

Biopelículas activas obtenidas a partir de proteínas lácteas

## *Envases alimentarios* SOSTENIBLES



Los envases plásticos utilizados para el envasado de alimentos están constituidos por materiales poliméricos de origen no renovable (derivados del petróleo) y representan una importante fuente de generación de residuos y contaminación para el medio ambiente. En el presente estudio se han desarrollado películas plásticas obtenidas a partir de biopolímeros con el fin de obtener envases alimentarios activos y medioambientalmente sostenibles capaces de proteger al alimento de ataques microbiológicos o degradación oxidativa. Estas películas se prepararon a partir de proteínas lácteas (caseinatos) con glicerol como plastificante y un agente antimicrobiano proveniente del aceite esencial del orégano (carvacrol) como componente activo. Las películas obtenidas fueron posteriormente caracterizadas para estudiar sus principales propiedades mecánicas, térmicas y funcionales. Asimismo, se estudió su capacidad antimicrobiana y se determinó su desintegración en *compost* para evaluar la sostenibilidad de los envases alimentarios obtenidos.

Por **ARRIETA, M.P.** M.Sc. en Tecnología de los Alimentos por la Universidad Católica de Córdoba, Argentina. Estudiante Ph.D. Dpto. Química Analítica, Nutrición y Bromatología. Universidad de Alicante, España. marina.arrieta@ua.es. **PELTZER, M.A.** Doctora en Química por la Universidad de Alicante, España. Investigadora contratada. Dpto. Química Analítica, Nutrición y Bromatología. Universidad de Alicante, España. **GARRIGÓS SELVA, M.C.** Doctora en Química por la Universidad de Alicante, España. Profesora ayudante doctora. Dpto. Química Analítica, Nutrición y Bromatología. Universidad de Alicante, España. **JIMÉNEZ MIGALLÓN, A.** Doctor en Ciencias Químicas por la Universidad de Alicante, España. Profesor titular de Universidad. Dpto. Química Analítica, Nutrición y Bromatología. Universidad de Alicante, España.



Latinstock

Los envases plásticos utilizados en la actualidad para el envasado de alimentos están constituidos por materiales poliméricos derivados del petróleo (tabla 1). Su uso se ha extendido en esta y otras muchas aplicaciones debido a las numerosas ventajas que ofrecen, en particular su disponibilidad a gran escala, relativo bajo coste de producción, ligereza, gran versatilidad y relativamente buenas propiedades de barrera [1].

Sin embargo, estos materiales, a pesar de sus múltiples ventajas, presentan ciertos inconvenientes ya que, además de

**Material**

| Material                     | Abreviatura | Aplicaciones        |
|------------------------------|-------------|---------------------|
| Polietileno de alta densidad | PEAD        | Botellas            |
| Polietileno de baja densidad | PEBD        | Películas, bolsas   |
| Poli (etilentereftalato)     | PET         | Botellas            |
| Poliestireno                 | PS          | Bandejas, tarrinas  |
| Polipropileno                | PP          | Películas flexibles |
| Poli (cloruro de vinilo)     | PVC         | Películas flexibles |

**Tabla 1.** Materiales plásticos derivados del petróleo tradicionalmente utilizados en la fabricación de envases para alimentos.



Latinstock

ser sintetizados a partir de una fuente no renovable, no son biodegradables, lo cual los convierte en una gran fuente de generación y acumulación de residuos [2], suponiendo un problema para el medio ambiente.

En los últimos años se ha desarrollado un creciente interés político y social por la sostenibilidad de los materiales, considerando que la producción y eliminación de los polímeros presenta riesgos medioambientales que deben ser limitados. Así, se ha extendido la investigación en materias primas renovables, biotransformaciones, diseño estructural y biodegradabilidad [3]. En este sentido, actualmente se observa un creciente interés en los biopolímeros,

debido a la mayor conciencia medioambiental de los ciudadanos y a los desarrollos obtenidos en los últimos años, que los hacen una alternativa real a los polímeros tradicionales. Los biopolímeros son polímeros obtenidos a partir de una fuente natural como pueden ser los organismos vivos, y que cumplen con los principales condicionantes medioambientales para su uso: ser obtenidos de fuentes renovables, como la caña de azúcar, proteínas y almidones, y mostrar una alta capacidad de biodegradación. Estos materiales se pueden utilizar para diversas aplicaciones y en ciertos casos se pueden producir con un menor consumo energético que sus homólogos petroquímicos, por lo que tienden a ser menos tóxicos para el medio ambiente [4].

Por otra parte, el creciente interés en los alimentos de alta calidad, con mayor vida útil y un impacto ambiental reducido, ha fomentado el desarrollo de películas y revestimientos de estos biopolímeros [5]. Una de las principales áreas de investigación en envases alimentarios se ha centrado en el desarrollo de nuevas técnicas de envasado capaces de mejorar las propiedades de los alimentos a partir de sus interacciones con el envase; es lo que se conoce como «sistemas de envasado activo».

Es conocido que los productos lácteos contienen diversos compuestos con propiedades funcionales adecuadas e incluso algunos de ellos, como la caseína, se han utilizado en la fabricación de diferentes productos: adhesivos, encolados, fibras textiles, acabados del cuero, industria papelerá, revestimientos y biopelículas para envasado [6], entre otras aplicaciones.

