



**UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA**



EFEECTO DE LA TEMPERATURA DE TERMOCONFORMADO SOBRE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DE PELÍCULAS DE GLIADINAS

MASTER EN CIENCIA E INGENIERIA DE LOS ALIMENTOS

Autor: Jader Rodríguez Cortina

Directores: Pilar Hernández Muñoz
Rafael Gavara Clemente

Tutor: Ramón Cátala

Centro: Instituto de Agroquímica y de
Tecnología de Alimentos (IATA, CSIC)

EFECTO DE LA TEMPERATURA DE TERMOCONFORMADO SOBRE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DE PELÍCULAS DE GLIADINAS

J. Rodríguez¹, J. Cerisuelo², R. Catalá², R. Gavara², P. Hernández-Muñoz²

RESUMEN

El objetivo de este trabajo ha sido desarrollar una metodología para la obtención de películas de gliadinas mediante su procesado en caliente. Para ello, previamente se ha obtenido una resina de gliadinas plastificada con glicerol, a partir de la cual es posible obtener películas transparentes y homogéneas de bajo espesor. La temperatura de procesado tiene un gran efecto en las propiedades de las películas desarrolladas. Así, el termoprocesado de gliadinas produce el entrecruzamiento de la red proteica mejorando su resistencia al agua y sus propiedades mecánicas. Sin embargo, las películas disminuyen en luminosidad y desarrollan un color amarillo parduzco. Temperaturas de procesado de 130 °C permiten obtener películas resistentes al agua, de elevada transparencia y con propiedades mecánicas mejoradas, además de una mayor resistencia a la permeación de vapor de agua en comparación con las películas obtenidas por la técnica de "casting", sin comprometer su apariencia. También se ha comprobado que el procesado a temperaturas superiores a 130 °C no implica un incremento en la resistencia mecánica ni a la permeación de vapor de agua, ni un aumento en la resistencia al hinchamiento en agua de las películas, pero sí una alteración de su apariencia en cuanto a desarrollo de pardeamiento.

RESUM

L'objectiu d'aquest treball ha estat el desenvolupament d'una metodologia per a l'obtenció de pel·lícules de gliadines mitjançant un procés de conformat en calent. Per tal d'aconseguir-ho prèviament s'ha obtingut una resina de gliadines, plastificada amb glicerol, a partir de la qual ha estat possible l'obtenció de pel·lícules transparents i homogènies de petit espessor. La temperatura de processament ha afectat en gran mesura a les propietats de les pel·lícules desenvolupades. El motiu és que el termoprocessament de les gliadines produeix l'entrecruament de la xarxa proteica, millorant la seva resistència a l'aigua i les seves propietats mecàniques. Tanmateix, les pel·lícules disminueixen la seva lluminositat i desenvolupen un color groguenc i enfosquit. S'ha conclòs que unes temperatures de processament al voltant de 130°C permeten obtenir pel·lícules resistents a l'aigua, d'elevada transparència, i amb propietats

¹ Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo. Universidad Politécnica de Valencia, Camino Vera s/n 46022. Valencia. España.

² Instituto de Agroquímica y de Tecnología de Alimentos (IATA; CSIC). Apdo. Correos 73, 46100 Burjassot. Valencia. España.

mecàniques millorades; a més a més d'una major resistència a la permeació de vapor d'aigua en comparació amb les pel·lícules obtingudes mitjançant la tècnica de "càsting", i tot sense comprometre la seva aparença. També s'ha comprovat que el processament a temperatures superiors a 130°C no implica un increment en la resistència mecànica, ni en la permeació de vapor d'aigua, ni un augment en la resistència a l'inflament en aigua de les pel·lícules, però sí una alteració de la seva aparença pel que fa al desenvolupament d'un cert enfosquiment.

ABSTRACT

The aim of this work has been to develop a methodology to obtain thermo-processed gliadin-based films. This methodology requires the elaboration of a resin consisting of gliadins and glycerol as plasticizer. The resin can be converted into pellets and thermo-pressed into homogeneous thin films. The processing temperature has a major effect on the final functional properties of the films developed. Thermoprocessing of gliadins promotes the crosslinking of the polymer matrix, and thus improvements in the water resistance and mechanical strength of the resulting films. However, films develop a vivid yellow-brownish color. Processing temperatures of 130 °C give rise to films which are resistant to water, have improved mechanical resistance and water vapor barrier, and show only slight changes in color properties compared to cast films. Higher processing temperatures up to 160 °C do not lead to further improvements in functional properties of films but instead promote considerable changes in their color coordinates.

Palabras claves: películas de gliadinas, termoconformado, casting, resistencia mecánica, permeabilidad al vapor de agua, color, resistencia al agua.

INTRODUCCIÓN

El principal objetivo de un envase para alimentos, aparte de servir como contenedor y proteger frente a daños mecánicos, es actuar como barrera entre el alimento y el medio exterior, manteniendo su contenido en un microambiente controlado. Además de los requerimientos básicos de contener, proteger y conservar, el envase debe de cumplir otros requisitos comerciales, legales, estéticos, de comunicación al consumidor, etc. (Overton, 1993).

Cuando se selecciona un material de envasado deben tenerse en cuenta toda una serie de criterios, que incluye aspectos técnicos como son las propiedades mecánicas y barrera que posea el material de envasado de forma que se asegure la calidad del alimento durante su período de vida útil. Si el material no posee las propiedades mecánicas necesarias para mantener su integridad durante el envasado, manejo y distribución del producto, el envase puede desarrollar grietas, agujeros, o zonas frágiles (Hotchkiss, 1988). Por otro lado, la habilidad del material de envasado para proteger y preservar el producto depende de la resistencia que ofrezca al paso de gases, vapores y otros compuestos a través de la pared del envase, y/o de si se produce la transferencia de compuestos del envase al producto (Koros, 1990). Otros factores de interés que sin duda también se deben considerar son el coste del envase, requerimientos comerciales, impacto medioambiental, etc.

Entre los diferentes materiales utilizados para el envasado de alimentos los materiales plásticos resultan particularmente adecuados. Estos materiales presentan propiedades mecánicas que permiten la fabricación de envases semirrígidos y flexibles con gran versatilidad de formas y tamaños, así como un amplio rango de propiedades físico-químicas adecuadas a aplicaciones específicas en el envasado de alimentos. Algunas de las características más notables que presentan los materiales poliméricos son su bajo coste de fabricación, ligereza, transparencia, flexibilidad, horneabilidad en microondas, intercambio selectivo de gases a su través, conveniencia para el usuario y versatilidad de diseño.

Los plásticos son, en la actualidad, una parte esencial de nuestra vida cotidiana ya que están presentes en todos los sectores industriales y de forma destacada en la fabricación de envases y embalajes, actividad que consume más de la mitad de la producción total. Sin embargo, tienen su contrapartida en el impacto que generan en el medio ambiente, debido a la lenta degradación de estos materiales y el empleo de materias primas no renovables para su elaboración. Los polímeros sintéticos, debido a su baja densidad, ocupan un gran volumen en los rellenos sanitarios y son altamente resistentes a la peroxidación, al agua y a los microorganismos, tardando siglos en degradarse. Este grave inconveniente ha dado lugar a una constante innovación y progreso en el desarrollo de nuevos materiales de envasado que permitan tanto conservar las características de calidad de los alimentos como reducir la contaminación ambiental ocasionada por el empleo de materiales no biodegradables.

