

PROTEINAS COMO ENVASES ALIMENTARIOS?

Adriana Noemi Mauri y María Cristina Añón*

*Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA, CCT La Plata – CONICET y Facultad de Ciencias Exactas - Universidad Nacional de La Plata)
Calle 47 y 116 S/Nº, B1900AJJ. La Plata, Buenos Aires, Argentina.*

** María Cristina Añón. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA) - Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas - Calle 47 y 116 - 1900, La Plata, Argentina. Tel.: +54-221-4249287; fax: +54-221-4254853. e-mail: mca@biol.unlp.edu.ar.*

Tabla de contenidos

Resumen	3
Introducción	4
Características de las proteínas como material de partida	5
Tecnologías de obtención de películas proteicas	11
Propiedades de los materiales proteicos	16
Acciones para modificar la funcionalidad de las películas proteicas	18
-modificar química o físicamente la estructura inicial de la proteínas	18
-adicionar aditivos que van a mejorar o interferir con los mecanismos de	
formación de películas	19
-modificar las condiciones del procesamiento	23
-aplicar post-tratamientos físicos y químicos sobre las películas	24
Formación de materiales compuestos y nanocompuestos de matriz proteica	25
-materiales compuestos proteína- lípidos	26
-materiales compuestos proteína- otros biopolímeros	28
-materiales compuestos en base a proteínas y refuerzos	28
-materiales nanocompuestos de matriz proteica	29
Ventajas y debilidades de los materiales proteicos	31
Posibles campos de aplicación de los materiales proteicos	32
Perspectivas	34
Referencias	35

Resumen

Entre los biopolímeros, las proteínas poseen la capacidad de formar películas y recubrimientos comestibles y/o biodegradables, que se presentan como una alternativa interesante a los polímeros sintéticos, especialmente para aquellas aplicaciones de vida corta o cuando la degradación rápida se presenta como una ventaja -por ejemplo packaging de alimentos y plásticos para la agricultura. La funcionalidad de estos materiales está determinada por su microestructura, la que varía significativamente dependiendo del estado inicial de la proteína y de la metodología utilizada para su obtención. Comparados con los materiales sintéticos comunes, los materiales proteicos presentan excelentes propiedades barrera al oxígeno, a los lípidos y a los aromas; buenas propiedades mecánicas pero son susceptibles a la humedad debido al carácter hidrofílico intrínseco de las proteínas.. En este capítulo, se discute la influencia de las propiedades estructurales de las proteínas en relación a su posterior funcionalidad, las metodologías usadas para la formación de los materiales, distintas alternativas para mejorar o ampliar su funcionalidad, así como algunas posibles aplicaciones y perspectivas.

Palabras clave: proteínas, materiales biodegradables, recubrimientos comestibles, materiales compuestos, nanocompuestos, aplicaciones

Introducción

Entre los materiales biodegradables, la utilización de biopolímeros extraídos de fuentes renovables, se presenta como una estrategia interesante que podría contribuir no sólo a reducir el problema ambiental creciente, sino también a avanzar en sentido de dar respuesta al futuro incierto de suministro de petróleo, así como a aumentar el valor agregado de esos recursos (Arvanitoyannis, 1999; Fishman et al., 2004). Dentro de los biopolímeros, las **proteínas**, especialmente aquellas de menor costo por ser **extraídas de recursos agropecuarios renovables o de subproductos industriales**, se muestran como una alternativa con potencial para suplantar a los materiales sintéticos no degradables especialmente en aplicaciones de vida corta en la que la tasa de utilización es elevada, como es el caso de los **envases y/o recubrimientos de alimentos** o (Gennadios, 2002), o en aplicaciones no comestibles en donde la biodegradabilidad es un valorpreciado como son los **plásticos para la agricultura**

Las proteínas pueden definirse como polímeros naturales capaces de formar redes amorfas tridimensionales estabilizadas principalmente por interacciones no covalentes. Las propiedades funcionales de estos materiales son muy dependientes de la heterogeneidad estructural (debido a los distintos aminoácidos que forman su estructura primaria), la sensibilidad térmica y el comportamiento hidrofílico de las proteínas.

El conocimiento involucrado en la Ciencia de Polímeros aplicado a las proteínas permite: 1) analizar su estructura tridimensional a distintas escalas (organización atómica, molecular y supramolecular), 2) entender la evolución de la matriz en función

de la temperatura o la incorporación de aditivos; y 3) predecir las propiedades macroscópicas de la red macromolecular (mecánicas, ópticas, térmicas y eléctricas)

Características de las proteínas como material de partida

Las proteínas cubren una amplia gama de compuestos poliméricos cuya función es aportar estructura y actividad biológica a plantas y animales. Están constituidas por aproximadamente 20 amino ácidos, que además de tener los grupos alfa amino y alfa carboxilo involucrados en las uniones peptídicas, presentan una cadena lateral con diferentes grupos funcionales que le dan un carácter distintivo.

La mayoría de las proteínas están constituidas por 100-500 aminoácidos. Dependiendo de su secuencia – **estructura primaria** - propia de cada cadena polipeptídica, la misma asumirá distintas organizaciones espaciales sobre su eje - **estructura secundaria** -, estabilizadas básicamente por puentes hidrógeno. El siguiente nivel de estructura - **estructura terciaria** - refleja la organización tridimensional de la cadena polipeptídica, en base a uniones puentes de hidrogeno, de van der waals, interacciones electroestáticas e hidrofóbicas y puentes disulfuro, para formar estructuras proteicas globulares, fibrosas o al azar. Finalmente la **estructura cuaternaria** ocurre como consecuencia de la asociación de diferentes cadenas polipeptídicas, iguales o no entre sí, que interaccionan a través de uniones no covalentes originando moléculas únicas.

Las proteínas además de presentar diferentes actividades biológicas, esenciales para la vida celular de todos los organismos conocidos, presentan características fisicoquímicas

que se reflejan en un variado espectro de propiedades funcionales. Estas propiedades se pueden clasificar en base a la capacidad de las proteínas de interactuar con moléculas de agua, de establecer interacciones con otras proteínas y con las características de su superficie molecular (Cheftel et al., 1985). Desde la tecnología de materiales son importantes aquellas propiedades relacionadas con la interacción proteína-proteína las cuales dan origen a la formación de matrices con características propias. Como propiedades sobresalientes, en este sentido, podemos mencionar a la capacidad de formación de geles y la capacidad de formación de materiales – películas, coberturas, fibras, etc.-. (Petrucceli, 1993). En particular el presente capítulo aborda a la formación de películas proteicas y sus características físico-química-mecánicas.

Numerosas proteínas vegetales, como: gluten de trigo, zeínas de maíz, soja, maní, algodón y girasol; así como también de origen animal: caseínas, proteínas del suero de leche, albúminas, colágeno, gelatina, keratina y proteínas miofibrilares, han sido estudiadas por su capacidad de formar películas comestibles y/o biodegradables (Krochta, 1997; Cuq et al., 1998; Gennadios, 2002). Si bien es posible encontrar ciertas relaciones de similitud entre algunas de estas proteínas, otras presentan entre si estructuras y funcionalidades totalmente diferentes, por lo que formaran materiales con propiedades distintas.

A efectos de ejemplificar las diferencias estructurales entre distintos tipos de proteínas y la modificación que las mismas pueden sufrir por variables del medio como pH, fuerza iónica, temperatura, etc., describiremos dos sistemas proteicos uno de origen vegetal: *proteínas de reserva de soja* y otro de origen animal: *gelatina*.