En lo que se refiere a las películas de caseína, éstas representan materiales innovadores para su uso en el envasado alimentario debido a que son transparentes, biodegradables, presentan

### LOS BIOPOLÍMEROS SE PRODUCEN PRINCIPALMENTE A PARTIR DE RECURSOS RENOVABLES CON UN MENOR CONSUMO ENERGÉTICO QUE SUS HOMÓLOGOS PETROQUÍMICOS, TENDIENDO A SER MENOS TÓXICOS PARA EL MEDIO AMBIENTE

buenas propiedades de barrera al oxígeno, preservando así al alimento de procesos oxidantes, y además pueden usarse como soporte de agentes antimicrobianos, antioxidantes o nutrientes (como vitaminas). Sin embargo, estos materiales poseen dos desventajas en comparación con otras películas de proteínas: flexibilidad limitada y alta sensibilidad al vapor de agua [4,6]. Para solucionar estos inconvenientes, es necesario utilizar plastificantes para mejorar el procesado y la flexibilidad de las películas. Los plastificantes más utilizados para este tipo de materiales son ciertos polioles, azúcares o almidones, debido a su compatibilidad con las proteínas y su capacidad para favorecer la elasticidad y flexibilidad [6].

Los envases antimicrobianos son uno de los sistemas de envasado activo más prometedores y estudiados en la última década y consisten en sistemas capaces de inhibir la acción de los microorganismos causantes de la contaminación de los alimentos [7]. Las bacterias patógenas son, sin duda, el grupo más importante de microorganismos asociados con los alimentos, tanto por lo que se refiere a la transmisión de enfermedades como a sus alteraciones, por lo que su control es decisivo para asegurar la calidad de los alimentos envasados [8]. Existen una serie de microorganismos llamados marcadores cuya presencia en los alimentos advierte sobre una inadecuada manipulación de la materia prima o eventual contaminación, con la consiguiente existencia de un peligro pa-

ra la salud del consumidor [9]. Los envases antimicrobianos son sistemas capaces de controlar la descomposición microbiológica de productos perecederos [10]. En este sentido, existen plantas ricas en aceites esenciales que son conocidos por sus propiedades antimicrobianas [11]. Los aceites esenciales más renombrados son los provenientes del orégano (carvacrol y timol), clavo (eugenol), canela (cinamaldehído y eugenol) y romero (ácido carnósico y carnosol). De todos ellos en el presente trabajo se escogió como agente bio-activo el carvacrol, debido a sus conocidas propiedades antimicrobianas frente a un amplio número de microorganismos [12]. Los aceites esenciales y sus componentes, como el carvacrol, están clasificados como aromatizantes por Decisión de la Comisión Europea 2002/113/CE, y además son reconocidos como seguros por la FDA (*Food and Drug Administration*) [13].

En resumen, se estima que los nuevos materiales derivados de los caseinatos pueden reemplazar potencialmente a algunos polímeros sintéticos utilizados en el envasado de alimentos, debido a su naturaleza de procedencia renovable y biodegradable [14]. Además, poseen un elevado potencial comercial ya que pueden servir como soporte de aditivos activos con características antimicrobianas. Asimismo, los costes de producción de este tipo de biopolímeros se encuentran en condiciones de entrar en competencia comercial con los polímeros de uso común, como las poliolefinas o el PVC.

## Materiales de partida

Para preparar las biopelículas se utilizaron los siguientes materiales de partida:

- Caseinato de sodio (Lote STD: 11868 - Ferrer Alimentación S.A., Barcelona, España).
- Glicerol anhidro pureza 99,5% (Fluka, Madrid, España).
- Carvacrol pureza 98% (Sigma Aldrich, Móstoles, España).
- Agua destilada.

Las bacterias utilizadas para el estudio de la capacidad antimicrobiana de las biopelículas desarrolladas fueron: *E. coli* y *S. aureus*, obtenidas de la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT) de la Universidad de Valencia. Los medios de cultivo utilizados para el diagnóstico bacteriológico fueron suministrados por Insulab (Valencia, España).

## Preparación de las biopelículas

Las biopelículas se prepararon disolviendo 5 g de proteína láctea (caseinato de sodio) en 95 g de agua destilada y calentando hasta 65° C para facilitar su solubilización. Tras la disolución total del polímero, se dejó enfriar la solución a temperatura ambiente. Para obtener las distintas formulaciones, se añadieron diferentes porcentajes de glicerol anhidro (15, 25 y 35%) y para las formulaciones con agente antimicrobiano se agregó un 10% de carvacrol. Una vez preparadas las soluciones formadoras de las biopelículas, se colocaron 30 mL de cada disolución en cápsulas de Petri de polietileno (15 cm de diámetro) y posteriormente se secaron en condiciones de temperatura y hume-



**Figura 1.** Biopelículas de caseinato de sodio y glicerol (35%) obtenidas sin (izquierda) y con carvacrol (derecha).

dad relativa controladas (25° C y 50% HR) durante 48 horas.

Tras este tratamiento, se obtuvieron películas de caseinato de sodio/glicerol (NaCas-G) transparentes e inodoras; mientras que las muestras a las que se les adicionó carvacrol (NaCas-G-CV) también resultaron transparentes pero no inodoras, percibiéndose un ligero olor característico a orégano (figura 1).

## Caracterización de las biopelículas

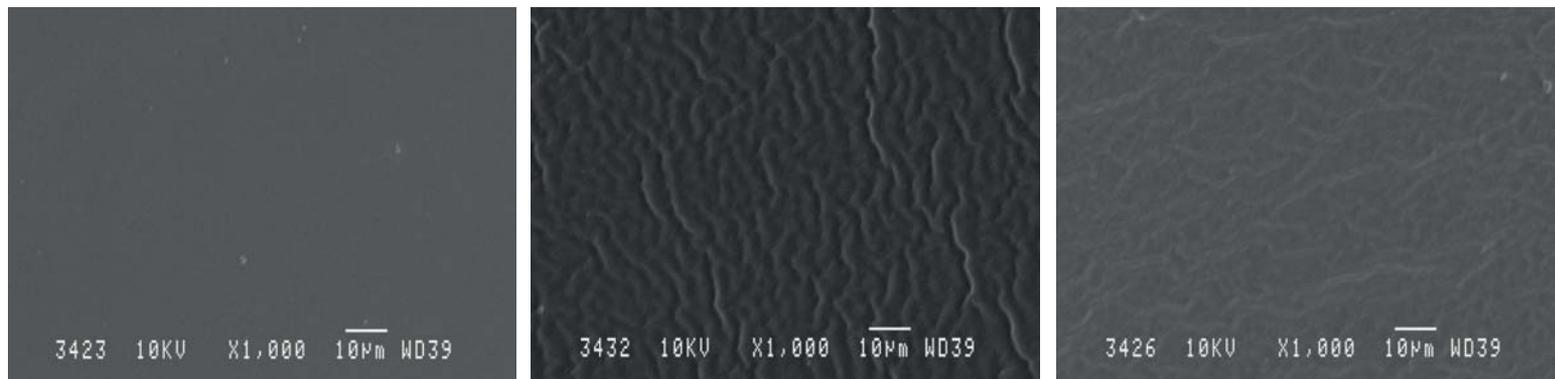
### *Microscopía electrónica de barrido (SEM) de las biopelículas*