En búsqueda de una solución a la problemática medioambiental existente en nuestros días entorno a la producción de residuos de envases plásticos y su reciclado, junto con el uso de fuentes no renovables como el

petróleo, ha surgido con fuerza desde los organismos gubernamentales un gran interés en el desarrollo de materiales con carácter biodegradable, obtenidos a partir de materias primas renovables, derivadas de plantas y bacterias, más respetuosos con el medio ambiente (Tharanathan, 2003).

La biodegradación es, en general, definida como un proceso que tiene lugar a través de la acción de enzimas y/o descomposición química asociada con organismos vivos (bacterias, hongos, etc.) o la secreción de sus productos. La completa biodegradación de los materiales a CO₂, agua y otros productos compatibles con el medio ambiente, es el punto clave del desarrollo de nuevos materiales.

Una ventaja adicional de los envases biodegradables es que con su desintegración y compostaje actúan como fertilizantes acondicionando el suelo y los cultivos. En un medio ambiente compostable un polímero biodegradable se degrada en un tiempo mucho menor que en condiciones naturales.

Los polímeros biodegradables se pueden extraer directamente de fuentes naturales, es el caso de polisacáridos como el alginato o proteínas como la zeína. También se pueden obtener mediante síntesis química, como el alcohol polivinílico. Hoy en día, en la industria del envase se pueden encontrar el celofán, el colágeno, el ácido poliláctico o los polihidroxialcanoatos y sus copolímeros.

El entrecruzamiento de polímeros y la copolimerización de polímeros naturales con monómeros sintéticos son otra valiosa alternativa para la obtención de plásticos biodegradables y con propiedades adecuadas para ser empleados en envases alimentarios (Tharanathan, 2003).

En este trabajo se estudia una metodología para la obtención de películas de bioplásticos a partir de proteínas de gluten de trigo.

Bioplásticos

Los bioplásticos son plásticos de origen natural procedentes de biomasa. Estos biomateriales deberán presentar características de biodegradabilidad y propiedades mecánicas apropiadas que supongan una alternativa a los materiales fabricados con polímeros sintéticos o derivados petroquímicos. Además, los bioplásticos, que pueden ser comestibles, tienen diversas aplicaciones en envases y como matrices controladoras de la difusión de sustancias al medio (agua, alimento, etc.), o con alta capacidad de rehidratación actuando como superabsorbentes.

No deben confundirse los plásticos biodegradables (que pueden ser producidos a partir del petróleo y ser degradados posteriormente por los microorganismos) con los biopolímeros, producidos a partir de biomasa.

Los polímeros elaborados a partir de biomasa pueden dividirse en tres categorías principales basadas en su origen y producción (Petersen *et al.*, 1999), tal y como se muestra en la Figura 1:

- Categoría 1: polímeros extraídos a partir de productos agropecuarios y marinos, como son los polisacáridos (la celulosa, el almidón, el quitosano y proteínas como la caseína, el gluten y el colágeno)

- Categoría 2: polímeros producidos por síntesis química a partir de monómeros de biomasa, como el ácido poliláctico.
- Categoría 3: polímeros producidos por microorganismos naturales o genéticamente modificados.

Entre los biomateriales presentes actualmente en el mercado, se encuentran el ácido poliláctico y los polihidroxialcanoatos como sustitutos de las poliolefinas. De entre los materiales extraídos de biomasa, los plásticos derivados del almidón son los más extendidos y económicos.

Las características básicas demandadas para las películas biodegradables y comestibles, destinadas al envasado de alimentos, son las mismas que para los materiales sintéticos. Deben ser organolépticamente compatibles con el alimento envasado y protegerlo de contaminaciones externas, del oxígeno, luz, vapor de agua y microorganismos.

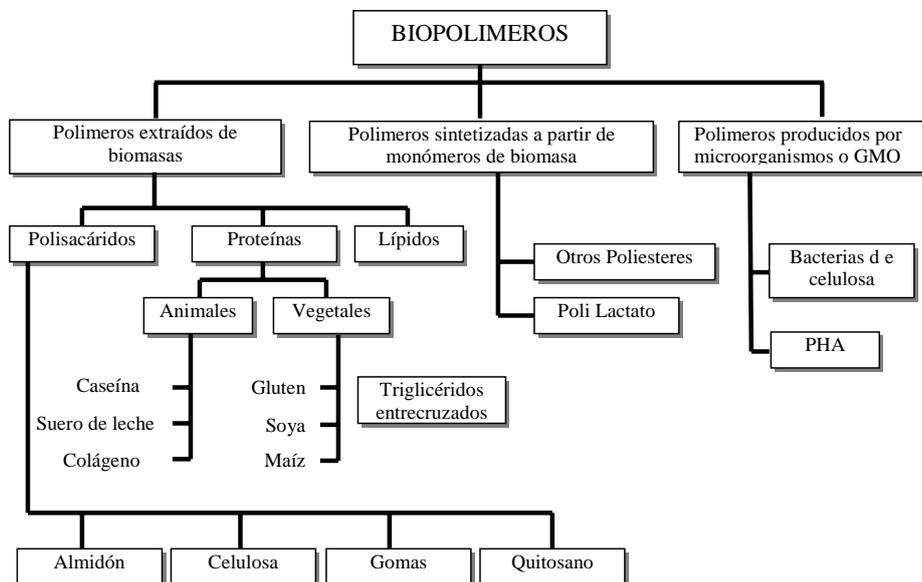


FIGURA 1. Clasificación de los materiales biopoliméricos según su origen y método de producción.

Además, también pueden contribuir activamente a mantener la calidad del alimento envasado, así por ejemplo pueden contener antioxidantes o agentes que migren desde la película al alimento y que mejoran la calidad o la estabilidad del mismo. Estos materiales deben poseer propiedades adecuadas en cuanto a resistencia mecánica, procesabilidad, transparencia, además de disponibilidad y coste. Una característica importante a considerar y que está adquiriendo cada vez más peso es el origen y el proceso de eliminación del envase al final de su vida útil.

Polímeros elaborados a partir de proteínas

Las proteínas son macromoléculas naturales capaces de formar estructuras tridimensionales amorfas estabilizadas principalmente por interacciones no covalentes. Numerosas proteínas vegetales y animales han

sido utilizadas en la elaboración de películas biodegradables (Cuq *et al.*, 1998). Los estudios y desarrollos enfocados a la obtención de materiales con propiedades plásticas utilizan generalmente aquellas proteínas que se encuentran en grandes cantidades en la naturaleza: proteínas de reserva de granos (soja, girasol), cereales (gluten, maíz) o proteínas de tejido animal (colágeno, queratina) (Rouilly *et al.*, 2002).

