

# Efecto de la congelación sobre la microestructura y las propiedades físicas de películas comestibles a base de proteínas del lactosuero

Podrían constituir una alternativa interesante para su aplicación en alimentos sometidos al proceso de congelación. **Por Soazo M., Pérez L.M., Rubiolo A. C. y Verdini R. A. (\*)**

La pérdida de humedad en los alimentos congelados tiene importantes consecuencias económicas y continuamente recibe la atención de los científicos de alimentos principalmente debido al hecho de que la pérdida por exudación durante la descongelación, como resultado de un daño irreversible del tejido durante el proceso de congelación (congelación, almacenamiento y descongelación), conduce a la reducción de la atracción visual y a la pérdida de nutrientes (Duan y Zhao 2011).

La pérdida de peso es importante no sólo por el impacto económico de la reducción del peso comercializable, sino también porque la pérdida de humedad está fuertemente relacionada con la alteración de la estructura de los alimentos, y como consecuencia de la textura de los mismos (Pham y Mawson 1997).

Las películas y los recubrimientos comestibles podrían constituir una alternativa para mejorar la calidad de los alimentos congelados, principalmente porque pueden reducir la tasa de transferencia de humedad entre el alimento y la atmósfera circundante, mejorar la integridad estructural de los alimentos congelados durante la descongelación, y retrasar la aparición de quemaduras por frío (Duan et al. 2010).

Los recubrimientos comestibles se han aplicado a alimentos congelados, principalmente a pescado, carne y aves. Varios autores informaron que la aplicación de distintas formulaciones de recubrimientos comestibles (proteínas del lactosuero, quitosano, alginato, colágeno, celulosa, metilcelulosa, etc.) redujo la pérdida

de humedad, y otros parámetros de calidad mejoraron o se mantuvieron, en comparación con las muestras de alimentos sin recubrimiento (Stuchell y Krochta 1995, Han et al. 2004, Yu et al. 2008, Duan et al. 2010). Stuchell y Krochta (1995) describieron que la aplicación de un recubrimiento comestible a base de proteínas del lactosuero y monoglicéridos acetilados en filetes de salmón resultó eficaz en reducir la pérdida de humedad y en retrasar el inicio de la oxidación lipídica luego de 3 semanas de almacenamiento a  $-23^{\circ}\text{C}$ .

Otro estudio informó que los recubrimientos de quitosano incorporados con aceite de pescado redujeron la pérdida por exudación de filetes de bacalao congelados (Duan et al. 2010). Además, los recubrimientos a base de alginato de sodio y calcio fueron eficientes en mantener la calidad de carne de cerdo congelada (Yu et al. 2008).

En la bibliografía analizada se halló sólo un estudio referido a la aplicación de recubrimientos comestibles para mantener la calidad de frutas congeladas (Han et al. 2004). Dichos autores utilizaron recubrimientos comestibles para mejorar el almacenamiento de frutillas congeladas y observaron que los recubrimientos a base de quitosano fueron capaces de reducir la pérdida por exudación y ayudaron a mantener la calidad textural de las frutillas luego de su descongelación.

En cambio, las películas comestibles han sido escasamente aplicadas para envolver alimen-



tos sometidos a congelación. Sólo se encontró un estudio sobre el efecto del proceso de congelación en los parámetros de calidad de carne envuelta con una película comestible a base de colágeno (Farouk et al.1990).

En el caso de alimentos heterogéneos, películas comestibles colocadas entre dos componentes del alimento con distinta actividad de agua, pudieron reducir la transferencia de humedad entre los mismos (Duan y Zhao 2011). Esta área ha sido poco estudiada limitándose a productos como pan y salsa a base de tomate, cono simulando un cucurucho y helado de crema, y al sistema modelo de pasta de tomate y galletitas (Kamper y Fennema 1985, Kester y Fennema 1989, Rico-Peña y Torres 1990). Además de la migración de humedad, otras propiedades físicas, tales como la integridad, la resistencia mecánica, y la plasticidad de las películas, en particular en el caso de los productos envueltos, influyen en su aplicación. Por lo tanto, es sorprendente que el estudio del efecto de la congelación sobre las propiedades físicas de las películas comestibles se han restringido al estudio de la migración de la humedad, y limitado a ciertos materiales como metilcelulosa o hidroxipropil-celulosa y ácidos grasos (Kamper y Fennema 1984, Kamper y Fennema 1985, Kester y Fennema 1989). En vistas de lo anterior, es evidente la necesidad de aumentar los conocimientos en ésta área por su potencial interés para la aplicación a productos congelados. Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación fue estudiar el efecto de la congelación sobre la microestructura, permeabilidad al vapor de agua y respuesta frente a la tracción de películas a base de proteínas del lactosuero obtenidas a 5 y 25 °C.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Preparación de las películas comestibles