Para estudiar la morfología superficial de las biopelículas se empleó la micros-

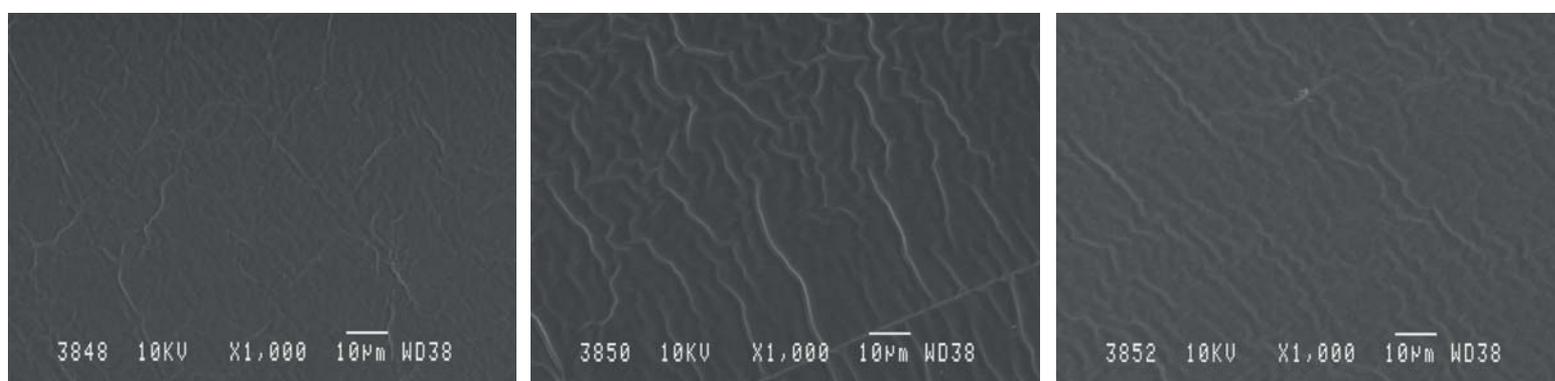
copía electrónica de barrido (SEM). Esta técnica permite el análisis microscópico de los polímeros con una alta resolución mediante un bombardeo de electrones de alta energía que barren la superficie del material. Con el concurso de un detector apropiado permite registrar el resultado de esta interacción para dar imágenes topográficas en dos dimensiones [15]. Las muestras utilizadas deben ser conductoras, y considerando que los polímeros muestran características de aislantes eléctricos, se recubrieron las muestras con una delgada capa de oro para mejorar dicha conducción.

Una vez preparadas las muestras se realizaron microfotografías de las mismas con una magnificación de 1000x. Para ello se utilizó un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-840 (Tokio, Japón), que consta de un detector de electrones retrodispersados y un detector de rayos X. Se empleó una aceleración electrónica de 10kV.

**LOS ENVASES ANTIMICROBIANOS SON SISTEMAS CAPACES DE INHIBIR LA ACCIÓN DE LOS MICROORGANISMOS CAUSANTES DE LA CONTAMINACIÓN DE LOS ALIMENTOS**



**Figura 2.** Micrografías 1000x de la superficie de las biopelículas de caseinato de sodio con glicerol: (a) 15%; (b) 25%; (c) 35%.



**Figura 3.** Micrografías 1000x de la superficie de las biopelículas de caseinato de sodio con carvacrol 10% y glicerol (a) 15%; (b) 25%; (c) 35%.

Las muestras presentaron una microestructura de superficie homogénea (figuras 2 y 3), lo que indica una buena dispersión del plastificante en la matriz polimérica ya que en ningún caso se observó formación de dos fases.

Como se puede observar, las biopelículas con un 25% de glicerol presentaron una estructura agrietada. Este hecho coincide con los resultados obtenidos por Kristo *et al.* (2008) [16], que encontraron que la concentración mínima de plastificante (sorbitol) necesaria para superar la fragilidad y mejorar la flexibilidad de las películas de caseinato de sodio era también de un 25%.

### Caracterización óptica de las biopelículas

Con el objetivo de conocer si las biopelículas obtenidas presentaban algún

tipo de variación en su coloración según la formulación utilizada, se llevaron a cabo mediciones de color mediante el uso de una técnica fotométrica. El equipo utilizado en el presente trabajo fue un fotómetro Konica CM-3600d Colorflex-DIFF2, HunterLab, Hunter Associates Laboratory, Inc. (Reston, Virginia, EE UU), que permite la medida del color por reflexión y por transmisión. Los valores obtenidos por el equipo se dan en las coordenadas del espacio colorimétrico CIELAB, que cons-

ta de un sistema cartesiano definido por tres coordenadas colorimétricas,  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , las cuales permiten describir el color de cualquier objeto.  $L^*$  indica la luminosidad, es decir, la cantidad de luz percibida que refleja o transmite un material y puede tomar valores entre 0 y 100;  $a^*$  indica la saturación o desviación del punto acromático de  $L^*$  hacia el rojo ( $a^* > 0$ ) o hacia el verde ( $a^* < 0$ ); y  $b^*$  es el ángulo de tono que define la desviación de  $L^*$  en el eje amarillo ( $b^* > 0$ ) o azul ( $b^* < 0$ ).