Las películas elaboradas a partir de proteínas pueden actuar como barrera a la transferencia de humedad, oxígeno, dióxido de carbono, aceites, grasas y compuestos volátiles de manera que empleadas como materiales de envasado pueden reducir y retrasar el deterioro de la calidad y aumentar la vida útil de los alimentos (Hernández-Muñoz *et al.*, 2004). Por tanto, en principio pueden considerarse como una alternativa a otros materiales procedentes del petróleo.

Proteínas del gluten de trigo

El gluten de trigo es un agropolímero comestible, biodegradable y renovable, con características apropiadas para la producción de materiales para envases alimentarios.

Puede definirse como una mezcla de proteínas constituida por una fracción polimérica (gluteninas) y una fracción monomérica (gliadinas) en similar proporción. La fracción polimérica consiste en polipéptidos unidos por enlaces disulfuro, formando el macropolímero de gluteninas. La fracción monomérica esta formada por cadenas polipeptídicas, que interaccionan con el macropolímero de gluteninas por enlaces secundarios (Domenek *et al.*, 2004). Las películas elaboradas a partir de gluten tienen excelentes propiedades barrera al oxígeno y dióxido de carbono a humedades relativas bajas e intermedias. Su mayor limitación, atribuible en general a las películas de origen proteico, es su falta de resistencia mecánica y su baja barrera al vapor de agua causada por su naturaleza hidrofílica (Hernandez-Muñoz *et al.*, 2004).

Dada la elevada densidad de energía cohesiva que presentan las proteínas debido a fuerzas intermoleculares de diversa índole (puentes de hidrógeno; fuerzas de Van der Waals; interacciones iónicas e interacciones hidrofóbicas), las películas obtenidas derivadas presentan gran rigidez. Para mejorar su flexibilidad se requiere la adición de un agente plastificante. Estos son sustancias de bajo peso molecular que al unirse a los materiales poliméricos modifican la organización tridimensional, disminuyen las fuerzas de atracción intermolecular y aumentan el volumen libre y la movilidad de las cadenas (Mangavel *et al.*, 2003). Una de las consecuencias de los cambios en la organización molecular es una disminución en la temperatura de transición vítrea del polímero y un aumento en la flexibilidad y extensibilidad. La eficiencia de un plastificante viene dada por su peso molecular y polaridad, siendo el agua y el glicerol los plastificantes más comunes para una gran variedad de materiales proteicos (Pommet *et al.*, 2005).

Gliadinas

Las gliadinas proveen el componente viscoso del gluten y constituyen un grupo heterogéneo de proteínas caracterizadas por cadenas polipeptídicas

unidas por enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y enlaces disulfuro intramoleculares, siendo solubles en mezclas etanol/agua 70% (Hernández Muñoz *et al.*, 2003). Han sido clasificadas en cuatro grupos α , β , γ , y ω , en base a su movilidad electroforética a pH bajos. Las gliadinas α , β , y γ son proteínas ricas en azufre y contienen únicamente enlaces disulfuro intramoleculares. (Hernández Muñoz *et al.*, 2004).

El objetivo de este trabajo es el desarrollo de una metodología de obtención de películas de gliadinas plastificadas con glicerol por termoconformado y la comparación de sus propiedades funcionales con las de las películas obtenidas por extensión y evaporación del disolvente. Para ello, se elaboró una metodología para la obtención de una resina de gliadinas plastificada con glicerol, estudiando las condiciones de procesado mediante una prensa hidráulica de platos calientes, trabajando con temperaturas comprendidas entre 70 °C y 160 °C, a tiempos fijos. Se determinaron las propiedades mecánicas, la permeabilidad al vapor de agua, la absorción de agua y pérdida de peso de las películas obtenidas procediendo a su comparación con las propiedades de películas obtenidas por extensión y evaporación del solvente.

MATERIALES Y METODOS

Materiales

Reactivos:

- Gluten de trigo (G5004-500G); Sigma (Barcelona).
- Glycerol Reagent Plus TM 99%; Aldrich (Madrid).
- Etanol 96%(v/v); Panreac (Barcelona)
- Agua desionizada

Equipos:

- Agitador magnético con calefacción y velocidad de agitación y temperatura ajustables Basic MagMix Plus; Delabo (Valencia)
- Balanza de precisión $\pm 0,01$ g; Delabo (Valencia).
- Centrifuga Sorwall®Evolution TMRC Superspeed; Termo Scientific (Waltham, MA, EE.UU.).
- Estufa Digitheat 1200W; Selecta (Barcelona).
- Prensa hidráulica con platos calientes Carver mod. 4128; Carver Inc., (Wabash IN, EE.UU.)
- Cámaras termostataadas (T 37 ± 5 °C, 32 ± 5 °C, 22 ± 5 °C).
- Colorímetro Chromameter mod. CR-300; Minolta Camera Co. Ltd. (Osaka, Japón).
- Máquina universal de ensayos MECMESIN modelo MultiTest 1-í equipada con una célula de carga de 100 N; Landes Poli Ibérica S.L. (Barcelona).
- Micrómetro digital Mitutoyo; Metrotec (San Sebastián).

Métodos

Preparación de las películas

Se han obtenido películas de gliadinas por técnicas de termoconformado y de extensión- evaporación (“casting”).

Para la preparación de las películas se adicionaron 100 g de gluten a 400 mL de solución hidroalcohólica al 70% (v/v), manteniendo la mezcla en agitación a 20 °C durante 24 horas en cámara termostataada y posteriormente se centrifugó a 5000 rpm durante 20 min. El sobrenadante resultante, consistente en la fracción rica en gliadinas, se separó por decantación, se añadió glicerol al 25% (g/100 g proteína), y se llevó a sequedad para la obtención de la resina.

Se obtuvieron películas por “casting” plastificadas mediante la adición de glicerol al 25% (g/100 g proteína), así como sin la adición de plastificante, depositando el volumen adecuado de la solución filmógena en placas de poliestireno, permitiendo evaporar el disolvente en una cámara de temperatura controlada a 37 °C durante 24 horas. Una vez secas, las películas se separaron de la placa y se midió su espesor, siendo el espesor medio de las películas obtenidas de 80-90 µm.

Se obtuvieron películas por termoconformado, a partir de la resina seca con una prensa hidráulica de platos calientes, estudiando temperaturas de termoconformado entre 70 °C y 150 °C a tiempo fijo de prensado y con gradientes de presión hasta 9000 Psi. Las películas obtenidas presentaron espesores similares a las obtenidas por “casting” (80-90 µm).

Caracterización de las propiedades de las películas

Para la caracterización de las películas de gliadinas termoconformadas y obtenidas por “casting” se determinaron las propiedades ópticas (color), la pérdida de peso y absorción en agua, la permeabilidad al vapor de agua y las propiedades mecánicas.