Se prepararon soluciones acuosas de concentrado de proteínas del lactosuero (WPC) en concentración inicial de 8 % (p/p), luego se les incorporó glicerol (Gli) en proporción WPC/Gli 3:1, sorbato de potasio para alcanzar una concentración final de 0,12 % (p/p) y agua destilada (cantidad necesaria para alcanzar el nivel de sólidos secos totales de 11,5 %). Las soluciones se agitaron durante 15 minutos y luego se agregó la cera de abejas (BW) al 0, 20 o 40 % con respecto a los sólidos secos de la

mezcla WPC/Gli. A las formulaciones que contuvieron cera de abejas se les adicionó Tween 80 en proporción cera de abejas/Tween 4:1. Todas las formulaciones fueron tratadas térmicamente colocándolas en un baño termostático (Dalvo Instrumentos, Argentina) a 90 °C durante 30 minutos. A continuación se homogeneizaron empleando un equipo Ultra-Turrax T25 (IKA Werke, Alemania) a 21500 rpm durante 5 minutos. Luego se colocaron en un baño de hielo para frenar la desnaturalización de las proteínas del suero y cristalizar las partículas lipídicas. Finalmente, las suspensiones fueron desgasificadas empleando vacío y utilizadas para la elaboración de las películas comestibles.

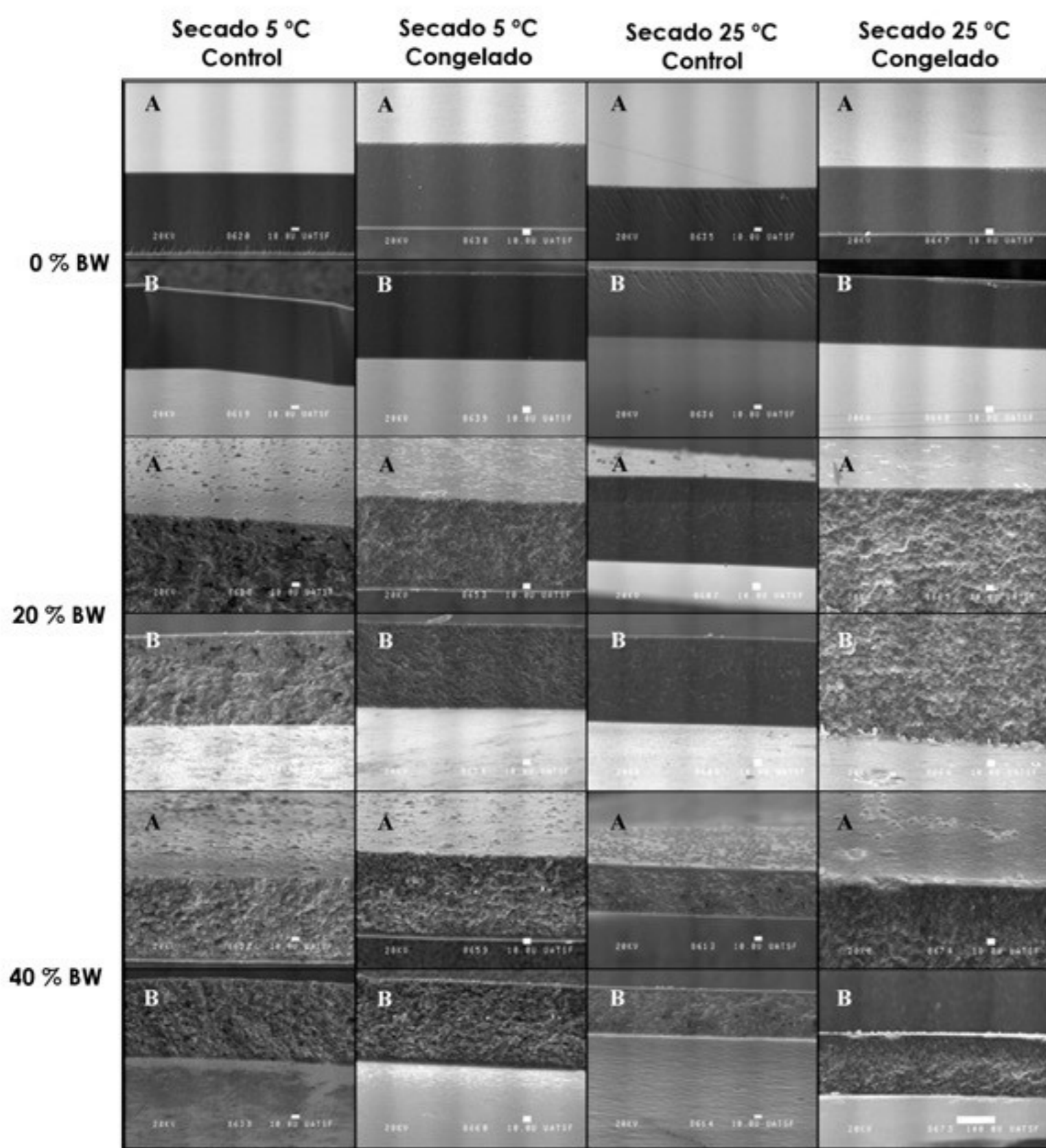
Las películas comestibles se prepararon en placas de Petri pesando 8 g de formulación por placa. Las placas se secaron sobre una superficie nivelada en una cámara ambiental Tabai Comstar PR 4GM (Tabai Espec. Corp., Japón) bajo condiciones controladas de temperatura (5 y 25 °C) y humedad relativa (HR) (58 %).