**LAS BIOPELÍCULAS DE CASEINATO SON TRANSPARENTES,  
PRÁCTICAMENTE INCOLORAS, BIODEGRADABLES,  
PRESENTAN EXCELENTES PROPIEDADES BARRERA AL  
OXÍGENO Y ADEMÁS PUEDEN USARSE COMO SOPORTE DE  
AGENTES BIOACTIVOS**

| BIOPÉLICULAS     | L*    | DS   | a*    | DS   | b*    | DS   |
|------------------|-------|------|-------|------|-------|------|
| NaCas-G15%       | 34,30 | 0,07 | -0,10 | 0,10 | -0,88 | 0,03 |
| NaCas-G25%       | 34,28 | 0,05 | -0,24 | 0,04 | -0,81 | 0,05 |
| NaCas-G35%       | 33,83 | 0,08 | -0,13 | 0,03 | -0,69 | 0,04 |
| NaCas-G15%-CV10% | 34,71 | 0,06 | -0,37 | 0,06 | -1,30 | 0,10 |
| NaCas-G25%-CV10% | 34,64 | 0,05 | -0,30 | 0,03 | -0,96 | 0,05 |
| NaCas-G35%-CV10% | 33,78 | 0,03 | -0,17 | 0,06 | -0,72 | 0,06 |

**Tabla 2.** Coordenadas de color del espacio CIELAB de las biopelículas (n = 5).

La medida del color se realizó colocando las biopelículas sobre el sensor y tomando cinco medidas en diferentes puntos de su superficie. La tabla 2 muestra las medias obtenidas para cada uno de los parámetros anteriores así como su desviación estándar para todas las formulaciones desarrolladas.

Como se puede observar, la luminosidad L\* muestra un ligero descenso con el aumento en la proporción del plastificante, por lo que se puede concluir que las biopelículas, al estar más plastificadas, se hacen ligeramente más transparentes. Tanto para los parámetros de saturación a\* como para el ángulo de tono b\*, se observaron valores ligeramente inferiores a cero, desviándose por lo tanto levemente hacia los colores verde y azul, respectivamente. Sin embargo, se debe tener en cuenta que los valores absolutos de los parámetros a\* y b\* fueron muy cercanos a 0 en todos los casos, indicando la ausencia de color y una elevada transparencia para todas las formulaciones, incluso para las que contenían carvacrol. En este sentido, Pereda *et al.* (2010) [17], si bien obtuvieron películas transparentes de caseinato de sodio plastificadas con glicerol y modificadas con aceite de tung, observaron que éstas presentaban una coloración ligeramente ámbar, obteniendo valores de la coordenada b\* de hasta 8,11.

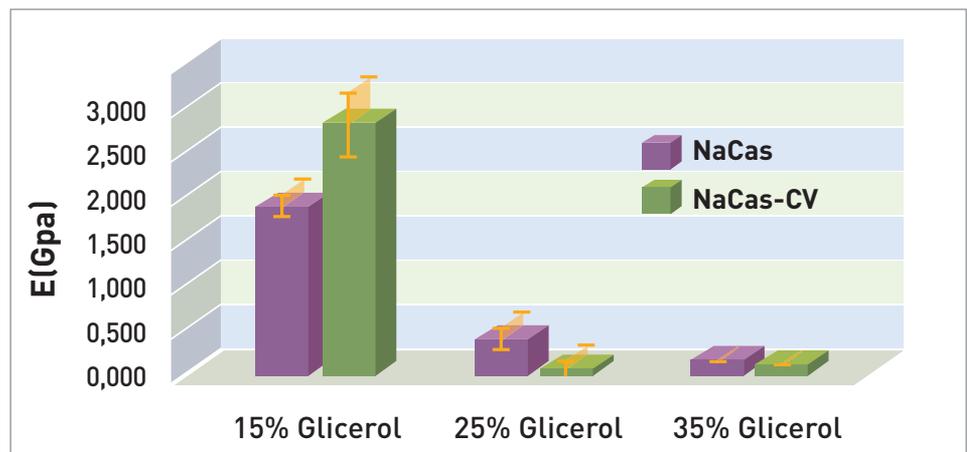
### Caracterización mecánica de las biopelículas

Las propiedades mecánicas a tracción de las biopelículas se estudiaron si-

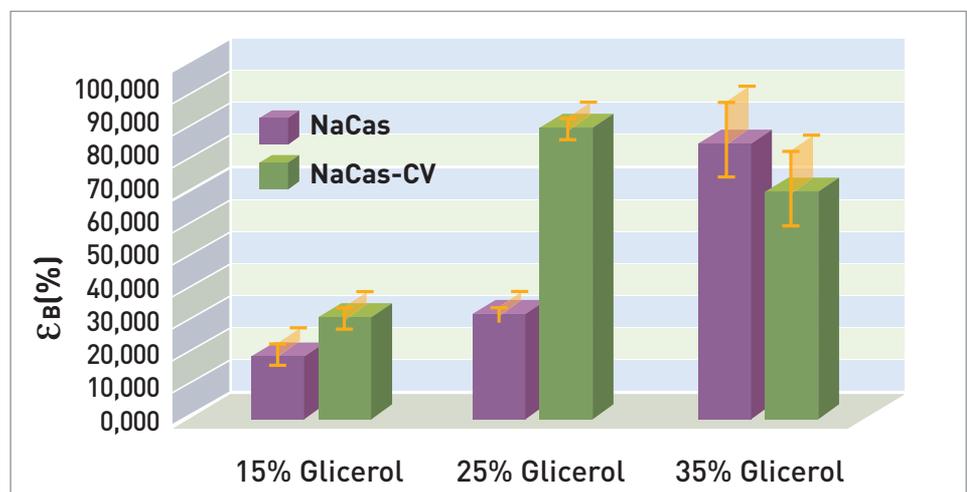
guiendo la Norma ASTM D882-01 (18). La información aportada por el ensayo de tracción es muy completa, ya que permite medir la respuesta elástica y plástica del material. Así, los parámetros módulo elástico de Young (E) y porcentaje de deformación en el punto de

rotura ( $\epsilon_B\%$ ) permiten obtener conclusiones sobre la resistencia del material y sus propiedades dúctiles, respectivamente (figuras 4 y 5).