Proteínas reserva de soja La soja pertenece a la familia de las leguminosas y sus granos contienen aproximadamente un 40% de proteínas. Entre ellas se han identificado dos fracciones principales: albúminas -solubles en agua- y globulinas -solubles en soluciones salinas-. La fracción globulinas representa el 80% de las proteínas totales y esta caracterizada por contener proteínas solubles a $\text{pH} > 8$ que precipitan a $\text{pH} 4,5$ (pI), presentar bajo contenido de metionina y cistina, estar localizadas en cuerpos proteicos y ser hidrolizadas durante la germinación. Por ultracentrifugación en gradientes de sacarosa se han identificado cuatro fracciones de coeficiente de sedimentación 2S, 7S, 11S y 15S (Pearson, 1983). La fracción 2S representa el 20% del total de proteínas, es soluble a $\text{pH} 4,5$ (Utsumi y Matsumura, 1997) y contiene inhibidores de tripsina: Bowman-Birk (PM 7,8 kD) y de Kunitz (PM 21,5 kD), citocromo C, α -conglucina y proteasas (Catsimpoolas y Ekenstam 1969; Wolf 1970). La 7S (35% del total de proteínas) esta compuesta por lectina (o hemaglutinina), lipoxigenasas, amilasas, y β y γ -conglucinas (Nielsen, 1985). La fracción 11S, mayoritaria (35%) es la glicina, y la 15S son polímeros de esta última (Wolf, 1970).

La familia de las globulinas esta incluida dentro de la superfamilia de las cupinas, y de acuerdo a la cantidad de dominios de cupina que poseen en su estructura, han sido incluidas en el subgrupo de las bicupinas. En la fracción de globulinas de soja, al igual que en globulinas de otras semillas, se han caracterizado dos clases principales denominadas en general vicilinas y leguminas, y en el caso particular de soja β -conglucina y glicina. Ambos tipos de globulinas poseen subunidades formadas por dos dominios (N-terminal y C-terminal) de estructura equivalente lo que hace suponer

que han derivado de un ancestro común (Ko et al., 1993; Lawrence et al., 1994; Shutov et al., 1999). Las diferencias que se encuentran entre las estructuras de ambas globulinas se deben a modificaciones post-traduccionales que han sufrido durante su procesamiento.

La glicinina presente en los granos de soja posee un coeficiente de sedimentación de 11S y esta organizada en hexámeros (AB₆) de masa molecular aproximada 320-380 kDa. Se han identificado cinco subunidades mayoritarias AB (PM 58-69 kDa) que conforman la estructura hexamérica, las cuales en condiciones reductoras dan origen a polipéptidos ácidos y básicos (Nielsen, 1985, Staswick et al., 1984, Utsumi y Matsumura, 1997). Los polipéptidos ácidos y básicos se unen por un enlace disulfuro, cuya posición ha sido altamente conservada entre las distintas globulinas 11S (Adachi et al., 2001; 2003); mientras que las subunidades AB se mantienen unidas entre ellas mediante uniones no covalentes.

La β - conglucina por su parte es una glicoproteína que se caracteriza por tener un coeficiente de sedimentación de 7S. Desde el punto de vista estructural esta formada por trímeros de masa molecular entre 180 – 200 kDa. Los trímeros están constituido por tres tipos diferentes de polipéptidos denominados α , α' y β (MM 68; 72 y 52 kDa, respectivamente) que se mantienen unidos mediante enlaces no covalentes y se caracterizan por poseer determinantes antigénicos comunes (Thanh y Shibasaki, 1976 y 1978).

Gelatina: La gelatina es una proteína derivada del colágeno, que no existe como tal en la naturaleza. El colágeno es el componente principal del tejido conectivo de los animales, esta constituido por tres cadenas polipeptídicas enrolladas en forma de hélice,

estabilizadas por uniones intramoleculares en una estructura superhelicoidal. Existen diferentes formas polimórficas del colágeno siendo el colágeno tipo I uno de los más comunes (Djabourov et al., 1993).

La composición aminoácidica del colágeno es muy poco común dado que posee un altísimo contenido de glicina (un tercio del total de residuos aminoacídicos) y es rica en hidroxiprolina y prolina.

Cuando el colágeno es sometido a un proceso de calentamiento en presencia de agua y se alcanza la denominada temperatura de acortamiento, las fibrillas de colágeno reducen su longitud a menos de un tercio de la original. Este acortamiento implica drásticos cambios a nivel estructural: desorganización de las moléculas de proteínas presentes en las fibrillas y colapso de la estructura superhelicoidal. Además de la alteración de las uniones no covalentes, se ven afectadas uniones intra e intermoleculares y la ruptura de unas pocas uniones peptídicas. El resultado de esta conversión de la estructura original del colágeno en una forma más amorfa es conocida como gelatina. Si bien este proceso implica la desnaturalización de la molécula de colágeno, esta no es total. Cuando se disminuye la temperatura ocurre una renaturalización parcial.

El procesamiento de colágeno en gelatina involucra: a) el pretratamiento de la materia prima y la remoción de componentes extraños, b) el tratamiento térmico de la materia prima en agua o solución ácida diluida y c) la refinación y recuperación final de la gelatina. Las propiedades de esta última dependerán del número de uniones presentes en la estructura original del colágeno que hayan sido alteradas durante el tratamiento.

La descripción anterior muestra claramente la diversidad y complejidad de las diferentes estructuras que pueden presentar las proteínas. Estas estructuras son particularmente sensibles a factores del medio como temperatura, pH, fuerza iónica, cambios de la constante dieléctrica del medio, presencia de agentes caotrópicos, entre los más significativos. El cambio del estado de plegamiento original de una proteína, denominado estado nativo, hacia estructuras donde predomina un mayor desorden se conoce como proceso de desnaturalización, el cual puede ser total o parcial. Los factores antes mencionados, pueden en determinados rangos, ocasionar el desplegamiento de las proteínas y modificar sus niveles de estructura a nivel secundario, terciario y cuaternario. Por otra parte también puede afectar el estado de asociación de los monómeros que conforman una proteína con estructura cuaternaria, induciendo reacciones de disociación y/o asociación (Kauzmann, 1951; Arntfield y Murray, 1981).

Así en el caso de las proteínas de soja, tomadas sólo a modo de ejemplo, se sabe que el tratamiento térmico induce reacciones de desnaturalización, siendo más sensible a la acción de la temperatura la β - conglucina que la glicina. También han sido detectadas reacciones de disociación y, dependiendo de la concentración de proteínas presentes durante el tratamiento térmico, reacciones de agregación (Hermansson, 1978; Yamauchi et al., 1991; Sorgentini et al., 1995). Por su parte el tratamiento de estas proteínas en medio ácido conduce a la desnaturalización y disociación selectiva de glicina y una mínima agregación, sufriendo un menor efecto la β - conglucina (Koshiyama, 1972; Wagner et al. 1996; Puppo y Añón, 1999). El tratamiento combinado temperatura – medio ácido induce modificaciones adicionales tales como hidrólisis y deamidación

(Matsudomi et al., 1985; Wagner y Guéguen, 1995). Todos estos cambios afectan de manera pronunciada, tanto en forma positiva como negativa, las propiedades funcionales que pueden exhibir las proteínas. Ha sido, por ejemplo, demostrado que los cambios estructurales sufridos por las proteínas de soja, indicados anteriormente, afectan su solubilidad, capacidad de absorción de agua, viscosidad, capacidad de emulsificación y formación de espumas (Wagner et al., 1996, Kato y Nakai, 1980)

Durante los últimos 30 años, varios autores han estudiado la correlación entre los distintos parámetros fisicoquímicos estrechamente ligados con la estructura proteica, como hidrofobicidad superficial, hidrofobicidad total, hidrofobicidad promedio, carga superficial, tamaño y flexibilidad molecular, contenido de grupos sulfhidrilos (-SH) y puentes disulfuro (S-S), con la habilidad para desempeñar una determinada propiedad funcional (Kato y Nakai, 1980; Nakai, 1983; Utsumi y Kinsella, 1985; Petruccelli y Añón, 1994a; 1994b, 1995; Utsumi y Matsumura, 1997; Damodaran, 1989 y 1990; Maruyama y Sato, 1999; Molina Ortiz y Wagner, 2002; Maruyama y Prak, 2004).