Se trabajó con dos grupos de películas. Un grupo fue acondicionado y subsiguientemente empleado para las determinaciones (Grupo Control). Otro grupo de películas fue congelado en la cámara ambiental sobre una superficie nivelada a -30 °C, almacenado en recipientes plásticos en un freezer doméstico a -20 °C durante 30 días y transcurrido éste período, descongelado en heladera a 5 °C y acondicionado para las determinaciones (Grupo Congelado). El acondicionamiento fue el mismo para ambos grupos de películas y consistió en la colocación de las mismas en la cámara ambiental a 25 °C y 58 % HR durante 3 días.

Con anterioridad a efectuar los distintos ensayos se realizó una selección de las películas con la finalidad de emplear aquellas que carecieran de fracturas, burbujas y otros defectos físicos.

### Microscopía electrónica de barrido

Las imágenes de las secciones transversales de las películas se obtuvieron con un microscopio electrónico JEOL JSM-35C (Jeol, Japón). Las muestras se fracturaron por inmersión en aire líquido y se montaron sobre portamuestras de bronce, perpendicularmente a su



La Figura 1 muestra una muestra micrografías electrónicas de barrido de películas a base de WPC congeladas y controles obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40 % de cera de abejas.

superficie. Luego, se efectuó el recubrimiento con oro durante 15 minutos a 70-80 mtorr y finalmente se registraron las imágenes.

**Permeabilidad al vapor de agua**

El ensayo se realizó sobre películas de 90 mm de diámetro colocadas en copas de polietileno de alta densidad especialmente construidas para la determinación. La cavidad de la base de la copa permitió contener 10 mL de agua destilada (100 % HR). Las copas con las películas ensambladas se colocaron en la cámara ambiental a 25 °C y 58 % HR. Se registró el peso inicial de las mismas y luego de alcanzado el estado estacionario se pesaron cada 90 minutos para obtener los datos de pérdida de peso en función del tiempo, los cuales se emplearon para calcular la permeabilidad al vapor de agua de la película (Soazo et al. 2011). La determinación se efectuó por quintuplicado.

**Ensayo de tracción**

El ensayo de tracción se efectuó empleando una máquina universal de ensayos Instron Serie 3340 de una sola columna (Instron, Estados Unidos) equipada con una celda de carga de

100 kg. De cada formulación de película se cortaron muestras de 7 mm de ancho y 60 mm de largo con un bisturí. En cada extremo de cada muestra se pegó con cinta adhesiva un cuadrado de cartulina de 30 mm de lado con la finalidad de mejorar la sujeción de la probeta a las mordazas del equipo. Las películas fueron acondicionadas en la cámara ambiental durante 24 horas a 25 °C y 58 % HR y luego equilibradas en la sala de ensayo durante 2 horas a 22 °C y 50 % HR, en promedio. Se efectuaron 10 réplicas de cada muestra. Se trabajó a una velocidad de deformación constante de 0,05 mm/s partiendo de una separación inicial entre mordazas de 30 mm (longitud de película expuesta entre los extremos protegidos con cartulina). A partir de las curvas de fuerza-deformación se obtuvieron los parámetros esfuerzo a ruptura (ER), elongación a ruptura (E) y módulo elástico (ME).