Se pudo comprobar que la adición de glicerol a la máxima proporción utilizada (35%) provocó una disminución importante en el módulo elástico de Young (figura 4), lo que implica una disminución importante en la rigidez del material, como era de esperar al tratarse de un proceso de plastificación. Por otro lado, las biopelículas con glicerol al 15% mostraron valores de E mayores que los de algunos polímeros convencionales como polipropileno (0,2-1,2 GPa), polietileno de alta densidad (0,5-



**Figura 4.** Módulo elástico de Young obtenido para las distintas biopelículas (n = 5).



**Figura 5.** Porcentaje de deformación a la rotura ( $\epsilon_B\%$ ) obtenido para las biopelículas (n = 5).

| BIOPELÍCULAS  | OTR.e<br>(cm <sup>3</sup> mm / m <sup>2</sup> día) | DS   |
|---------------|--|------|
| NaCas-G25%    | 1,87   | 0,01 |
| NaCas-G35%    | 1,40   | 0,30 |
| NaCas-G25%-CV | 2,42   | 0,02 |
| NaCas-G35%-CV | 2,10   | 0,70 |

**Tabla 3.** Velocidad de transmisión de oxígeno por espesor promedio de muestra (OTR.e) obtenido para las películas de caseinato de sodio estudiadas (n = 3).

1,2 GPa) y poli(tetrafluoretileno) (0,3-0,8 GPa) (15). Este resultado indica una rigidez muy alta de las películas de caseinatos en comparación con las de poliolefinas utilizadas frecuentemente en envasado de alimentos. Como el objetivo básico del presente trabajo era obtener películas flexibles, se descartaron las biopelículas plastificadas con 15% de glicerol, no siendo incluidas en la investigación posterior.

Se observó que el aumento en la proporción de plastificante mejoró la flexibilidad de las biopelículas. Así, las biopelículas con un 35% de glicerol presentaron el incremento más elevado de deformación en el punto de rotura (figura 5). Este resultado es importante, ya que para la fabricación de envases en forma de películas es necesario que el valor de  $\epsilon_B$  sea lo más alto posible, para poder tener una flexibilidad adecuada.

## Propiedades de barrera al oxígeno

Una de las propiedades más importantes cuando se trata de diseñar un sistema para envasado de alimentos es la

permeabilidad a los gases, en particular al oxígeno. Este gas es capaz de participar en reacciones químicas perjudiciales para los alimentos y por ello su presencia debe estar regulada por el material de envase en la mayor parte de los casos.

En este trabajo se determinó la velocidad de transmisión de oxígeno (OTR) a través de las biopelículas con un analizador de permeación de oxígeno Sytech Instruments modelo 8500 (Mettrotec S.A, España). Para poder comparar los resultados de las muestras entre sí, se midió el espesor promedio de cada una de las biopelículas y se multiplicó por el valor registrado por el equipo. Las determinaciones se realizaron por duplicado. La tabla 3 muestra los valores finales de OTR obtenidos en el estado estacionario multiplicados por el espesor promedio de cada película (OTR.e).

Se observó que los valores obtenidos de OTR.e fueron muy bajos, indicando que las biopelículas desarrolladas presentan excelentes propiedades de barrera al oxígeno. Por otro lado, se comprobó que la adición del agente anti-

microbiano produjo un leve aumento en el valor de OTR.e, disminuyendo ligeramente las propiedades de barrera de las biopelículas. Este incremento es muy poco significativo, por lo que se puede concluir que las propiedades de barrera son adecuadas para su uso como material para envasado alimentario activo. Estos resultados fueron posteriormente comparados con los obtenidos por Martino *et al.* (2009) [19], que también desarrollaron películas biodegradables para el envasado de alimentos en base poli(ácido láctico) PLA. Los valores de OTR.e para PLA sin plastificar fueron de 29,5 cm<sup>3</sup> mm / m<sup>2</sup> día, siendo incluso superiores para PLA plastificado, llegando a obtener valores de hasta 48 cm<sup>3</sup> mm / m<sup>2</sup> día.

## Estudio de la actividad antimicrobiana de las biopelículas

La actividad antimicrobiana de las biopelículas en base caseinatos con y sin agente activo se evaluó mediante el método de difusión de disco descrito por el laboratorio internacional de referencia, el *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) [20]. Para ello, las biopelículas se cortaron en forma de cuadrados de 10 x 10 mm<sup>2</sup> y se colocaron de forma que se asegurase un contacto pleno entre ellas y la superficie del agar de cultivo. Se prepararon tres cuadrados por placa, llevándose a cabo el ensayo por duplicado para asegurar la reproducibilidad de los resultados.

Las biopelículas cuyas formulaciones contenían carvacrol mostraron una inhibición del crecimiento bacteriano en la zona de contacto, tanto frente a *E. coli* como frente a *S. aureus*, mientras que para las biopelículas utilizadas como control (sin carvacrol en su formulación) se observó el crecimiento bacteriano en toda la superficie de la placa (figura 6).

