tocoferol al 1% y 2%, se realizó en un compost casero, simulando la degradación en un relleno sanitario.

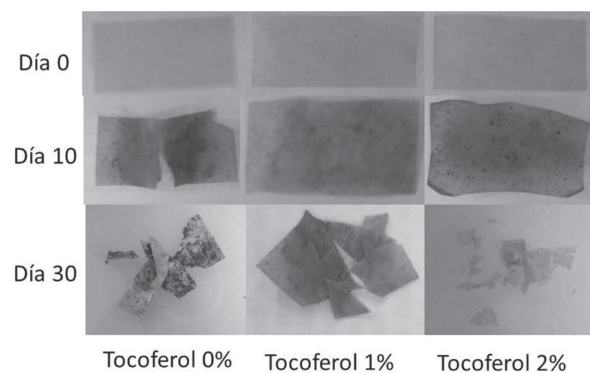


**Figura 4.** Masa residual de películas de lactosuero con alfa-tocoferol al 0%, 1% y 2% en función del tiempo de degradación.

En la figura 4 se observa que las películas de proteína de lactosuero con alfa-tocoferol al 1 y 2% tienen un comportamiento muy similar, pues am-

bas presentan mayor velocidad de pérdida de masa en los 10 primeros días del análisis, mientras que las películas testigo, sin alfa-tocoferol, presentaron una tasa de degradación mayor entre los 10 y 15 días de análisis en el compost. En las películas con incorporación de alfa-tocoferol se observa una tasa de degradación menor a partir del día 10, comparada con las películas testigo.

La figura 5 muestra el estado de las películas en el tiempo. A los 10 días se observa mayor pérdida de masa en la película sin alfa-tocoferol y una degradación más lenta en las películas con alfa-tocoferol al 1% y 2%.



**Figura 5.** Fotografías de películas de lactosuero con alfa-tocoferol al 0%, 1% y 2% evaluados en compost en tiempos de 0, 10 y 30 días.

## DISCUSIÓN

En el proceso de la mezcla y homogenización de los componentes para la elaboración de las películas, a partir de proteínas de lactosuero con incorporación de alfa-tocoferol al 0%, 1% y 2%, se encontró que la viscosidad de esta solución coincide con la descrita en el estudio de Krochta y sus colaborado-

res (23), quienes evaluaron soluciones de proteína de lactosuero con incorporación de alfa-tocoferol y palmitato de ascorbilo, y reportaron una disminución de la viscosidad atribuido al incremento en la concentración de estos antioxidantes. Hallazgo que puede deberse a que se utiliza etanol como solvente proporcional, según la concentración de alfa-tocoferol en la película y, por tanto, a mayor cantidad de tocoferol en la formulación menor será la viscosidad de la solución.

Los plastificantes reducen la cantidad de interacciones entre las distintas cadenas moleculares, aumentando así los espacios intermoleculares y causando un incremento en las propiedades dúctiles del material por un descenso de su rigidez, aunque también pueden disminuir sus propiedades de barrera debido a un incremento en el volumen libre (25). Los plastificantes más habituales para este tipo de películas, a partir de proteínas, son los polioles, azúcares o almidones debido a su compatibilidad con las proteínas y su capacidad para favorecer la elasticidad y flexibilidad de las biopelículas obtenidas (25). La adición de alfa-tocoferol al 1% w/w mejora sustancialmente la elasticidad de la película, comparando con las películas sin alfa-tocoferol. Los resultados presentados en la tabla 1 y obtenidos en la deformación de las películas de proteína de suero con alfa-tocoferol fueron muy similares a los obtenidos por Muñoz y colaboradores (26) para una película elaborada a partir de la mezcla de proteínas del suero y mucílago de *Salvia hispánica L*, la cual se compone principalmente de xilosa, glucosa y ácido glucurónico, formando un polisacárido ramificado donde el mucílago también actúa como plastificante. El módulo de Young o módulo de elasticidad (relación de tensión a la deformación sobre la parte lineal de la curva de esfuerzo-deformación) es una medida de la rigidez de la película (27). Como se observa en la tabla 1, el módulo de Young disminuye al introducir alfa-tocoferol en las películas.