**Análisis estadístico de los datos**

Los datos experimentales obtenidos fueron analizados utilizando análisis de variancia (ANOVA). Cuando los efectos de los factores fue significativo ( $p < 0,05$ ) se procedió a realizar el test Honestly Significant Difference (HSD) de Tukey para la comparación de medias (95 % de nivel de confianza). El análisis estadístico fue realizado con el programa estadístico Statgraphics Plus para Windows 3.0 (Manugistics Inc., Estados Unidos).

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

**Microestructura**

El análisis de las micrografías y la comparación con las películas controles mostró que el proceso de congelación no ocasionó fracturas ni perforaciones en las películas. Sí se evidenció una alteración en la morfología del lípido situado en la superficie, mostrando un cierto aspecto aplanado. Además, los huecos en la matriz, ocupados por los lípidos, fueron menos visibles que en las películas que no fueron congeladas. Esta última observación podría evidenciar una cierta reorganización de la matriz proteica. Al disminuir la temperatura de secado de 25 a 5 °C, el proceso de secado de las películas se prolongó y, por lo tanto, los fenómenos responsables de la desestabilización de las emulsiones se vieron acentuados. Así, las películas con 20 y 40 % de cera de

TABLA 1

Permeabilidad al vapor de agua (WVP) de los distintos grupos de películas comestibles a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40 % de BW, controles y sometidas al proceso de congelación.

Grupo	TS (°C)	BW (%)	WVP (gmm/m <sup>2</sup> hkPa)
Congelado	5	0	3,76±0,19 <sup>a</sup>
Control	5	0	3,48±0,17 <sup>abc</sup>
Congelado	5	20	3,29±0,15 <sup>bcd</sup>
Control	5	20	3,07±0,14 <sup>de</sup>
Congelado	5	40	3,38±0,15 <sup>bcd</sup>
Control	5	40	2,56±0,08 <sup>f</sup>
Congelado	25	0	3,31±0,19 <sup>bcd</sup>
Control	25	0	3,54±0,11 <sup>ab</sup>
Congelado	25	20	2,73±0,23 <sup>ef</sup>
Control	25	20	3,39±0,17 <sup>bcd</sup>
Congelado	25	40	3,19±0,14 <sup>cd</sup>
Control	25	40	3,09±0,11 <sup>d</sup>

TS: temperatura de secado. Los datos corresponden a los valores medios y desviaciones estándar de 5 muestras. Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05).

abejas obtenidas a 5 °C mostraron una mayor cobertura de su superficie con lípidos en comparación con las películas con 20 y 40 % de cera de abejas obtenidas a 25 °C.

#### Permeabilidad al vapor de agua

La Tabla 1 muestra los valores de permeabilidad al vapor de agua de películas a base de WPC congeladas y controles obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40 % de cera de abejas. Como puede observarse, las películas sin cera de abejas no fueron afectadas por el proceso de congelación, pero en el caso de las películas con cera de abejas el efecto de dicho proceso dependió de la temperatura de secado y del contenido de cera de abejas. Así, la formulación con 40 % de cera de abejas obtenida a 5 °C mostró valores significativamente superiores cuando fue sometida al proceso de congelación mientras que la formulación con 20 % de cera de abejas obtenida a 25 °C tuvo valores significativamente inferiores. Los valores de permeabilidad al vapor de agua de las películas obtenidas a 5 °C con 20 % de cera de abejas y de las películas obtenidas a 25 °C con 40 % de cera de abejas no fueron afectados por el proceso de congelación.

Kester y Fennema (1989) estudiaron el efecto del almacenamiento a bajas temperaturas sobre las características de barrera de películas de hidroxipropil metil celulosa laminadas con

cera de abejas almacenando las películas durante 3 y 9 semanas a -40 °C. Dichos autores hallaron un pequeño incremento en la permeabilidad al vapor de agua posiblemente debido a pequeñas imperfecciones que podrían desarrollarse en las películas como consecuencia de fluctuaciones en la temperatura de almacenamiento y a la contracción y expansión de los lípidos. Si hubieran ocurrido roturas o fracturas mayores, se hubiera anticipado una elevación dramática en la permeabilidad al vapor de agua. También, Labuza y Contreras-Medellin (1981) observaron que algunos materiales de envases, como por ejemplo el poliestireno, mostraron mayor permeabilidad al vapor de agua a -30 que a 35°C.