Pérdida de peso de películas sin glicerol

Muestras de 500 mg se llevaron a sequedad acondicionándolas en un desecador con sílica gel hasta peso constante. Una vez secas, se sumergieron en 100 mL de agua destilada durante 24 horas a 23 °C con agitación manual de forma ocasional. Las películas se retiraron del agua, se eliminó el agua remanente de la superficie de la película con papel absorbente y se pesaron. Seguidamente, las películas se introdujeron en un desecador con sílica gel hasta alcanzar peso constante. El test de pérdida de peso se realizó por triplicado. Se calculó el porcentaje de peso perdido respecto al inicial y la sorción de agua respecto al peso final seco de la película.

Color

El color de las películas se determinó con un colorímetro portátil Minolta® Chroma Meter CR300. Las muestras se colocan sobre un plato

blanco estándar, obteniendo los resultados en el espacio CIE L*a*b y utilizando como referencia observador 10° e iluminante D65. Se midió L*(Luminosidad), a*(componente rojo-verde) y b*(componente amarillo-azul). También se determinó la saturación (chroma, $C^* = (a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$) y el tono (hue angle, $H^* = \arctg(b^*/a^*)$), a partir de las coordenadas de color CIEL*a* b*. Las muestras se midieron por triplicado, realizando ocho medidas en posiciones diferentes de cada muestra de película.

Permeabilidad al vapor de agua

La permeabilidad al vapor de agua en las películas de gliadinas se determinó gravimétricamente mediante celdas de permeabilidad Payne, de acuerdo con el método ASTM E96-95 para películas plásticas. La permeabilidad se evaluó a 25 °C y con un gradiente de humedad relativa de 0-50 %. Antes del ensayo se determinó el espesor de las películas en distintos puntos y se calculó un promedio del mismo. Las muestras (3 por cada formulación) fueron montadas entre la base y la tapa de una copa de aluminio Payne de 3.5 cm de diámetro. Los gradientes de humedad se obtuvieron llenando las celdas con 10 g de sílica gel y empleando desecadores de vidrio acondicionados con una disolución saturada de nitrato de magnesio 6-hidratado para el gradiente 0/50 %. Finalmente, el desecador fue introducido en una sala con temperatura controlada a 25±1 °C, realizándose controles diarios de peso de cada celda de permeabilidad con una balanza electrónica de precisión hasta alcanzar el estado estacionario.

Según el método ASTM E96-95, el procedimiento para evaluar la permeabilidad al vapor de agua, requiere la determinación de la velocidad de transmisión de vapor de agua (ecuación 1). Asumiendo que el vapor de agua atraviesa un material no poroso y homogéneo, en el cual se produce un gradiente lineal.

$$WVTR = \frac{n}{t \cdot A} \quad (1)$$

donde *WVTR* es la velocidad de transferencia del vapor de agua (g/día.m²), *n/t* la pendiente de la curva de pérdida o ganancia de peso en el tramo lineal (g/día) y *A* el área efectiva del film a la transferencia de vapor de agua (m²).

Utilizando la diferencia de presiones parciales como fuerza impulsora del proceso de permeación, se determinó la permeanza definida por la ecuación:

$$Permeanza = \frac{WVTR}{(P_{w1} - P_{w2})} \quad (2)$$

siendo *P_{w1}* y *P_{w2}* las presiones parciales de vapor de agua (Pa) en la superficie de la película en la cara orientada hacia el exterior de la celda y hacia el interior de la celda, respectivamente.

La ecuación permite calcular el valor de permeabilidad al vapor de agua para una película, multiplicando la permeanza por la media del espesor:

$$Permeabilidad = permeanza \cdot espesor \quad (3)$$

Propiedades mecánicas

Se determinaron la resistencia de tracción a rotura (TS) y el porcentaje de elongación en la rotura (PE) de las películas, de acuerdo al método estándar D882 (ASTM, 1995) haciendo uso de una máquina universal de ensayos MECMESIN. Las muestras (10 por cada formulación) se cortaron en tiras de 2,54 cm de ancho y 13 cm de longitud. Posteriormente, las muestras de cada formulación se acondicionaron a 50% de humedad relativa, a una temperatura de 25 °C. Antes del ensayo de tensión se determinó el espesor de las películas en distintos puntos y se calculó un promedio del mismo. Las películas se montaron en unas pinzas para ensayos de tensión. La separación inicial de las pinzas y la velocidad de elongación de las películas fueron 100 mm y 25 mm·min⁻¹, respectivamente.

Las curvas fuerza-elongación obtenidas en el ensayo se transformaron en curvas de tensión (σ)-deformación (ε) (ecuaciones 4 y 5).

$$\sigma(t) = \frac{F(t)}{S} = \frac{F(t)}{b \cdot h} \quad (4)$$

$$\varepsilon(t) = \frac{l(t)}{L_0} \cdot 100 \quad (5)$$

donde L_0 es la distancia inicial entre pinzas (mm), $l(t)$ la elongación de la muestra en cada tiempo (mm), b , h y S son la base (mm), la altura (o espesor) (mm) y área (mm²) de la sección transversal de la muestra. $F(t)$ es la fuerza de tracción en cada tiempo (N).

De cada curva de esfuerzo (σ)-deformación (ε) se obtuvieron los siguientes parámetros:

- Módulo de elasticidad o modulo de Young (pendiente de la zona lineal de la curva), expresado en MPa.
- Resistencia de tracción a rotura, expresado en MPa.
- Elongación hasta el punto de fractura, expresado en porcentaje.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ha sido posible desarrollar una metodología para la obtención de una resina de gliadinas plastificada con glicerol y su transformación en películas de espesores comprendidos entre 90-100 μm , mediante prensado en caliente. Se estudió el efecto de la temperatura de procesado entre 70 °C y 160 °C sobre diferentes propiedades físicas de las películas desarrolladas como son la resistencia al agua, capacidad de absorción de agua, propiedades ópticas, permeabilidad al vapor de agua y resistencia mecánica. A continuación se exponen los resultados más relevantes obtenidos.

Pérdida de peso y absorción de agua

En la Figura 2 se puede observar el efecto de la temperatura de termoconformado sobre la capacidad de absorción de agua y la pérdida de peso en agua de las películas proteicas obtenidas a partir de la resina de gliadinas procesada sin glicerol. El motivo de no añadir glicerol a la resina es evitar la interferencia del plastificante en la estimación del peso perdido por las películas debido a la migración de las cadenas polipeptídicas al medio. Es sabido que el glicerol debido a su carácter higroscópico y elevada solubilidad en agua, se pierde rápidamente tras la inmersión de la película en agua (Hernández Muñoz *et al.*, 2003).