La incorporación de alfa-tocoferol, como antioxidante natural en la formulación para la elaboración de las películas a partir de proteínas de lactosuero, tiene un efecto favorable en las propiedades ópticas, debido a que disminuye la transmitancia y permite inferir que, la adición de alfa-tocoferol en mayores proporciones, aumentaría aún más la protección de los alimentos envasados contra el efecto perjudicial de la luz UV. Sin embargo, con el fin de promover una interacción positiva (migración), entre el envase activo y el alimento, la concentración de alfa-

tocoferol debe ser del 1% mínimo, según Wessling y sus colaboradores (28), y del 4% máximo, según Granda (29) y Graciano (30) con sus respectivos colaboradores. Estos resultados muestran que las películas de lactosuero con alfa-tocoferol pueden ayudar a retardar la oxidación lipídica inducida por la luz UV en los alimentos. Los resultados son similares a los reportados en otros estudios con proteína de lactosuero (31), escamas de pescado (32) y películas a partir de surimi (33). Estos estudios muestran que, las películas elaboradas con materiales orgánicos, presentan las mejores barreras a la luz UV, debido a que se presenta una menor transmisión de luz al alimento. Por su parte, para películas de polietileno de baja densidad (PEBD), la transmitancia a una longitud de onda de 350 nm es de 79,9% (24); mientras que, para las películas de lactosuero con alfa-tocoferol al 0%,1% y 2%, a la misma longitud de onda, los valores fueron de 5,66%, 3,85% y 0,48% respectivamente. Por tanto, es evidente una mejor barrera a la luz de las películas elaboradas con materiales orgánicos respecto a las derivadas de polímeros sintéticos.

La caracterización morfológica de las películas con alfa-tocoferol permitió observar que la microestructura es el resultado de las interacciones, entre sus componentes y los posibles fenómenos de desestabilización que pueden ocurrir durante la etapa de secado. En esta dirección, a mayor proporción del antioxidante en el sistema se observaron huecos más numerosos, los cuales corresponden a gotas de alfa-tocoferol y se deben a los fenómenos de floculación y coalescencia, durante la etapa de secado de las películas (34). Además, en la superficie de la película se observó la presencia de pequeñas burbujas, generadas durante el secado, por el desplazamiento del vapor, generado el interior de la estructura de la película, hacia arriba, formando una gota que va produciendo orificios en las paredes delgadas a medida que asciende (35).

Las películas basadas en biopolímeros naturales se asumen biodegradables; sin embargo, la tasa de degradación puede decrecer en películas biopoliméricas formadas a través de enlaces covalentes (36). Después de la pérdida de masa inicial en los primeros 3 días, la actividad microbiana (degradación enzimática) y la hidrólisis empezaron a dominar, lo que resulta en una mayor tasa de biodegradación y, por consiguiente, pérdida de masa (37). En las películas con incorporación de alfa-tocoferol se observa una tasa de degradación menor a partir del

día 10, comparado con las películas testigo, debido principalmente a que la presencia de alfa-tocoferol, como compuesto apolar, disminuye la cantidad de agua disponible en la película, afectando las condiciones de crecimiento de los microorganismos y al mismo tiempo reduciendo la posibilidad de hidrólisis (38). El estudio de biodegradación en proteína aislada de soya (37) confirma la tendencia de biodegradación en matrices biopoliméricas similares, mostrando una curva de pérdida de masa similar a la obtenida en este estudio.

### LIMITACIONES

En este estudio no se realizó la medición del color de las películas, lo que limita la precisión de esta característica. En futuros trabajos se debería realizar dicha medición para reconocer otros posibles factores que pueden influir en la protección de los alimentos.

### CONCLUSIONES

La incorporación del alfa-tocoferol, en películas elaboradas a partir de proteínas de lactosuero, afecta las propiedades mecánicas de la película, disminuyendo su fuerza y aumentando su elasticidad. Las concentraciones del 2% de alfa-tocoferol favorecen las propiedades ópticas, disminuyendo la transmitancia y generando mayor protección frente a la luz UV, convirtiéndose esto en una característica de protección adicional para los alimentos que se almacenen en este tipo de envase activo con antioxidante natural. El estudio de biodegradación confirma que la alteración de la estructura química de la proteína, con la inclusión del alfa-tocoferol como antioxidante, no compromete la biodegradabilidad de las películas, y en 30 días de almacenamiento se logra una pérdida de peso equivalente al 50%. Los resultados de este estudio sugieren que las películas activas biodegradables con la inclusión del antioxidante natural alfa-tocoferol pueden representar una opción de protección para alimentos con alto contenido de grasa y susceptibles a deterioros por oxidación lipídica.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Comité para el Desarrollo de la Investigación —CODI— de la Universidad de Antioquia y su estrategia para la Sostenibilidad de los Grupos de Investigación - Convocatoria año