El análisis de las micrografías electrónicas de barrido de las distintas formulaciones de películas congeladas evidenció una alteración en la morfología del lípido situado en la superficie, mostrando un cierto aspecto aplanado. Kester y Fennema (1989) mostraron que la morfología del lípido se relaciona con la permeabilidad al vapor de agua de la película comestible. Posiblemente, el estudio de la estructura cristalina de la cera de abejas en las películas congeladas y controles podría ayudar a determinar si los lípidos con la morfología aplanada presentes en las películas congeladas son menos eficientes para reducir la transferencia de →

TABLA 2

Parámetros obtenidos en el ensayo de tracción de los distintos grupos de películas comestibles a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0,

Grupo	TS (°C)	BW (%)	ER (MPa)	E (%)	ME (MPa)
Congelado	5	0	3,69±0,43 <sup>b</sup>	4,99±0,59 <sup>a</sup>	154±9 <sup>c</sup>
Control	5	0	4,92±0,78 <sup>a</sup>	3,50±0,98 <sup>b</sup>	229±2 <sup>a</sup>
Congelado	5	20	1,40±0,10 <sup>ef</sup>	2,30±0,23 <sup>c</sup>	108±9 <sup>e</sup>
Control	5	20	2,63±0,36 <sup>c</sup>	2,38±0,36 <sup>c</sup>	184±1 <sup>b</sup>
Congelado	5	40	1,10±0,22 <sup>f</sup>	1,89±0,35 <sup>c</sup>	103±9 <sup>e</sup>
Control	5	40	1,64±0,33 <sup>def</sup>	1,80±0,42 <sup>c</sup>	149±1 <sup>cd</sup>
Congelado	25	0	4,66±0,48 <sup>a</sup>	4,37±0,65 <sup>a</sup>	190±1 <sup>b</sup>
Control	25	0	3,31±0,43 <sup>b</sup>	4,36±0,83 <sup>a</sup>	156±2 <sup>c</sup>
Congelado	25	20	2,09±0,18 <sup>cd</sup>	2,38±0,27 <sup>c</sup>	148±6 <sup>cd</sup>
Control	25	20	2,13±0,23 <sup>cd</sup>	2,39±0,47 <sup>c</sup>	155±9 <sup>c</sup>
Congelado	25	40	1,73±0,33 <sup>de</sup>	2,25±0,55 <sup>c</sup>	152±2 <sup>cd</sup>
Control	25	40	1,65±0,07 <sup>def</sup>	2,41±0,53 <sup>c</sup>	133±2 <sup>d</sup>

TS: temperatura de secado. Los datos corresponden a los valores medios y desviaciones estándar de 5 TS: Temperatura de secado. BW: Cera de abejas. ER: Esfuerzo a ruptura. E: Elongación a ruptura. ME: Módulo elástico. Los datos corresponden a los valores medios y desviaciones estándar de 10 muestras.

Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05).

vapor de agua. Si tal fuera el caso, podríamos explicar el aumento en la permeabilidad al vapor de agua de las películas congeladas con 40 % de cera de abejas obtenidas a 5 °C. Por otra parte, probablemente hubo una reorganización de la matriz proteica. Las películas con 20 % de cera de abejas formadas a 25 °C se caracterizaron por presentar una baja proporción de lípidos en la superficie (observado mediante microscopía electrónica de barrido), por lo cual parece inapropiado justificar el efecto de disminución en la permeabilidad al vapor de agua observado en función de la alteración de los mismos. Posiblemente, una modificación de la matriz para generar un patrón más compacto podría justificar el hecho de que las películas congeladas fueran menos permeables que las controles.

#### Ensayo de tracción

La Tabla 2 muestra el esfuerzo a ruptura, la elongación a ruptura y el módulo elástico de películas a base de WPC congeladas y controles obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40 % de cera de abejas. Las películas congeladas obtenidas a 5 °C

mostraron una disminución en el esfuerzo a ruptura y en el módulo elástico en comparación con las películas controles. Cuando el secado se produjo a 25 °C, la formulación sin cera de abejas evidenció un aumento en dichos parámetros mientras que las formulaciones que contuvieron cera de abejas mostraron parámetros mecánicos similares a los de las películas controles. Por otra parte, la elongación a ruptura no fue afectada por el proceso de congelación en la mayoría de las formulaciones.