La capacidad de formación de películas y recubrimientos también se ve afectada por cambios en la estructura de las proteínas por lo que en principio se podría lograr una funcionalidad específica aplicando métodos físicos, químicos o biológicos que induzcan cambios apropiados en la composición, estructura y estado de desnaturalización o disociación – agregación de la proteína de interés.

Tecnologías de obtención de películas proteicas

La formación de una película de matriz proteica implica tres pasos: 1) ruptura, por procesos químicos o físicos, de los enlaces intermoleculares (no-covalentes y covalentes, si es necesario) que estabilizan a las proteínas en su estado nativo lo que permite una mayor movilidad de las cadenas polipeptídicas 2) disposición y orientación de las cadenas proteicas móviles a las formas deseadas, y 3) formación de una nueva red tridimensional estabilizada por interacciones inter e intramoleculares del tipo covalentes (como disulfuros y crosslinking) y/o no covalentes (hidrofóbicas, electrostáticas y iónicas, de van der waals, y puentes de hidrógeno)

Las películas formuladas en base a proteínas (al igual que las de los otros biopolímeros) pueden formarse por dos procesos tecnológicos: uno “húmedo” basado en la dispersión o solubilización de las proteínas; y otro “seco” basado en las propiedades termoplásticas de las proteínas a bajas contenidos de agua. (Cuq et al., 1998). Indiferentemente de la técnica de procesamiento utilizada, el material proteico resultante es esencialmente una matriz con estructura de gel tridimensional reorganizada con menor contenido de agua en donde las interacciones entre las proteínas y los demás componentes de la formulación están muy favorecidas.

-procesos húmedos

Las proteínas son formuladas en función de las aplicaciones involucradas. Las soluciones o dispersiones proteicas son entonces moldeadas y luego se permite la evaporación del solvente. Para la formación de películas se usan soportes planos de los cuales las películas se desmoldan después del secado, mientras que la formación de

recubrimientos involucra la inmersión, pulverización, envoltura o encuadre del alimento-producto con la formulación.

En particular, en estos procesos húmedos, los biopolímeros son generalmente gelificados para producir las soluciones formadoras de películas, y el secado posterior de los hidrogeles elimina el exceso de solvente de la matriz. Debe entenderse que el mecanismo de formación de películas no es solamente una extensión del mecanismo de gelación en húmedo. La gelación húmeda en realidad equivaldría a la etapa inicial de la formación de la película. Además durante el proceso existe una transición crítica del gel húmedo a film seco, relacionada con una transición de fase de un sistema polímero en agua (u otro solvente) a un sistema donde hay agua en el polímero. El mecanismo completo de formación de la película de la mayoría de los biopolímeros después de la gelación no está aún claramente determinado (Han y Gennadios, 2005)

Con excepción de zeínas de maíz, gluten de trigo, kafirina de sorgo y keratina, la mayoría de las proteínas que se usan para esta finalidad son solubles en agua (Krochta J.M., 2002).

Estos procesos han sido extensamente estudiados para formar películas y recubrimientos comestibles y/o biodegradables a partir de una gran cantidad de proteínas. Los mismos tienen varias limitaciones que incluyen el tamaño y la cantidad de las películas producidas, los tiempos de producción largos y la eliminación de grandes cantidades de solventes (dado que la relación materia seca a solvente es baja y los sólidos no superan el 10-12 % de la dispersión inicial). Aún así, estos procesos son muy adecuados para la producción de recubrimientos sobre otras superficies (por ejemplo,

revestimientos de papel), o sobre semillas o productos alimenticios (Krochta et al., 1994; Guilbert, 1986; Gennadios, 2002).

- **procesos secos**

Las propiedades termoplásticas de los biopolímeros se definen en relación con la teoría de la transición vítrea (Tg). Usando plastificantes y/o temperatura, las proteínas pasan a través de la transición vítrea formando una masa gomosa a la que se le puede dar forma y estabilizar por enfriamiento y/o eliminando plastificantes volátiles.

Las propiedades viscoelásticas y las propiedades de flujo de algunas proteínas han sido extensamente estudiadas pero existen pocos trabajos disponibles sobre la viscosidad de las proteínas fundidas. En general la dependencia de la viscosidad de la proteína con la temperatura, el esfuerzo de corte y el contenido de plastificante parece ser similar a la de almidón termoplástico (Redl et al., 1999b; Morgan et al., 1983; Della Valle et al., 1998). La principal diferencia surge de la potencialidad de la proteína de entrecruzarse o reticularse de manera termoestable por lo que se observa una dependencia compleja de la viscosidad de la proteína con la historia tiempo-temperatura y el esfuerzo de corte. La historia térmica estaría relacionada con la polimerización de proteínas, mientras que la historia del esfuerzo de corte sería relevante para el proceso de depolimerización

Así por ejemplo, cuando se plastifica gluten de trigo con glicerol se forma una fase maleable que se asemeja a una estructura de sólido viscoelástico con un comportamiento pseudo-plástico (Pommet et al., 2005). Las propiedades reológicas de gluten plastificado muestran que los principios de superposición tiempo / temperatura se pueden aplicar a

este tipo de sistemas (Redl et al., 1999a). Sin embargo, el rango de temperatura en el que es válido este principio es restringido, debido a que el polímero se vuelve reactivo a temperaturas superiores a 60°C, ya que se producen reacciones de entrecruzamiento (Lefebvre et al, 2000;. Domenek et al, 2002).

Los factores más importantes de modificación de la estructura proteica durante este procesamiento, como en el caso de los polímeros sintéticos, son la temperatura y el esfuerzo de corte. Estos conducirán a una gran reestructuración del material proteico, debido al desplegamiento de las cadenas poliméricas, su ruptura como consecuencia del estrés mecánico y su reactividad debido al aumento de temperatura. En contraste con las películas de gluten producidas por casting, los materiales obtenidos por procesos similares a los empleados para transformar polímeros termoplásticos sometidos a un tratamiento termomecánico induce cambios en el perfil de distribución de pesos moleculares de las proteínas del gluten (Redl et al.1999a, b).