2011-2012. Así mismo, se agradece a la Universidad de Valencia, España por la Beca para la formación especializada de jóvenes investigadores de países en vía de desarrollo 2012. Los investigadores dan su agradecimiento a Geciel Patiño, David Gutiérrez, Francisca Manzanares y al Doctor Rafael Gavara por todo su apoyo y colaboración durante la realización de este estudio.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pires C, Ramos C, Teixeira G, Batista I, Mendes R, Nunes L, Marques A. Characterization of biodegradable films prepared with hake proteins and thyme oil. *J Food Eng.* 2012 Aug; 105 (3): 422-428.
2. Chambi H, Grosso C. Edible films produced with gelatin and casein cross-linked with transglutaminase. *Food Res Int.* 2006 May; 39 (4): 458-466.
3. Diak OA, Amro B, Jones D, Andrews GP. The manufacture and characterization of casein films as novel tablet coatings. *J Food bioprod process.* 2007 Sep; 85 (3): 284-290.
4. Mauer LJ, Smith DE, Labuza TP. Water vapor permeability, mechanical, and structural properties of edible  $\beta$ -casein films. *Int. Dairy J.* 2000 Jun; 10 (5-6): 353-358.
5. Kokoszka S, Debeaufort F, Hambleton A, Lenart A, Voilley A. Protein and glycerol contents affect physico-chemical properties of soy protein isolate-based edible films. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 2010 Jul; 11 (3): 503-510.
6. Su J-F, Yuan X-Y, Huang Z, Xia W-L. Properties stability and biodegradation behaviors of soy protein isolate/poly (vinyl alcohol) blend films. *Polym Degrad Stab.* 2010 Jul; 95 (7): 1226-1237.
7. Guerrero P, Nur Hanani Z, Kerry JP, de la Caba K. Characterization of soy protein-based films prepared with acids and oils by compression. *J. Food Eng.* 2011 Nov; 107 (1): 41-49.
8. López O, Zaritzky N, García M. Physicochemical characterization of chemically modified corn starches related to rheological behavior, retrogradation and film forming. *J. Food Eng.* 2010 Sep; 100 (1): 160-168.
9. Yan Q, Hou H, Guo P, Dong H. Effects of extrusion and glycerol content on properties of oxidized and acetylated corn starch-based films. *Carbohydr Polym.* 2012 Jan; 87 (1, 4): 707-712.
10. Zeng M, Huang Y, Lu L, Fan L, Lourdin D. Effects of filler-matrix morphology on mechanical properties of corn starch-zinc thermo-moulded films. *Carbohydr Polym.* 2011 Feb; 84 (1, 11): 323-328.
11. Fairley P, Monahan F, German J, Krochta J. Mechanical properties and water vapor permeability of edible films from whey protein isolate and sodium dodecyl sulfate. *J. Agric. Food Chem.* 1996 Feb; 44 (2): 438-443.
12. Kaya S, Kaya A. Microwave drying effects on properties of whey protein isolate edible films. *J. Food Eng.* 2000 Feb; 43(2): 91-96.
13. Hong S, Krochta J. Oxygen barrier performance of whey-protein-coated plastic films as affected by temperature, relative humidity base film and protein type. *J. Food Eng.* 2006 Dec; 77 (3): 739-745.
14. Londoño M, Sepúlveda J, Hernandez A. Fermented fresh cheese milkwhey beverage inoculated with *Lactobacillus casei*. *Rev.Fac. Nal.Agr.* 2008 Jun; 61 (1): 4409-4421.
15. Ramos O, Pereira J, Silva S, Amorim M, Fernandes J, Lopes-da-Silva J, Pintado M, Malcata F. Effect of composition of commercial whey protein preparations upon gelation at various pH values. *Food Res Int.* 2012 Oct; 48 (2):681-686.