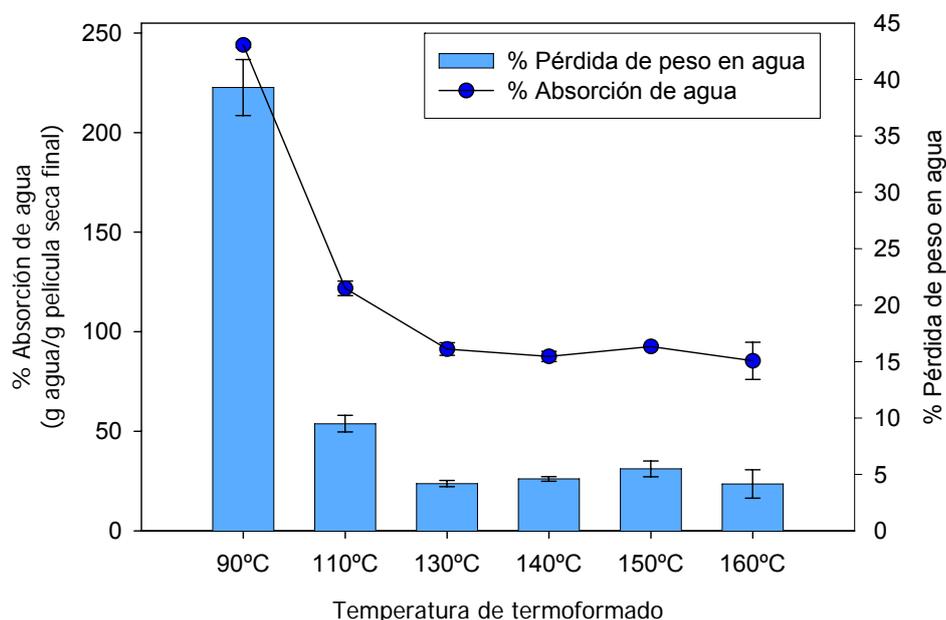


FIGURA 2. Efecto de la temperatura de termoconformado en la ganancia de agua y pérdida de peso de películas de gliadinas sin glicerol procesadas a diferentes temperaturas.

En la Figura 2 no se ha representado la ganancia de agua y pérdida de peso para las películas obtenidas por extensión y evaporación del solvente (“casting”) y las películas procesadas a 70°C. Estos parámetros no se han podido evaluar ya que las películas pierden su integridad al ser sumergidas en agua.

Respecto a las películas procesadas a temperaturas entre 90 °C y 160 °C, se observa que la temperatura de termoconformado afecta en gran medida a la capacidad de absorción de agua y pérdida de peso. Si bien a 90 °C las películas mantienen su integridad, éstas absorben en torno a un 240% de agua presentando un gran hinchamiento. Al aumentar la temperatura de procesado 20 °C, la ganancia en agua disminuye hasta un 50%, mientras que para temperaturas de procesado comprendidas entre 130 °C y 160 °C la ganancia de agua no varía, estando en torno al 90%.

En cuanto al efecto de la temperatura de procesado sobre la pérdida de peso de las películas se aprecia una tendencia similar a la ganancia de agua. A temperaturas de 90 °C la película pierde una cantidad considerable de peso, aproximadamente el 40%. Un aumento en la temperatura de procesado conlleva una gran mejora en la estabilidad de la película en agua, pasando a ser la disminución en peso de un 10%. A temperaturas superiores a 110 °C la pérdida de peso es de aproximadamente un 5% sin apreciarse una mejora a temperaturas más elevadas.

Dado el carácter insoluble de las gliadinas en agua, la pérdida de peso en las películas implica que las cadenas polipeptídicas migran de la matriz al medio pero no se solubilizan. Es de esperar que migren las cadenas poliméricas de bajo peso molecular. El tratamiento térmico de las proteínas promueve las reacciones de intercambio disulfuro-sulfhidrilo. En las gliadinas, que en principio poseen puentes disulfuro a nivel intramolecular, el procesado térmico provoca la reducción de los puentes disulfuro a sulfhidrilo y la formación de nuevos puentes disulfuro intermoleculares. Esto da lugar a la formación de cadenas polipeptídicas de mayor peso molecular y al entrecruzamiento de la matriz proteica. Cuanto mayor sea el número de enlaces intermoleculares formados se obtendrá una red más reticulada y, por tanto, mayor será su resistencia al hinchamiento en agua debido a una restricción en la relajación de las cadenas impuesta por los nuevos enlaces intermoleculares formados. Por otro lado, menor será el porcentaje de cadenas polipeptídicas de bajo peso molecular que puedan desprenderse de la matriz al sumergirla en agua.

El nivel de entrecruzamiento va a depender de la temperatura de procesado, teniendo en cuenta los resultados obtenidos en cuanto al hinchamiento de la película en agua y pérdida de peso, se puede decir que la temperatura óptima de procesado para obtener una película resistente al agua debería de ser igual o superior a 130 °C.

Propiedades ópticas: color

En la Tabla 1 se muestran las coordenadas de color de las películas obtenidas por "casting" y las tratadas térmicamente. Como se puede observar, las películas presentan valores elevados del parámetro L* indicando una gran transparencia. Hasta temperaturas de prensado de 90 °C no se observan diferencias en el color de las películas. Sin embargo a 110 °C éstas aumentan en cromaticidad disminuyendo ligeramente su luminosidad, mientras que no se observan diferencias en el tono. Al aumentar la temperatura a 130 °C la cromaticidad aumenta de nuevo ligeramente. A 150 °C se observa un descenso en la luminosidad y el desarrollo de un color más saturado con una tonalidad marrón amarillenta probablemente asociado a reacciones de Maillard.

Por lo tanto, dado el impacto visual negativo que la coloración desarrollada a temperaturas de termoconformado de 150 °C pueda tener sobre su aceptación final, sería recomendable no trabajar a temperaturas superiores a 130 °C.

TABLA 1. Parámetros de color de películas de gliadinas obtenidas por “casting” y termoconformadas a diferentes temperaturas.

Muestra	L*	a*	b*	h*	C*
“casting”	95.6 ± 0.5	-0.45 ± 0.05	5.8 ± 0.5	94.5 ± 0.4	5.8 ± 0.5
70 °C	95.9 ± 0.4	-0.46 ± 0.12	5.7 ± 0.6	94.6 ± 0.5	5.9 ± 0.5
90 °C	96.1 ± 0.4	-0.47 ± 0.05	5.8 ± 0.4	94.8 ± 0.7	5.8 ± 0.6
110 °C	94.9 ± 0.3	-0.71 ± 0.07	7.6 ± 0.4	94.8 ± 0.4	7.8 ± 0.5
130 °C	94.7 ± 0.5	-0.65 ± 0.06	9.6 ± 0.7	94.1 ± 0.5	9.3 ± 0.6
150 °C	90.5 ± 0.8	0.16 ± 0.02	21.9 ± 1.2	89.6 ± 0.3	21.9 ± 1.2

Permeabilidad al vapor de agua

En la Figura 3 se muestran los valores de permeabilidad al vapor de agua para películas de gliadinas obtenidas por “casting” y por prensado en caliente a temperaturas comprendidas entre 70 °C y 150 °C. La permeabilidad se midió a 23 °C y con un gradiente de humedad relativa de 0-50%. Si bien no se aprecian grandes diferencias en los valores de permeabilidad entre las películas obtenidas por “casting” y las termoconformadas, estando todos dentro del mismo orden de magnitud, si que se observa un descenso en este parámetro en las películas prensadas a temperaturas iguales o superiores a 110 °C.