Las proteínas pueden procesarse desde el estado fundido por las técnicas convencionales de los polímeros sintéticos, tales como moldeo por compresión, inyección y extrusión. Si bien el moldeo por compresión es útil como un método de procesamiento debido a su simplicidad y la capacidad de producir productos de gran tamaño, los procesos de extrusión e inyección son los métodos preferidos para la producción de materiales con altos rendimientos destinados a usos tales como envases. Estas tecnologías permiten obtener, por ejemplo, materiales compuestos, películas para usos agrícolas, u objetos moldeados tales como contenedores desechables de alimentos

(por ejemplo, cubiertas y platos de picnic), bolsas de basura y de comestibles, macetas y bandejas, aislantes térmicos, entre otros.

Si bien el uso de estas tecnologías ha sido estudiado para la formación de materiales a partir de proteínas de girasol, soja, gluten, del suero de leche y miofibrilares (Orliac et al., 2002 y 2003; Micard et al., 2001; Cuq et al., 1998; Foulk y Bunn 2001; Mungara et al., 2002), sus aplicaciones comerciales todavía no han sido explotadas.

Propiedades de los materiales proteicos

Las películas proteicas suelen presentar excelentes propiedades de barrera a gases - en particular al oxígeno -, a los lípidos y a los aromas; propiedades mecánicas moderadas, pero comúnmente muestran alta permeabilidad al vapor de agua (WVP) debido al carácter hidrofílico de las proteínas (Gennadios, 2002).

En general, las películas proteicas presentan WVP entre 2 y 4 órdenes de magnitud superiores a los valores correspondientes al polietileno de baja densidad (LDPE). Entre las proteínas, las correspondientes a gluten de trigo, las zeínas de maíz y las proteínas miofibrilares son las que presentan menores WVP (Krochta, 2002).

Las propiedades barreras a los gases (O_2 , CO_2 y etileno) de las películas a base de proteínas son particularmente interesantes, ya que las permeabilidades son excepcionalmente bajas en condiciones de baja humedad relativa. Sin embargo, estas propiedades son muy dependientes de la humedad relativa y la temperatura. Dado que este efecto es mayor para los gases hidrofílicos (CO_2) que para los gases hidrófobos

(O₂), es posible modificar el coeficiente de selectividad CO₂/O₂ de 3 a más de 50 cuando se aumenta la humedad relativa de 0 a 100% y la temperatura de 5 a 45° C. Esta característica es particularmente interesante en el diseño de materiales para envase para alimentos en atmósferas modificadas. Teniendo en cuenta estas variaciones se debe tener la precaución de solo comparar propiedades que han sido medidas en iguales condiciones.

La solubilidad es otra propiedad importante que define la posterior aplicación de las películas. En el caso de proteínas las películas pueden ser prácticamente insolubles (como en el caso de zeínas y gluten) o totalmente solubles (como las formadas por proteínas globulares nativas, como las de suero de leche).

En cuanto a sus propiedades mecánicas, las películas proteicas presentan un comportamiento frágil, debido a la gran cantidad de interacciones entre las cadenas polipeptídicas. Por lo que pensando en aplicaciones en alimentos es necesario el agregado de un plastificante para superar esa fragilidad, mejorar el flujo y flexibilidad, aumentar la dureza y resistencia al impacto y evitar la aparición de grietas durante el embalaje y transporte.

Se ha demostrado que la funcionalidad de estas películas está determinada por su microestructura, la que varía significativamente dependiendo del estado inicial de la proteína y de la metodología utilizada para su obtención (Denavi et al., 2008). La estructura de la proteína, discutida previamente, determina la capacidad de los polipéptidos de interactuar entre sí y con otros componentes presentes en la formulación. El tipo y número de interacciones involucradas en la estabilización de la matriz proteica

está determinado por la composición aminoacídica y el peso molecular de la proteína - factores que varían significativamente con el tipo de proteínas - así como de las variables experimentales usadas para la obtención de las películas. Las interacciones proteína - proteína determinarán a su vez el grado de entrecruzamiento y el carácter hidrofílico - hidrofóbico de las mismas y se corresponderá con sus propiedades fisicoquímicas, mecánicas y de barrera (Mauri y Añón, 2006 y 2008; Salgado et al., 2010).

Acciones para modificar la funcionalidad de las películas proteicas

Dependiendo de la aplicación deseada, se requiere que estas películas tengan funcionalidades específicas, por ejemplo, barrera a la humedad, barrera a solutos y gases, solubilidad en agua o lípidos, color y apariencia, características mecánicas y reológicas, no toxicidad, etc. Con este objetivo, es posible modificar la funcionalidad de las películas proteicas interviniendo en algunas de las distintas etapas de su formación a través de:

- *modificar química o físicamente la estructura inicial de la proteínas*

La característica más distintiva de las proteínas comparadas con los otros materiales formadores de películas son los cambios que pueden sufrir en su conformación - desnaturalización -, cargas electrostáticas y su naturaleza anfifílica. Muchos factores pueden afectar la conformación de las proteínas, como la densidad de carga y el balance hidrofílico-hidrofóbico. Las estructuras secundaria, terciaria y cuaternaria de las

proteínas, descritas previamente, pueden ser fácilmente modificadas por tratamientos físicos, químicos y enzimáticos. Cuando la proteína se encuentra desnaturalizada parcial o totalmente, las cadenas polipeptídicas se hayan mas desplegadas y las interacciones entre esas cadenas se producen más fácilmente, incluso la formación de puentes disulfuro (Darby y Creighton, 1995). En general el aumento del grado de entrecruzamiento, conduce a matrices proteicas más densas, con menor solubilidad y mayor resistencia mecánica. (Mauri y Añón 2006 y 2008, Salgado et al. 2010).

Existen numerosos trabajos publicados relacionados con el estudio de la obtención de películas a partir de proteínas – de distinto origen - estructuralmente modificadas, o en los que ha sometido a las soluciones o dispersiones formadoras de películas a distintos tratamientos. A modo de ejemplo podemos mencionar tratamientos térmicos, con alta presión, irradiación, hidrólisis, tratamiento con ácidos o álcalis, adición de iones metálicos, sales, agentes esterificantes, etc. (Fouk y Bunn, 2001; Koehler et al., 2010; Mauri y Añón 2006 y 2008, Ghorpade et al., 1995; Rangavajhyala et al., 1997; Krochta, 1997; Rhim et al., 2000). En general los cambios producidos en la estructura proteica inducen modificaciones en mayor o menor medida en la funcionalidad de las películas resultantes, siendo más significativos los efectos sobre las propiedades mecánicas y la solubilidad que sobre la permeabilidad al vapor de agua.

- *adicionar aditivos que van a mejorar o interferir con los mecanismos de formación de películas*

Como se mencionó anteriormente, para controlar la fragilidad de los materiales a base de proteínas y para disminuir la temperatura para su procesamiento termoplástico, en general se requiere de la adición de un plastificante. En la mayoría de los casos se trata de moléculas pequeñas e hidrofílicas que compiten por la formación de puentes de hidrógeno e interacciones electroestáticas con las proteínas (Vanin et al., 2005), tales como glicerol y otros polioles, azúcares, sorbitol, etilenglicol y etanolamina y sus respectivos derivados, lípidos y emulsificantes. El agregado de estos compuestos – en cantidades que generalmente oscilan entre el 15 y el 40 % respecto del peso de proteína utilizado - provoca una disminución de la interacción entre las cadenas peptídicas, como consecuencia de ellos se produce una disminución de la Tg de los materiales, un aumento en la elongación del material acompañado de una disminución en la resistencia mecánica, y en general una disminución de sus propiedades barrera a la humedad, al oxígeno, a los aromas. Cabe resaltar que estos efectos son aun mas importantes por la capacidad de estas moléculas para aumentar el contenido de agua de las películas, siendo el agua también un plastificante muy efectivo de las matrices proteicas (Cao et al., 2009; Audic y Chaufer, 2005, Irissin-Mangata et al. 2001, Galiotta et al., 1998; Andreuccetti et al., 2009)

Dado que en la mayoría de los estudios realizados las películas se obtienen con las técnicas húmedas - usando agua como solvente - y no sería posible disolver moléculas hidrofóbicas en las dispersiones iniciales, prácticamente la totalidad de los plastificantes probados son de naturaleza hidrofílica. En los procesos termoplásticos, se han comenzado a utilizar para plastificar las matrices proteicas otro tipo de moléculas, tales

como ácidos grasos, monoglicéridos y emulsificantes, y su presencia confiere nuevas propiedades a los materiales resultantes (Pommet et al., 2005).