**TANTO EL PLASTIFICANTE (GLICEROL) COMO EL AGENTE ANTIMICROBIANO (CARVACROL) MOSTRARON BUENA COMPATIBILIDAD CON LA MATRIZ POLIMÉRICA, FORMANDO PELÍCULAS HOMOGÉNEAS Y SIN SEPARACIÓN DE FASES O FORMACIÓN DE ZONAS AGLOMERADAS**

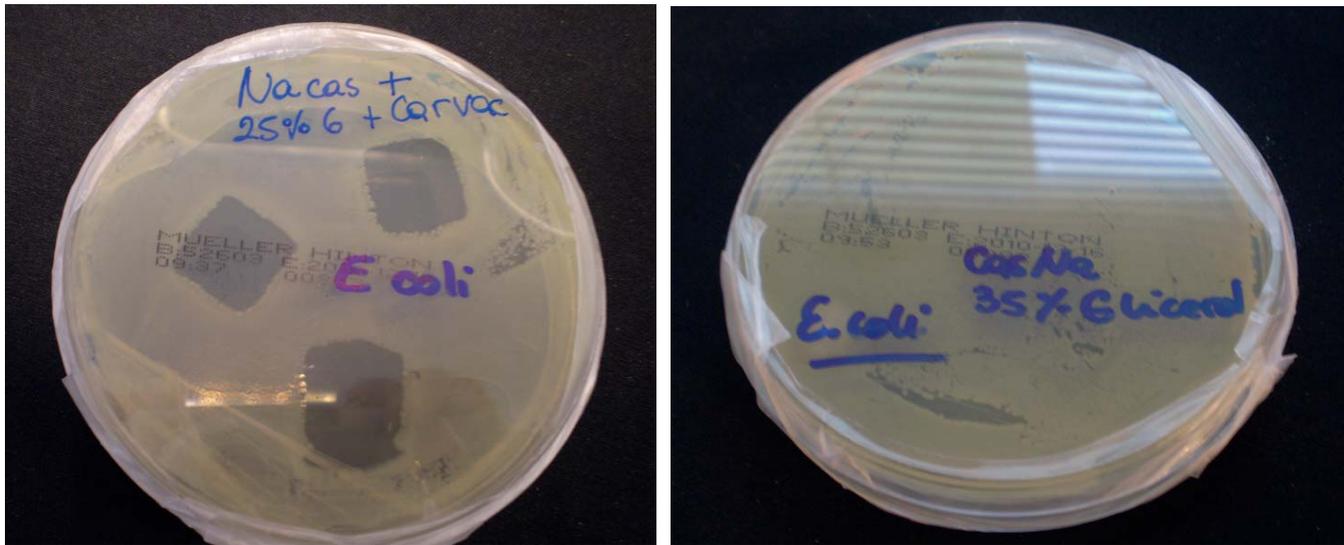


Figura 6. a) Inhibición del crecimiento de *E. coli* por muestras de NaCas-G25%-CV10%, b) crecimiento *E. coli* en biopelículas control (sin carvacrol).

**LAS FORMULACIONES QUE CONTENÍAN CARVACROL INHIBIERON EL CRECIMIENTO DE *E. coli* Y *S. aureus*, DEMOSTRANDO LA CAPACIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS BIOPELÍCULAS DESARROLLADAS**

De esta forma se pudo confirmar la capacidad antimicrobiana de las películas con carvacrol y, en consecuencia, la capacidad de las películas en base proteína para actuar como soporte de los agentes activos.

Ruseckaite (2009)[21] para películas en base gelatina. Para ello, se introdujeron las muestras cortadas en piezas rectangulares (2 x 3 cm<sup>2</sup>) dentro de mallas de acero inoxidable, se enterraron en reacto-

tores con *compost* (figura 7) y se fueron sacando a distintos tiempos de reacción.

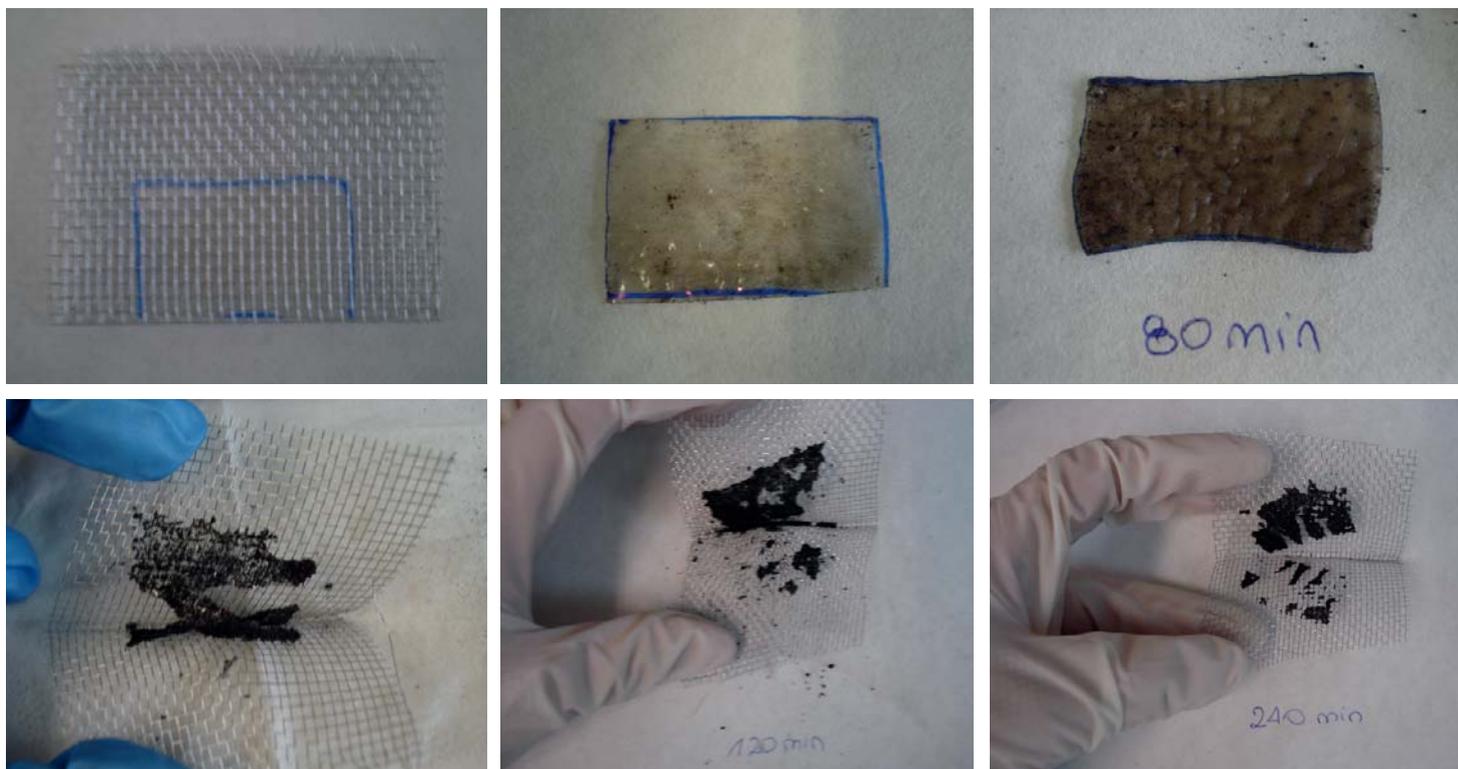
Tras cada extracción se llevó a cabo una inspección visual de las muestras para comprobar el grado de desintegración física en función del tiempo (figura 8). Se observó que al cabo de 90 minutos resultó prácticamente imposible despegar las biopelículas de la malla metálica. Finalmente, después de 300 minutos de tratamiento, las muestras se encontraban totalmente desintegradas