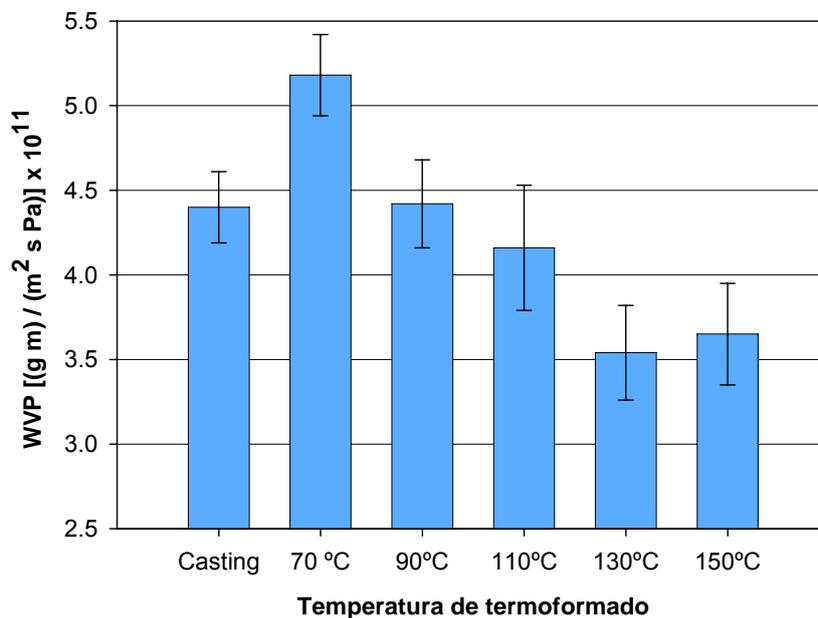


FIGURA 3. Permeabilidad al vapor de agua de películas de gliadinas medidas a un gradiente de 0.50% de humedad relativa y 23 °C.

Los menores valores de permeabilidad se dan para temperaturas de 130-150 °C, con un descenso en la permeabilidad de aproximadamente un 20%. A temperaturas de prensado de 90 °C los valores obtenidos para la permeabilidad son similares a los obtenidos para las películas desarrolladas

por vía húmeda. Mientras que una temperatura de prensado de 70 °C da lugar a películas con mayor permeabilidad que las obtenidas por “casting”. Este comportamiento se podría explicar teniendo en cuenta que una temperatura de prensado de 70 °C no sería suficiente para obtener una matriz libre de defectos dando lugar a microporos, que explicarían la obtención de valores de permeabilidad más elevados. Al aumentar la temperatura de prensado se facilita la formación de una matriz polimérica libre de defectos, así como su entrecruzado.

Ya que la permeabilidad al vapor de agua es un fenómeno acoplado de sorción y difusión, cabría pensar que a mayor grado de entrecruzamiento de la matriz polimérica mayor es la tortuosidad del camino recorrido por las moléculas de agua a través de la matriz polimérica, lo cual haría disminuir la permeabilidad.

Propiedades mecánicas

En la Figura 4 se han representado los diversos modelos de curvas de tensión vs. deformación obtenidas en los ensayos de tracción a rotura realizados para las diferentes películas de gliadinas con glicerol al 25% (g/100 g proteína) conformadas mediante termoprensado a diferentes temperaturas y mediante casting en frío.

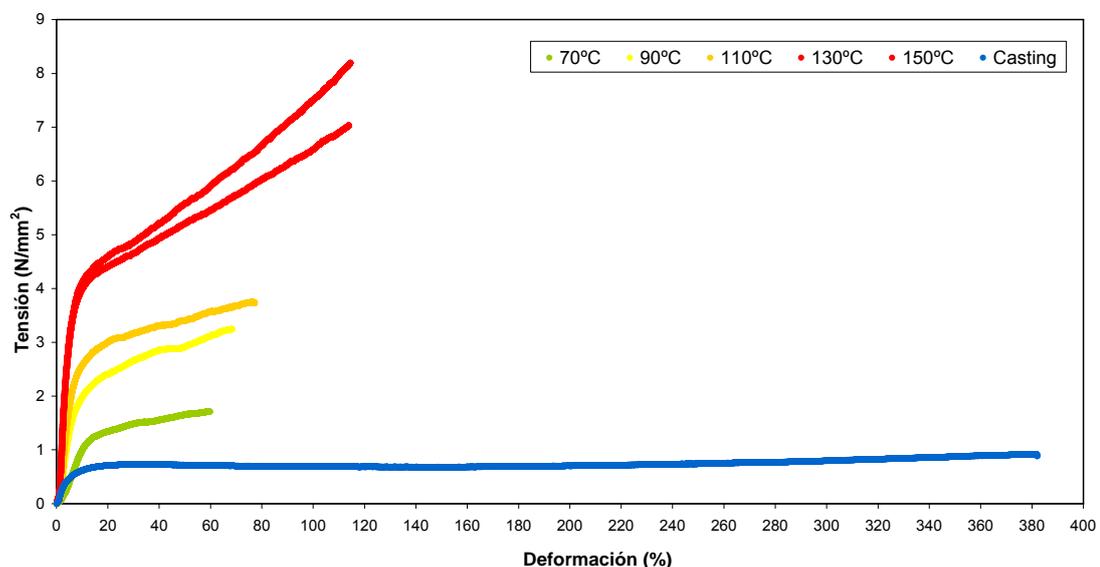


FIGURA 4. Curvas tensión-deformación de películas de gliadinas con glicerol conformadas por casting y mediante termoprensado a diferentes temperaturas.

Es de destacar la gran diferencia en el comportamiento mecánico de las películas obtenidas por “casting” y las termoconformadas; y a su vez los diferentes perfiles desarrollados con la temperatura de termoconformado. De acuerdo con las curvas que se muestran, las películas obtenidas por “casting” presentan un bajo módulo de elasticidad y una baja resistencia

mecánica, sin embargo, poseen un elevado porcentaje de deformación. Estos parámetros están en concordancia con el carácter viscoso de las gliadinas y el desarrollo de puentes de hidrógeno interpolipeptídicos en su estructura. Al procesar la matriz proteica con calor se promueve su entrecruzamiento, lo que da lugar a la obtención de un material más duro y resistente, con una componente elástica más importante y una merma en su extensibilidad. Comparando las curvas obtenidas para los materiales conformados a diferentes temperaturas, es de destacar que a las temperaturas de trabajo más elevadas, 130-150 °C, se obtiene un material con un mayor módulo de elasticidad y más resistente, lo que implica un mayor grado de entrecruzamiento. Pero llama la atención que dicho material es más extensible que aquellos procesados a temperaturas inferiores. Los valores más bajos de elongación obtenidos para los materiales procesados a temperaturas inferiores a 130 °C se explica por la posible falta de estructura en la matriz proteica y la presencia de microporos que podrían evolucionar a microfisuras durante el estiramiento, además de otros posibles defectos en la red, por donde tendría lugar el fallo mecánico impidiendo una mayor extensión y el desarrollo del plato plástico.