Independientemente de su posible función como plastificante, a veces es aconsejable el agregado de emulsificantes y otros compuestos anfifílicos, con el fin de reducir las diferencias entre las energías superficiales de la formulación que se usará como recubrimiento y la superficie del producto a recubrir de manera de mejorar la adhesión y evitar una mala performance del recubrimiento (Maldonado-Valderrama y Rodríguez Patino, 2010)

Una estrategia para mejorar las propiedades físico-mecánicas y de barrera de las matrices proteicas, es a través de reacciones de entrecruzamiento químico o enzimático. Entre los entrecruzantes químicos pueden encontrarse aldehídos de bajo peso molecular (como formaldehído, glioxal, y glutaraldehído) que reaccionan con los amino y sulfhidrilos de las proteínas formando interacciones covalentes intra e intermoleculares (Audic y Chaufer, 2005; Vaz et al., 2003; Galietta et al., 1998). El aumento en el grado de entrecruzamiento conduce principalmente a matrices más resistentes y menos solubles, pero a veces también logra mejorar las permeabilidades al vapor de agua. Si bien los aldehídos son entrecruzantes efectivos, la posible toxicidad de los mismos los deja limitados para aplicaciones no alimentarias (Galietta et al., 1998) siendo la vía enzimática de entrecruzamiento la de mayor potencialidad. Existen distintos tipos de enzimas, capaces de modificar la estructura de las proteínas, tales como transglutaminasa, lipoxidasa, lisiloxidasa, polifenoloxidasa y peroxidasa, favoreciendo el entrecruzamiento entre las cadenas peptídicas. Su agregado se refleja también

principalmente en un aumento en la resistencia a la rotura y una disminución en la elongación y la solubilidad. En algunos casos, como soja, también aumenta la hidrofobicidad superficial de las películas (Tang et al., 2005).

Por otra parte, y ya incursionando en el campo de los materiales activos, la funcionalidad de los materiales proteicos puede ampliarse por agregado de otro tipo de aditivos, tales como antioxidantes, antimicrobianos, nutrientes, *flavors* y pigmentos útiles para mejorar la seguridad, el valor nutricional, la calidad y la apariencia del producto que protegen. Si bien inicialmente los compuestos adicionados a las matrices proteicas fueron aditivos de naturaleza sintética de amplia difusión en Tecnología de los Alimentos, tales como benzoatos, sorbatos, nisina, entre otros con propiedades antimicrobianas o BHT, BHA, etc. como antioxidantes (Dawson et al., 2003; Franssen et al., 2004; Seacheol y Krochta, 2007; Jongjareonrak et al., 2008; Sivarooban et al., 2008; Ozdemir y Floros, 2008; Gómez-Estaca et al., 2009a; Pintado et al., 2009; Rossi-Márquez et al., 2009; Zhang et al., 2010; Leerahawong et al., 2011). En la última década se ha comenzado a evaluar el agregado de aditivos naturales dada su efectividad desde el punto de vista funcional (que en muchos casos es comparable con los aditivos tradicionales) y a su mejor aceptación por ciertos grupos de consumidores. Entre estos aditivos naturales se encuentran los compuestos fenólicos y flavonoides con actividad antioxidante que quedan retenidos durante el proceso de purificación de proteínas principalmente de origen vegetal, el uso de extractos vegetales, como disolventes en la formación de películas, el agregado de hidrolizados proteicos con propiedades bioactivas, el uso de aceites esenciales, que le han aportado a las películas propiedades antioxidantes,

antimicrobianas, etc (Oussalah et al., 2004; Güçbilmez et al., 2007; Gómez-Estaca et al., 2009a,b; Atarés et al., 2010; Gemili et al., 2010; Norajit et al., 2010; Siripatrawan y Harte, 2010; Zhang et al., 2010). Pero además de ampliar la funcionalidad de las películas, la presencia de estas moléculas con actividad biológica también puede modificar las propiedades fisicoquímicas de los materiales debido a que también podrían actuar como agentes entrecruzantes o plastificantes (Orliac et al., 2002; Ou et al., 2005). Así por ejemplo, al agregar péptidos de gelatina a películas de gelatina, estos plastificaron a la matriz proteica además de otorgarle propiedades antioxidantes (Giménez et al., 2009), Mientras que al aumentar el contenido de fenoles retenidos en aislados proteicos de girasol las películas resultantes, modificaron su coloración y se mejoraron sus propiedades antioxidantes sin afectar el resto de las propiedades (Salgado et al., 2010)

- *modificar las condiciones del procesamiento*

La variación de las variables de los procesos puede conducir a la obtención de materiales con distintas propiedades. Así por ejemplo, Denavi et al. (2008), mostraron que es posible conseguir materiales con distintas propiedades mecánicas y solubilidad variando la temperatura y humedad relativa durante el secado de películas de soja obtenidas por casting, y que incluso estas variaciones difieren al trabajar con aislados proteicos de soja con distintas propiedades estructurales iniciales. Foulk y Bunn (2001) observaron que al aumentar la temperatura usada para obtener películas de soja acetiladas

por termocompresión las mismas presentaron mayores resistencias a la tracción y menores WVP.

- *aplicar post-tratamientos físicos y químicos sobre las películas*

Las propiedades funcionales de las películas proteicas también pueden mejorarse sometiendo a las mismas a tratamientos físicos y químicos con posterioridad a su formación. Micard et al. (2000) observaron que al aplicar tratamientos térmicos cortos – a temperaturas superiores a 100°C- o en presencia de vapores de formaldehído, las películas de gluten resultantes presentaron un aumento en su resistencia mecánica en detrimento de su elongación y una disminución drástica en su solubilidad probablemente debido a un incremento en el entrecruzamiento covalente entre gluteninas. Estos autores además informaron que mientras que los tratamientos térmicos provocaron cambios en la coloración que podrían afectar su posterior aplicación, los tratamientos con formadehído podrían estar comprometiendo su biodegradabilidad. Efectos similares fueron encontrados al sumergir películas de proteínas de poroto en soluciones alcohólicas de formaldehído (Gueguen et al., 1998) y al tratar térmicamente películas de soja (Gennadios et al., 1996) y de suero de leche (Miller et al., 1997).

También se logró mejorar la resistencia a la tracción de películas de proteínas de soja al someterlas a radiación UV y γ , no observándose el mismo efecto con proteínas de poroto irradiadas con luz ultravioleta. Esto probablemente se deba al alto contenido de tirosina y fenilalanina que presentan las proteínas de soja, ya que estos aminoácidos pueden inducir

entrecruzamiento como consecuencia del tratamiento con radiación UV (Gennadios et al., 1998, Gueguen et al., 1998).