**Estudio de la biodegradabilidad de las biopelículas**

A partir de los resultados obtenidos se evaluó la calidad de las formulaciones preparadas, teniendo siempre en cuenta un compromiso entre las propiedades mecánicas de las películas y su acción antimicrobiana. De esta forma, se seleccionó la formulación de caseinato de sodio plastificada con un 35% de glicerol y con presencia de agente antimicrobiano (NaCas35%G-CV10%), procediéndose a estudiar su biodegradabilidad. Este estudio se llevó a cabo siguiendo la metodología indicada por Martucci y



Figura 7. Reactores con *compost* utilizados para el estudio de biodegradación.



**Figura 8.** a) Muestra antes de ser introducida en el reactor; b-f) Muestras retiradas del reactor a tiempos b: 10 min; c: 80 min; d: 90 min; e: 120 min; f: 240 min.

bajo las condiciones estudiadas, tanto las que no tenían agente antimicrobiano como las que contenían carvacrol.

## Conclusiones

A partir de los resultados obtenidos, se puede concluir que tanto el plastificante como el agente antimicrobiano utilizados en este trabajo mostraron una buena compatibilidad con la matriz polimérica, formando películas transparentes y prácticamente incoloras, homogéneas y sin separación de fases o formación de zonas aglomeradas.

Todos los compuestos utilizados en las formulaciones desarrolladas han sido de origen natural, seguros y cumplen la normativa vigente para materiales en contacto con alimentos. Además, son altamente biodegradables, representando una alternativa prometedora y medioambientalmente sostenible a las películas sintéticas que se utilizan hoy en día.

La plastificación de la biopelículas de caseinato de sodio con glicerol fue uno de los factores clave para la obtención de las biopelículas, mejorando las propiedades dúctiles del material con una reducción en el módulo elástico de Young y un aumento en la elongación en el punto de rotura, proporcional a la concentración de plastificante añadido. De esta forma se consigue un nuevo material apto para ser procesado para la obtención de películas a nivel industrial.

Se comprobó que las formulaciones que contenían carvacrol inhibieron el crecimiento de *E. coli* y *S. aureus*, de-

mostrando la capacidad antimicrobiana de las biopelículas desarrolladas, lo cual le da una elevada importancia desde el punto de vista de la posibilidad de obtención de películas activas para envasado de alimentos.

Se obtuvieron excelentes propiedades de barrera al oxígeno, siendo éste un factor muy importante para un envase alimentario a la hora de proteger al alimento contra la oxidación. Además, este bajo valor en la permeabilidad a este gas constituye una mejora significativa en comparación con otros polímeros biodegradables.

**LAS BIOPELÍCULAS DE CASEINATO DE SODIO  
PLASTIFICADAS CON GLICEROL Y CON CARVACROL COMO  
AGENTE BIOACTIVO CUENTAN CON UN ELEVADO  
POTENCIAL COMERCIAL PORQUE PRESENTAN  
CARACTERÍSTICAS ANTIMICROBIANAS Y SON SOSTENIBLES**

En resumen, la formulación de caseinato de sodio plastificada con un 35% en peso de glicerol y tratada con un 10% en peso de carvacrol (NaCas-G35%-CV10%) fue la más adecuada de todas las formulaciones ensayadas. De esta forma, se obtuvo una biopelícula de superficie lisa y homogénea, con capacidad antimicro-

biana frente a *E. coli* y *S. aureus*, excelente barrera al oxígeno, con propiedades dúctiles adecuadas, aportando una flexibilidad aceptable para asegurar su uso en sistemas de envasado de alimentos y que se desintegra rápidamente en condiciones de compostaje, siendo así amigable con el medio ambiente. ♦

## A MODO DE GLOSARIO

**Aceites esenciales.** Sustancias químicas intensamente aromáticas biosintetizadas por plantas.

**Antimicrobiano.** Agente capaz de combatir los microorganismos o evitar su aparición.

**Biodegradación.** Descomposición aeróbica o anaeróbica por acción de microorganismos. Durante la biodegradación los materiales son degradados por acción enzimática de los microorganismos bajo condiciones normales del medio ambiente.