En la Figura 5 se representa el efecto de la temperatura de conformado sobre la resistencia mecánica de tracción a rotura y el módulo de Young de las muestras de gliadinas con glicerol al 25% (g/100 g proteína) obtenidas mediante termoprensado y su comparación con el valor alcanzado por una película obtenida por “casting” en frío.

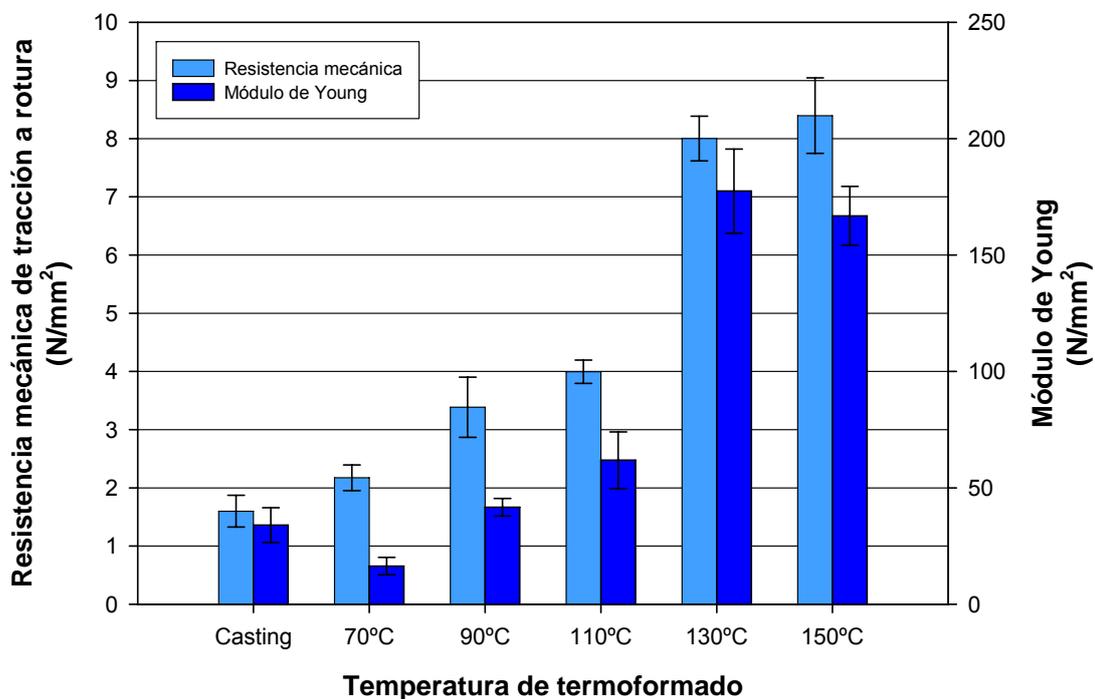


FIGURA 5. Efecto de la temperatura de termoconformado sobre la tensión de tracción a rotura y el módulo de Young en películas de gliadinas con glicerol y comparación con una película obtenida por “casting” en frío.

Como se puede comprobar en la Figura 5, el comportamiento mecánico de las películas termoconformadas es dependiente de la temperatura de prensado, de manera que, en general, se puede afirmar que tanto la resistencia mecánica de tracción a rotura como el módulo de Young aumentan gradualmente al incrementarse dicha temperatura. En concreto, mientras que la muestra obtenida por casting experimenta la rotura sin alcanzar una tensión de 2 N/mm^2 , en las películas termoconformadas se aprecian dos grupos de valores de la resistencia a rotura en función de la temperatura de prensado que son claramente superiores a dicha cantidad. Por un lado se observa que a temperaturas de hasta $110 \text{ }^\circ\text{C}$ la tensión aumenta levemente de 2 a 4 N/mm^2 , mientras que, al incrementar la temperatura en $20 \text{ }^\circ\text{C}$, ya experimenta un aumento considerable de un 200% . A partir de este punto, un nuevo incremento en $20 \text{ }^\circ\text{C}$ ya no supone ninguna diferencia significativa respecto al valor anterior. En contraste, el valor alcanzado por la película obtenida mediante casting se encuentra ligeramente por debajo del correspondiente a la película de $70 \text{ }^\circ\text{C}$. Respecto al módulo de Young cabe señalar que su comportamiento mecánico resulta muy similar al observado para la resistencia a rotura. De esta manera, se aprecian unos valores reducidos y ligeramente ascendentes para las películas conformadas a temperaturas inferiores a $110 \text{ }^\circ\text{C}$ que, al aumentar la temperatura de procesado hasta $130 \text{ }^\circ\text{C}$, sufren un notable incremento de casi un 300% , para posteriormente permanecer invariables frente a nuevos incrementos de este parámetro. En este caso, el valor del módulo de elasticidad alcanzado por la película obtenida mediante casting en frío se encuentra entre los correspondientes a los filmes de 70 y $90 \text{ }^\circ\text{C}$.

La Figura 6 muestra el efecto de la temperatura de conformado sobre la deformación total a rotura de las muestras de gliadinas con glicerol al 25% ($\text{g} / 100 \text{ g}$ proteína) obtenidas mediante termoprensado y su comparación con el valor alcanzado por una película obtenida por casting en frío.

Con respecto a la deformación a rotura, también se observa una cierta dependencia del valor alcanzado con la temperatura de prensado de las películas. Los valores obtenidos para las muestras termoprensadas a temperaturas de entre 70 y $110 \text{ }^\circ\text{C}$ son cercanos al 70% , mientras que para las conformadas entre 130 y $150 \text{ }^\circ\text{C}$ se alcanzan valores también similares pero más próximos al 120% . En relación a la película obtenida mediante "casting" en frío cabe mencionar su elevada deformación en comparación con los anteriores filmes termoconformados, llegando en este caso a alcanzar valores superiores al 350% del tamaño original.

El salto observado, tanto en la resistencia mecánica de tracción como en la deformación a rotura o en el módulo de Young, entre las películas conformadas a temperaturas de 70 - $110 \text{ }^\circ\text{C}$, y 130 - $150 \text{ }^\circ\text{C}$ se debe probablemente a la existencia de un gran número de imperfecciones microestructurales en la matriz polimérica, que pueden atribuirse a una unión defectuosa entre las estructuras de los gránulos o "pellets" obtenidos a partir de las resinas. De acuerdo con lo comentado en los resultados de la permeabilidad al vapor de agua, cabe la posibilidad de que a temperaturas reducidas la matriz aun no se encuentre lo suficientemente bien formada como para evitar la presencia de tales defectos, con lo cual se produce un enmascaramiento del efecto real del entrecruzamiento de las proteínas sobre las propiedades mecánicas de las películas obtenidas.