Dado que la resistencia mecánica se incrementa al disminuir la humedad relativa del medio (Miller et al., 1997), las propiedades mecánicas de las películas también pueden modificarse durante su envejecimiento o almacenamiento, aun en condiciones de temperatura y humedad relativa en las que la movilidad de las moléculas está reducida, dependiendo de la oxidación de los grupos sulfidrilos durante el secado y almacenamiento. (Morel et al., 2000).

Formación de materiales compuestos y nanocompuestos de matriz proteica

La formación de materiales compuestos también se presenta como una buena alternativa para mejorar las propiedades de las películas proteicas o para lograr propiedades diferenciales para distintas aplicaciones. El objetivo es combinar dos o más materiales a fin de obtener uno nuevo que comparta las ventajas de cada componente y minimice las desventajas que presentan cada uno de ellos por separado.

Estos materiales compuestos pueden producirse como materiales multicapa, donde se aplica un recubrimiento o una película sobre otra ya formada - siendo en este caso uno de ellas de naturaleza proteica -, o a partir de una mezcla de proteínas con otros polímeros, con otros componentes o refuerzos para formar una película con propiedades únicas que combinen los atributos más deseables de cada componentes.

- *materiales compuestos proteína- lípidos*

Entre los materiales compuestos, aquellos formados por proteína-lípidos intentan mejorar las propiedades barreras al vapor de agua de las películas proteicas.

Desde la antigüedad, en Oriente se utilizaron las películas formadas superficialmente al calentar leche de soja, como materiales comestibles para preservar alimentos. Estos productos, conocidos como “Yuba” en Japón, “tou-fu-pi” en China, “kong kook” en Corea, y “fu chok” en Malasia, están compuestos principalmente por proteínas y lípidos y consisten en una matriz proteica formada por acción del calor y mantenida por interacciones proteína-proteína a través de enlaces disulfuro, puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas (Wu y Bates, 1972; Fukushima. y Van Buren, 1970). Si bien este proceso se realiza desde la antigüedad, existen esfuerzos actuales para mejorar el procesamiento, de manera de lograr controlar mejor el calentamiento para la obtención del material (Lei et al. 2007).

En general con lípidos y proteínas es posible obtener dos tipos de películas: i) laminadas -donde los lípidos forman una capa separada de la de proteína- y ii) emulsionados -donde los lípidos están uniformemente distribuidos en la matriz proteica-. Cada una tiene sus ventajas: las laminadas son más fáciles de aplicar en lo que respecta a la temperatura, debido a que es posible controlar por separado la formación de cada capa, pero requiere de cuatro etapas de procesamiento -dos moldeos a partir de dispersiones o fundidos y dos etapas de secado- lo que condiciona su aplicación en la industria alimentaria; y en el caso de las emulsionadas, si bien es necesario controlar la temperatura de la emulsión por encima de la temperatura de fusión de los lípidos y por

debajo de la temperatura de gelación proteica y de la volatilización del disolvente, su preparación solo requiere de la mitad de etapas (un moldeo y un secado). Dado que las películas laminadas logran un comportamiento mas eficiente como barrera al vapor de agua respecto de las películas emulsionadas, debido a que en estas últimas el agua puede permear por las fases no lipídicas, una alternativa interesante seria formar una película bicapa a partir de la desestabilización de una emulsión, aunque de esta manera resulta muy difícil conseguir una película totalmente homogénea de un tamaño considerable (Debeaufort et al., 2000; Quezada-Gallo et al., 2000).

En el caso de las películas emulsionadas, el efecto de los lípidos puede variar desde destruir la matriz proteica, a lograr mejorar las propiedades mecánicas y barreras. Esto depende del tipo de lípidos utilizados y de las interacciones que se establezcan entre los lípidos y las proteínas (Krochta, 2002). Cuando la actividad superficial intrínseca de las proteínas no es suficiente como para lograr una buena dispersión de los lípidos en las películas, se agregan a la formulación emulsificantes con el fin de mejorar la interface entre ambos componentes (Fabra et al., 2008).

Entre los lípidos que pueden ser utilizados en la formulación de este tipo de películas se encuentran las ceras, los ácidos grasos y los monoglicéridos acetilados. Las películas compuestas resultantes al trabajar con estos lípidos y proteínas de suero de leche, caseína, zeinas, gluten y soja resultaron ser mejores barreras al vapor de agua que las respectivas películas proteicas (Avena-Bustillos y Krochta, 1993; McHugh y Krochta, 1994; Perez-Gago y Krochta, 1999; Gontard, et al., 1994; Rhim et al., 1999, Monedero et al. 2009, Anker et al. 2002)

- ***materiales compuestos proteína- otros biopolímeros***

Con el fin de combinar la buena selectividad a gases de las películas en base a proteína con mejores propiedades mecánicas o resistencia a la humedad características de otros polímeros, se han obtenido películas (laminadas o a partir de mezclas) con:

i) polímeros sintéticos: por ejemplo recubriendo polietileno y polipropileno con proteínas de suero de leche (Hong y Krochta, 2006),

ii) polímeros biodegradables sintéticos: por ejemplo soja con ácido poliláctico (Rhim et al., 2007) y con policaprolactona (Choi et al., 2006; Hong et al., 2009); y polivinilalcohol con proteínas de soja, miofibrilares y gelatina (Maria et al., 2008; Limpan et al., 2010; Su et al., 2010),

iii) biopolímeros distintos a proteínas: por ejemplo proteínas de suero con quitosano (Ferreira et al.; 2009) y con alginato, pectinas y carragenatos (Coughlan et al., 2004), gelatina-almidón modificado (Arvanitoyannis et al., 1998), gluten- metilcelulosa (Zuo et al., 2009), y proteínas con almidón (Gonzalez-Gutierrez et al., 2010).

iv) otras proteínas de distinto origen: por ejemplo películas laminadas de suero de leche y zeínas (Ghanbarzadeh y. Oromiehi, 2009), soja –gelatina (Denavi et al., 2009), gelatina-caseína (Chambi y Grosso, 2006)

- **materiales compuestos en base a proteínas y refuerzos**

También se lograron mejorar las propiedades mecánicas al combinar proteínas con distintas cargas: gluten de maíz con fibra de vidrio (Beg et al., 2005), soja con fibras

vegetales (Liu et al., 2004 y 2005), proteínas de girasol y almidón con fibras de celulosa (Salgado et al., 2007)

- *materiales nanocompuestos de matriz proteica*

Al igual que en el campo de los poliméricos sintéticos, la nueva generación de materiales en el área de biopolímeros se focaliza en la obtención de nanocompuestos, en particular bio-nanocompuestos. Estos materiales consisten en una matriz de biopolímero reforzada con nanopartículas que tienen al menos una de sus dimensiones en el rango de los nanómetros (1–100 nm). Es de esperar que los mismos exhiban mejores propiedades mecánicas y de barrera, estabilidad térmica; resistencia química y apariencia superficial, aun con niveles de carga bajos ($\leq 5-10\%$) debido a la relación de aspecto alta (high aspect ratio) y a la gran área superficial de las nanopartículas (Rhim y Ng, 2007; Zhao et al., 2008), que le permiten interactuar fuertemente con la matriz polimérica.