**Biopolímeros.** Polímeros biodegradables, obtenidos de fuentes naturales.

**Caseína.** Proteína presente en la leche.

**Carvacrol.** Uno de los aceites esenciales del orégano que posee capacidad antimicrobiana.

**Compost.** Humus obtenido por descomposición bioquímica de una mezcla de residuos orgánicos y que tiene un contenido en minerales limitado.

***E. coli*.** Bacteria que generalmente se encuentra en el tracto gastrointestinal. Es un microorganismo utilizado como indicador de contaminación fecal.

**Food and Drug Administration (FDA).** Agencia del Gobierno de los Estados Unidos responsable de la regulación de alimentos (tanto para seres humanos como para animales), suplementos alimenticios, medicamentos (humanos y veterinarios), cosméticos, aparatos médicos (humanos y animales), productos biológicos y derivados sanguíneos.

***S. aureus*.** Bacteria que generalmente se encuentra en la piel, las mucosas y el tracto respiratorio. Es un microorganismo utilizado como indicador de una incorrecta manipulación.

**Recursos renovables.** Recursos naturales que no se agotan con su utilización, debido a que vuelven a su estado original o se regeneran a una tasa mayor a la tasa con que los recursos son disminuidos mediante su utilización. Ciertos recursos renovables pueden dejar de serlo si su tasa de utilización es tan alta que evite su renovación.

## AGRADECIMIENTOS

Marina Patricia Arrieta agradece a FUNDACIÓN MAPFRE por la Beca Ignacio Hernando de Larrañendi 2009 - Medio Ambiente, concedida para el desarrollo de este trabajo de investigación. Asimismo, los autores quieren expresar su agradecimiento a Ferrer Alimentación S.A. por aportar la proteína láctea.

## PARA SABER MÁS

- [1] Tharanathan, R.; Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends in Food Science & Technology*, 2003, (14) 71-78.
- [2] Bucci, D.Z.; Tavares, L.B.B.; Sell, I. PHB packaging for the storage of food products. *Polymer Testing*, 2005, (5) 564-571.
- [3] De la Hoz-Ayuso, A.; Díaz-Ortiz, A. Una orientación de la química para el siglo XXI. *Química Sostenible. MAPFRE Medioambiente*, 2008, (110) 32-44.
- [4] Pojanavaraphan, T.; Magaraphan, R.; Chiou, B.-S.; Schiraldi, D.A. Development of Biodegradable Foamlite Materials Based on Casein and Sodium Montmorillonite Clay. *Biomacromolecules*, 2010, (11) 2640-2646.
- [5] Hernández-Izquierdo, V.M.; Krochta, J.M. Thermoplastic Processing of Proteins for Film Formation - A Review. *Journal of Food Science*, 2008, (73) 30-39.
- [6] Audic, J.L.; Chaufer, B.; Daufin, G. Non-food applications of milk components and dairy co-products: A review. *Lait*, 2003, (83) 417-438.
- [7] Seydim, A.C.; Sarikus, G. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Research International*, 2006, (39) 639-644.
- [8] Mossel, D.A.A.; Moreno, B.; Struijk, C.B. *Microbiología de los alimentos*. ACRIBIA S.A. Zaragoza, España. ISBN: 84-200-0998-9. 2003.
- [9] Signorini, M.L.; Sequeira, G.J.; Bonazza, J.C.; Dalla Santina, R.; Martí, L.E.; Frizzo, L.S.; Rosmini, M.R. Use of indicator microorganisms for the hygienic-sanitary conditions evaluation in the milk primary production. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Zulia*, 2008, 18 (2) 207-217.
- [10] Mastromatteo, M.; Conte, A.; Del Nobile, M.A. Advances in controlled release devices for food packaging applications. *Trends in Food Science & Technology*, 2010 (21) 591-598.
- [11] Ben Arfa, A.; Combes, S.; Preziosi-Belloy, L.; Gontard, N.; Chalier, P. Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. *Journal compilation. Letters in Applied Microbiology*, 2006, (43) 149-154.
- [12] Mascheroni, E.; Chalier, P.; Gontard, N.; Gastaldi, E. Designing of a wheat gluten/montmorillonite based system as carvacrol carrier: Rheological and structural properties. *Food Hydrocolloids*, 2010, (24) 406-413.
- [13] Peltzer, M.; Wagner, J.; Jiménez, A. Migration study of carvacrol as a natural antioxidant in high-density polyethylene for active packaging. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 2009 (26) 938-946.
- [14] Schou, M.; Longares, A.; Montesinos-Herero, C.; Monahan, F.J.; O'Riordan, D.; O'Sullivan, M. Properties of edible sodium caseinate films and their application as food wrapping. *LWT Food Science Technology*, 2005, (38) 605-610.
- [15] Stuart, B. *Polymer Analysis*. John Wiley and Sons Ltd. London 2002.
- [16] Kristo, E.; Koutsoumanis, K.P.; Biliaderis, C.G. Thermal, mechanical and water vapor barrier properties of sodium caseinate films containing antimicrobials and their inhibitory action on *Listeria monocytogenes*. *Food Hydrocolloids*, 2008, (22) 373-386.
- [17] Pereda, M.; Aranguren M.I.; Marcovich N.E. Caseinate films modified with tungoil. *Food Hydrocolloids* 2010; 24: 800-808.
- [18] ASTM D882-01 Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting.
- [19] Martino, V.P.; Ruseckaite, R.A.; Jiménez, A. Processing and characterization of poly(lactic acid) films plasticized with commercial adipates. *Journal of Applied Polymer Science*, 2009 (112) 2010-2018.
- [20] NCCLS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing; Ninth informational supplement document M100-S9, Vol. 19. Nº1, Table 21. Wayne, Pennsylvania. NCCLS; 1999.
- [21] Martucci, J.F.; Ruseckaite, R.A. Biodegradation of three-layer laminate films based on gelatin under indoor soil conditions. *Polymer Degradation and Stability*, 2009, (94) 1307-1313.