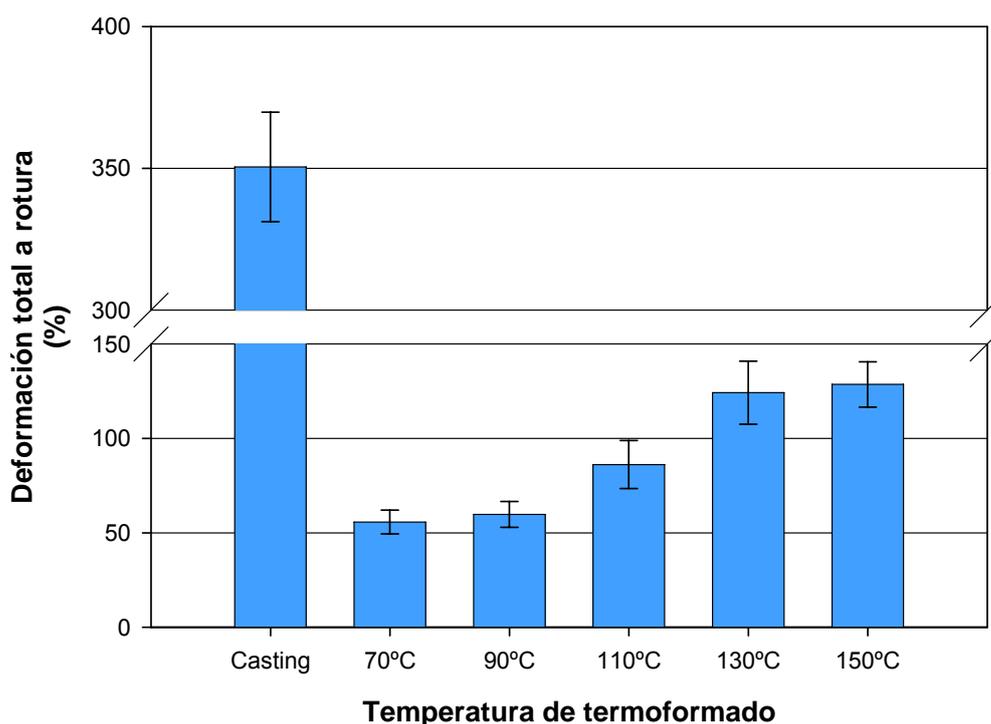


FIGURA 6. Efecto de la temperatura de termoconformado sobre la deformación total a rotura en películas de gliadinas con glicerol y comparación con una película obtenida por casting en frío.

Consecuentemente, las muestras termoprensadas entre 130 y 150 °C resultan mucho más homogéneas y perfectas microestructuralmente y, por ello, presentan una resistencia mecánica y una deformación a rotura considerablemente mayores que las conformadas entre 70 y 110 °C.

CONCLUSIONES

Se ha desarrollado una metodología para la obtención de películas de gliadinas mediante termoconformado, como una alternativa a las desarrolladas convencionalmente por vía húmeda mediante la técnica de "casting". De esta forma, se pretende obtener bioplásticos renovables a partir de proteínas mediante técnicas convencionales de procesamiento de plásticos sintéticos. El desarrollo de dicha metodología implica la elaboración de una resina de gliadinas y glicerol, la cual es posible convertir en granza y procesar en caliente.

Dado que el aminoácido cisteína forma parte de la composición de las gliadinas, éstas presentan reacciones de intercambio disulfuro-sulfhidrilo cuando se procesan en caliente. Dichas reacciones dan lugar al entrecruzamiento de la matriz proteica. Del estudio del efecto de la temperatura de procesamiento sobre las propiedades finales de las películas, se deduce que conforme aumenta la temperatura de procesamiento, aumenta la resistencia mecánica y al agua de las películas, y disminuye su hinchamiento. Sin embargo, a elevadas temperaturas de procesamiento las películas desarrollan una coloración amarillo parduzca. Del estudio realizado

se puede concluir que la temperatura idónea de procesado a la cual se observa una mejora de las propiedades funcionales de las películas sin alterar excesivamente su apariencia es de 130 °C. Temperaturas superiores de hasta 160 °C, no suponen un incremento en la mejora de las propiedades físicas de las películas pero si promueven su pardeamiento.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer a la Generalitat Valenciana la financiación de este trabajo a través del proyecto GVPRE/2008/181.

BIBLIOGRAFÍA

- Cuq B.; Gontard N.; Guilbert S. 1998. Proteins as Agricultural Polymers for Packaging. *Production. Cereal Chem.*, 75(1):1-9.
- Domenek S.; Brendel L.; Morel M.; Guilbert S. 2004. Swelling Behavior and Structural Characteristics of Wheat Gluten Polypeptide Films. *Biomacromolecules*. (5) 1002-1008.
- Hernández Muñoz P.; Kanavouras A.; K.W.Ng. Perry; Gavara R. 2003. Development and Characterization of Biodegradable Films Made from Wheat Gluten Protein Fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. (51); 7647-7654.
- Hernández Muñoz P.; López-Rubio A.; Lagarón J.; Gavara R. 2004. Effect of thermal treatments on functional properties of edible films made from wheat gluten fractions. *Food Hydrocolloids*. (18) 647-654.
- Hernandez Muñoz P.; Villalobos R.; Chiralt A. 2004. Effect of cross-linking using aldehydes on properties of glutenin rich films. *Food Hydrocolloids*. (18) 403-411.
- Hotchkiss, H.J., 1988. An overview of food and food packaging interactions. . En: "*Food and Packaging Interactions*", Hotchkiss, J. (Ed.), ACS Symposium Series 365:1.
- Koros, W.J., 1990. Barrier polymers and structures: overview. En: "*Barrier Polymers and Structures*". Koros, W.J. (Ed.), ACS Symp. Ser. 423:1.
- Mangavel G.; Barbot J.; Guéguen J.; Popineau Y. 2003. Molecular Determinants of the influence of Hydrophilic Plasticizers on the Mechanical Properties of Cast Wheat Gluten Films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. (51) 1447-1452.
- Overton, B.W., 1993. Re-use of polymers for food packaging in contact with food. En "*Materials for food packaging*", *Proc. Sem. at Swedish Exhibition and Congress Centre*", Gothenburg, Sweden.
- Petersen, K., Nielsen, P. V., Bertelsen, G., Lawther, M., Olsen, M. B., Nilssonk, N. H., et al. (1999). Potential of biobased materials for food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 10, 52-68.
- Pommet, M.; Redl, A.; Guilbert, S., et al. (2005). Intrinsic influence of various plasticizers on functional properties and reactivity of wheat gluten thermoplastic materials. *Journal of Cereal Science*, (42-1) 81-91.
- Rouilly, A.; Rigal, L. (2002). Agro-materials: A bibliographic review. *Journal of Macromolecular Science-Polymer Reviews*, (C42-4) 441-479.
- Tharanathan R.N. 2003. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends in Food Science and Technology*, (14) 71-78.