Entre los materiales nanocompuestos, los más estudiados son aquellos que utilizan como nanorefuerzo montmorillonita, un silicato en capas, abundante, económico y amigable con el medio ambiente. El agregado de esta nanoarcilla ha logrado mejorar la performance de materiales de matriz proteica de soja (Kumar et al. 2010), gluten (Tunc et al., 2007; Cho et al., 2010; Guilherme et al., 2010), proteínas de suero de leche (Hedenqvist et al., 2006) y de gelatina (Rao, 2007), formados por distintas técnicas de procesamiento mencionadas anteriormente. La principal razón por la cual estas nanoarcillas mejoran las propiedades de los polímeros son las interacciones superficiales fuertes entre la matriz y la carga (Chen et al. 2002). Las capas o plaquetas de silicatos

generalmente tienen grosores del orden de 1 nm y grandes superficies (10-1000), por lo que aún usando bajas proporciones de cargas al dispersarlos bien en la matriz se generan mayores superficies de contacto que con los compuestos convencionales. En los ejemplos antes mencionados, las mejoras más importantes en las propiedades mecánicas y barrera generalmente se encuentran asociadas con el logro de una buena exfoliación de la arcilla en la matriz proteica.

También se están comenzando a estudiar el agregado de otros tipos de nano cargas para reforzar matrices proteicas, algunas también de naturaleza biodegradable. En este sentido se ha logrado mejorar las propiedades mecánicas de películas de caseína con nanofibras de celulosa obtenidas a partir de celulosa microcristalina (Pereda et al., 2010), de películas de soja con nanocristales de almidón (Zheng et al., 2009) así como las propiedades mecánicas y barrera al UV al agregar concentraciones menores al 0.25 % de nano partículas de TiO_2 a películas de suero de leche. En este último caso, el efecto observado se atribuyó al hecho que a esas bajas concentraciones de nano carga se fomentan las interacciones partícula-proteína, en detrimento de las interacciones partícula-partícula y proteína-proteína (Li et al., 2010).

También se ha observado que la presencia de los nanorefuerzos modifica las propiedades de transferencia a través de las matrices proteicas (Tunc et al., 2007). Teniendo en cuenta esta observación se podría pensar que los sistemas nanocompuestos podrían modular la liberación de moléculas activas (incorporadas a la formulación) debido a diferencias en la estructuración de la red de proteínas provocada por la presencia de esos refuerzos y al incremento de la tortuosidad del camino a recorrer,

reduciendo la velocidad de difusión. Este tópico recién está comenzando a ser estudiado en relación a sus posibles aplicaciones en envase de alimentos (Mascheroni et al., 2010).

Ventajas y debilidades de los materiales proteicos

La característica más beneficiosa de los materiales proteicos reside en su comestibilidad y su biodegradabilidad inherente. Para poder mantener la primera de dichas características, todos los componentes (proteínas, plastificantes y otros aditivos) empleados en la formulación de las películas deben ser ingredientes de grado alimentario; todos los procesos de fabricación deben ser apropiados para la elaboración de alimentos y solo es posible inducir cambios en las proteínas por calentamiento, modificación de pH, adición de sal, modificación enzimática y/o eliminación de agua (Krochta, 2002). Estos materiales pueden mejorar la calidad nutricional de los alimentos que protegen, más que por el incremento del contenido proteico, porque se les puede adicionar suplementos nutritivos. Por otra parte, dado que los materiales formulados en base a proteínas pueden actuar como soporte para el crecimiento antimicrobiano, es necesario tener en consideración variables como la actividad acuosa, pH, temperatura, atmósfera y tiempo, y considerar el agregado de agentes antimicrobianos a la formulación para proteger tanto a la película o recubrimiento como al alimento, en consecuencia al consumidor.

Para que un material sea biodegradable, sus componentes deben ser biodegradables y ambientalmente seguros y para asegurar totalmente esto es necesario evaluar la toxicidad

y la seguridad ambiental haciendo uso de técnicas autorizadas (de Vlieger, 2003) La cinética de biodegradación del material dependerá del tipo de proteína (peso molecular, estructura) y de los aditivos usados (por ejemplo, plastificantes, refuerzos, etc). Domenek et al. (2004) observaron que materiales formulados en base a gluten, obtenidos por casting y por moldeo con calor se degradaron totalmente luego de 36 días de fermentación aeróbica y de 50 días al depositarlos en suelos agrícolas. Estos valores sitúan a estas proteínas entre los polímeros de más rápida degradación, no habiéndose observado efectos tóxicos de las mismas, ni de sus metabolitos al emplear ensayos de inhibición microbiana.

La alta selectividad a gases, así como la baja permeabilidad al oxígeno, a lípidos y aromas (antes discutidas), son propiedades interesantes a tener en cuenta al buscar posibles aplicaciones de estos materiales en la industria alimentaria.

Sin duda, la gran debilidad que tienen estos materiales es su alta sensibilidad a la humedad, lo que complica su estabilidad durante el almacenamiento. Pero esta característica es inherente a las proteínas.

El principal reto para el uso de estos materiales biodegradables como envase de alimentos o en otras aplicaciones, es que los mismos puedan funcionar de manera segura y eficaz durante el tiempo necesario, y sólo después de que el destino funcional haya terminado, la biodegradación proceda.

Posibles campos de aplicación de los materiales proteicos

Las propiedades diferenciales que presentan los materiales formulados a partir de proteínas, aún sus aparentes desventajas, pueden ser utilizadas con diferentes fines. Así por ejemplo, la solubilidad en agua o la sensibilidad al agua de este tipo de materiales es una ventaja en la formulación de sachets solubles (menos perceptibles en la boca) o en la formulación de materiales activos donde la capacidad de embeber agua es usada para inducir un cambio drástico en las propiedades del material, o para liberar el compuesto activo.

También dentro del campo de los materiales activos es posible aditivar a las películas y recubrimientos proteicos con agentes antimicrobianos, antioxidantes, captadores de etileno y oxígeno, absorbedores y emisores de dióxido de carbono, removedores de humedad y de olores, emisores de olores, colorantes, etc., con el fin de proteger y mejorar la calidad de los alimentos a proteger, teniendo en cuenta cuales son los principales mecanismos de su deterioro (Brody et al., 2001)

La alta selectividad a gases de las películas proteicas es particularmente interesante para el desarrollo de envases con atmósfera modificada destinados a empaques para quesos (para controlar la proliferación de la microflora) y para frutas y vegetales frescos (para controlar la velocidad de respiración). (Guilbert et al., 1996; Barron et al., 2002) .

Se ha mostrado que la aplicación de recubrimientos proteicos sobre algunos alimentos antes del fritado, permite aumentar la retención de jugos y flavors naturales, mejorar la textura y apariencia, y principalmente reducir la migración de agua y la absorción de aceite, dándole una respuesta a los consumidores que demandan por productos fritos con bajo contenido de aceite y buenas características organolépticas.

También existen numerosas aplicaciones potenciales en el campo no alimentario. En agricultura por ejemplo, las películas pueden ser empleadas como mulching (para evitar crecimiento de malezas en los cultivos) o para túneles bajos (por ejemplo para cultivos de frutillas), pero también como recubrimientos de semillas, o para la liberación de productos agroquímicos (Guilbert y Gontard, 1995). La aplicación de materiales biodegradables en agricultura intensiva, es de suma importancia debido a la dificultad que implica la gestión de residuos plásticos en las zonas rurales o donde se encuentra los invernaderos. Las formulaciones en base a proteínas, también podrían ser usadas en la industria del papel o del plástico, a través de la modificación de las propiedades de estos materiales por formación de recubrimientos proteicos sobre su superficie (Han y Krochta, 1999 y 2001).