#### CONCLUSIONES

Las películas a base de proteínas del lactosuero fueron capaces de tolerar el proceso de congelación, permaneciendo funcionales, y, por lo tanto, podrían constituir una alternativa interesante para su aplicación en alimentos congelados. Sin embargo, tanto la temperatura de secado como la composición de las películas influyeron sobre las propiedades evaluadas, confirmando la importancia de la adecuada formulación de las soluciones formadoras de películas en vista de los requisitos impuestos por la aplicación de las mismas.



**BIBLIOGRAFÍA**

Duan J, Cherian G, Zhao Y. 2010. Quality enhancement in fresh and frozen lingcod (*Ophiodoneongates*) fillets by employment of fish oil incorporated chitosan coatings. *Food Chemistry*, 119: 524-532.

Duan J, Zhao Y. 2011. Edible coatings and films and their applications on frozen foods. En *Handbook of frozen food processing and packaging*. Da-Wen S, editor. CRC Taylor and Francis. pag 875-892.

Farouk MM, Price JF, Salih AM. 1990. Effect of an edible collagen film overwrap on exudation and lipid oxidation in beef round steak. *Journal of Food Science*, 55(6): 1510-1513.

Han C, Zhao Y, Leonard SW, Traber MG. 2004. Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria x ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). *Postharvest Biology and Technology*, 33: 67-78.

Kamper SL, Fennema O. 1984. Water vapor permeability of and edible, fatty acid, bilayer film. *Journal of Food Science*, 49: 1482-1485.

Kamper SL, Fennema O. 1985. Use of an edible film to maintain water vapor gradients in foods. *Journal of Food Science*, 50: 382-384.

Kester JJ, Fennema O. 1989. An edible film of lipids and cellulose ethers: barrier properties to moisture vapor transmission and structural evaluation. *Journal of Food Science*, 54(6): 1383-1389.

Labuza TP, Contreras-Medellin R. 1981. Prediction of moisture protection requirements for foods. *Cereal Foods World*, 26(7): 335.

Pham QT, Mawson RF. 1997. Moisture migration and ice recrystallization in frozen foods. En *Quality in Frozen Food*. M. Erickson C, Hung YC, editors. New York: Chapman & Hall. pag 67-91.

Rico-Peña DC, Torres JA. 1990. Edible methylcellulose-based films as moisture-impermeable barriers in sundae ice cream cones. *Journal of Food Science*, 55(5): 1468-1469.

Soazo M, Rubiolo AC, Verdini RA. 2011. Effect of drying temperature and beeswax content on physical properties of whey protein emulsion films. *Food Hydrocolloids*, 25(5): 1251-1255.

Stuchell YM, Krochta JM. 1995. Edible coatings on frozen king salmon: effect of whey protein isolate and acetylated monoglycerides on moisture loss and lipid oxidation. *Journal of Food Science*, 60(1): 28-31.

**La pérdida de humedad en los alimentos congelados tiene importantes consecuencias económicas, conduce a la reducción de la atracción visual, de peso y a la pérdida de nutrientes**

Yu XL, Li XB, Xu XL, Zhou GH. 2008. Coating with sodium alginate and its effects on the functional properties and structure of frozen pork. *Journal of Muscle Foods*, 19: 333-351.

**AGRADECIMIENTOS**

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas y a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica por el financiamiento recibido. Este trabajo fue presentado en el IV Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Córdoba, Argentina, 14 a 16 de Noviembre de 2012

(\*) Soazo M.<sup>1,2</sup>, Pérez L.M.<sup>1,2</sup>, Rubiolo A.C.<sup>3</sup>, Verdini R.A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Química Rosario (UNR-CONICET). Suipacha 570 - (2000) Rosario (Argentina).

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (UNR), Suipacha 531, (2000) Rosario, Santa Fe, Argentina

<sup>3</sup> Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (UNL-CONICET) - Güemes 3450, Santa Fe (3000), Argentina. ■

 Más información:  
[verdini@iquir-conicet.gov.ar](mailto:verdini@iquir-conicet.gov.ar)