16. Zinoviadou K, Koutsoumanis K, Biliaderis C. Physico-chemical properties of whey protein isolate films containing oregano oil and their antimicrobial action against spoilage flora of fresh beef. *Meat Sci.* 2009 Jul; 82 (3): 338-345.
17. Dong Sun L. Innovations in food packaging. 1a rev. ed. Jung H. Hang; Chennai, India: Elsevier Academic Press; 2005. p 108-119.
18. Martins J, Cerqueira M, Vicente A. Influence of  $\alpha$ -tocopherol on physicochemical properties of chitosan-based films. *Food Hydrocoll.* 2012 May; 27 (1): 220-227.
19. Pereira de Abreu D, Paseiro P, Maroto J, Cruz J. Natural antioxidant active packaging film and its effect on lipid damage in frozen blue shark (*Prionace glauca*). *Innov Food Sci Emerg Technol.* 2011 Jan; 12 (1): 50-55.
20. Sánchez R, Fabra M, Talens P. Recubrimientos comestibles a base de caseinato sódico con capacidad antioxidante [Tesis de máster]. [Valencia, España]: Universidad Politécnica de Valencia; 2011. 1-17 p.
21. Gemili S, Yemencioglu A, Altinkaya S. Development of antioxidant food packaging materials with controlled release properties. *J. Food Eng.* 2010 Feb; 96 (3): 325-332.
22. Han J, Hwang H, Min S, Krochta J. Coating of Peanuts with Edible Whey Protein Film Containing  $\alpha$ -Tocopherol and Ascorbyl Palmitate. *J Food Sci.* 2008 Oct; 73 (8): 349-355.
23. Han J, Krochta J. Physical properties of whey protein coating solutions and films containing antioxidants. *J Food Sci.* 2007 Jul; 72 (5): 308-314.
24. Gounga M, Xu S, Wang Z. Whey protein isolate-based edible films as affected by protein concentration, glycerol ratio and pullulan addition in film formation. *J. Food Eng.* 2007 Dec; 83 (4): 521-530.
25. Han J, Floros J. Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. *J Plast Film Sheet.* 1997 Oct; 13: 287-298.
26. Muñoz L, Aguilera J, Rodriguez L, Cobos A, Diaz O. Characterization and microstructure of films made from mucilage of *Salvia hispanica* and whey protein concentrate. *J. Food Eng.* 2012 Aug; 111 (3): 511-518.
27. Banker G. Film coating theory and practice. *J Pharm Sci.* 1966 Jan; 55 (1): 81-89.
28. Wessling C, Nielsen T, Leufvén A. The influence of  $\alpha$ -tocopherol concentration on the stability of linoleic acid and the properties of low-density polyethylene. *J Packaging Technology and Science.* 2000 Feb; 13 (1):19-28.
29. Granda D, Soto H, Peralta E, Troncoso R, Vallejo B, Gámez N, Graciano A. Migration of  $\alpha$ -Tocopherol from an active multilayer film into whole milk powder. *Food Res Int.* 2009 Dec; 42 (10): 1396-1402.
30. Graciano A, Soto H, Peralta E, Cruz P, Islas A, Sánche S, Sánchez A, González N, González H. Migration of  $\alpha$ -tocopherol from LDPE films to corn oil and its effect on the oxidative stability. *Food Res Int.* 2010 May; 43 (4): 1073-1078.
31. Fang Y, Tung M, Britt J, Yada S, Dalgleish D. Tensile and barrier properties of edible films made from whey proteins. *J Food Sci.* 2002 Jan; 67(1): 188-193.
32. Jongjareonrak A, Benjakul S, Visessanguan W, Prodpran T, Tanaka M. Characterization of edible films from skin gelatin of brownstripe red snapper and bigeye snapper. *Food Hydrocoll.* 2006 Jun; 20 (4): 492-501.
33. Shiku Y, Yuca Hamaguchi P, Benjakul S, Visessanguan W, Tanaka M. Effect of surimi quality on properties of edible films based on Alaska pollack. *Food Chem.* 2004 Aug; 86 (4): 493-499.
34. Kristo E, Koutsoumanis KP, Biliaderis CG. Thermal, mechanical and water vapor barrier properties of sodium caseinate films containing antimicrobials and their inhibitory action on *Listeria monocytogenes*. *Food Hydrocoll.* 2008 May; 22 (3): 373-386.
35. Arfa B, Combes S, Preziosi L, Gontard N, Chalier P. Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. *Lett Appl Microbiol.* 2006 Aug; 43(2): 149-154.
36. Ching C, Kaplan D, Thomas E. Biodegradable Polymers and Packaging. 1a ed rev. ed. Ching C, Kaplan D, Thomas E. Thomas. Lancaster, Pennsylvania: Technomic Pub; 1993. p. 63-73.
37. Lodha P, Netravali A. Effect of soy protein isolate resin modifications on their biodegradation in a compost médium. *Polym Degrad Stab.* 2005 Mar; 87 (3): 465-477.
38. Tkaczyk A, Otaigbe J, Ho K. Bioabsorbable soy protein plastic composites: effect of polyphosphate fillers on biodegradability. *J Polym Environ.* 2001 Jan; 9(1):19-66.