Algunos de los productos de plástico, habitualmente usados, también podrían ser reemplazados por materiales proteicos, tales como bolsas para la basura, tazas, platos, contenedores, utensillos, etc.

Perspectivas

. Existen grandes posibilidades para estos materiales. La aplicación gradual de legislaturas en el uso de materiales biodegradables y la presión de los consumidores es la que va a definir el interés comercial real en esta área (Petersen et al., 1999). Pero para que estos materiales comiencen a ser utilizados en el ámbito industrial es necesario:

- Seguir trabajando en su obtención, implementando las técnicas de procesamiento comunes a los polímeros sintéticos

- encontrar las aplicaciones adecuadas para estos materiales, que quedan determinadas por las propiedades de los mismos. Pero con la necesidad de evaluar su comportamiento en situaciones problemáticas existentes.
- Seguir estudiando el desarrollo de nuevos materiales con mejores propiedades barrera. El uso de materiales con propiedades barrera altas puede reducir la cantidad de material requerido para el envasado, ya que son hechos por materiales finos y livianos con mejores propiedades. El uso de este tipo de materiales reduce los costos de manipuleo, distribución y transporte y de reducción de basura.

Referencias

Adachi, M., Kanamori, J., Masuda, T., Yagasaki, K., Kitamura, K., Mikami, B., y Utsumi, S. (2003). Crystal structure of soybean 11S globulin: glycinin A3B4 homohexamer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100(12): 7395–7400.

Adachi, M., Takenaka, Y., Gidamis, A.B., Mikami, B., y Utsumi, S., (2001). Crystal structure of soybean proglycinin A1aB1b homotrimer. *Journal of Molecular Biology* 305(2): 291–305.

Andreuccetti, C., Carvalho, R.A., y Grosso, C.R.F. (2009). Effect of hydrophobic plasticizers on functional properties of gelatin-based films. *Food Research International* 42(8): 1113-1121.

Anker, M., Berntsen, J., Hermansson, A.-M., y Stadin, M. (2002). Improved water vapor barrier of whey protein films by addition of an acetylated monoglyceride. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 3(1): 81-92.

Arntfield, S.D., y Murray, E.D. (1981). The influence of processing parameters on food protein functionality. I. Differential scanning calorimetry as an indicator of protein denaturation. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal* 14:289-294.

Arvanitoyannis, I.S. (1999). Totally and partially biodegradable polymer blends based on natural and synthetic macromolecules: Preparation, physical properties and potential as food packaging materials. *Journal of Macromolecular Science* 39(2): 205-271.

Arvanitoyannis, I.S., Nakayama, A., y Aiba, S.-I. (1998). Edible films made from hydroxypropyl starch and gelatin and plasticized by polyols and water. *Carbohydrate Polymers* 36(2-3): 105-119.

Atarés, L., Bonilla, J., y Chiralt, A. (2010). Characterization of sodium caseinate-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. *Journal of Food Engineering* 100(4): 678-687.

Audic, J.-L., y Chaufer, B. (2005). Influence of plasticizers and crosslinking on the properties of biodegradable films made from sodium caseinate. *European Polymer Journal* 41(8): 1934-1942.

Avena-Bustillos, R.J., y Krochta, J.M. (1993). Water vapor permeability of caseinate-based edible films as affected by pH, calcium cross-linking and lipid content. *Journal of Food Science* 58(4):904-907.

Barron, C., Varoquaux, P., Guilbert, S., Gontard, N., y Gouble, B. (2002) Modified atmosphere packaging of cultivated mushroom (*Agaricus bisporus* L.) with hydrophilic films. *Journal of Food Science* 67(1): 251-255.

Beg, M.D.H., Pickering, K.L., y Weal, S.J. (2005). Corn gluten meal as a biodegradable matrix material in wood fibre reinforced composites. *Materials Science and Engineering* 412: 7-11

Brody, A.L. Strupinsky, E.R., y Kline, L.R. (2001) Active packaging for foods applications. CRC Press, USA.

Cao, N., Yang, X., y Fu, Y. (2009). Effects of various plasticizers on mechanical and water vapor barrier properties of gelatin films. *Food Hydrocolloids* 23(3): 729-735.

Catsimpoolas, N. y Ekenstam, C. (1969). Isolation of alpha, beta, and gamma conglycinins. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 129(2): 490-497.

Chambi, H., y Grosso, C. (2006). Edible films produced with gelatin and casein cross-linked with transglutaminase. *Food Research International* 39(4): 458-466.

Cheftel, J.L., Cuq, J. L y Lorient D. (1985). Amino acids, peptides and proteins. En Fennema O.R. (ed) Food Chemistry. Marcel Dekker Inc, New York, USA. Cap. 5.

Chen, J.S., Poliks, M.D., Ober, C.K., Zhang, Y., Wiesner, U., y Giannelis, E.P. (2002). Study of the interlayer expansion mechanism and thermal-mechanical properties of surface-initiated epoxy nanocomposites. *Polymer* 43: 4895–904.

Cho, S.-W., Gällstedt, M., Johansson, E., y Hedenqvist, M.S. (2010). Injection-molded nanocomposites and materials based on wheat gluten. *International Journal of Biological Macromolecules* (in press) doi:10.1016/j.ijbiomac.2010.10.012

Choi, W.Y., Lee, C.M., y Park, H.J. (2006). Development of biodegradable hot-melt adhesive based on poly- ϵ -caprolactone and soy protein isolate for food packaging system. *LWT - Food Science and Technology* 39(6): 591-597.

Coughlan, K., Shaw, N.B., Kerry, J.F., y Kerry, J.P. (2004). Combined effects of proteins and polysaccharides on physical properties of whey protein concentrate-based edible films. *Journal of Food Science* 69(6): 271-275.

Cuq, B., Gontard, N. y Guilbert N. (1998). Proteins as agricultural polymers for packaging production. *Cereal Chemistry* 75(1): 1-9.

Damodaran, S. (1989). Interrelationship of molecular and functional properties of food proteins. En *Food Proteins*. Kinsella, J.E., y Soucie, W.G. (eds). American Oil Chemists' Society: Champaign, IL. Chapter 3, pags. 21-51.

Damodaran, S. (1990). Interfaces, protein films, and foams. *Advances in Food and Nutrition Research* 34: 1-79.

Darby, N. y Creighton, T.E. (1995). Disulfide bonds in protein folding and stability. En Shirley, B.A. (ed.), *Protein stability and folding. Theory and Practice*. Totowa, New Jersey, pp 219-252.

Dawson, P.L., Hirt, D.E., Rieck, J.R., Acton, J.C., y Sotthibandhu, A. (2003). Nisin release from films is affected by both protein type and film-forming method. *Food Research International* 36(9-10): 959-968.

De Viegler, J.J. (2003). Green plastics for food packaging. En Ahvenainen R. (ed.) *Novel food packaging techniques*. Woodhead Publishing Limited and CRC Press, Cambridge, Cap. 24.

Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J.-A., Delporte, B., y Voilley, A. (2000). Lipid hydrophobicity and physical state effects on the properties of bilayer edible films. *Journal of Membrane Science* 180(1): 47-55.

Della Valle, G., Buléon, A., Carreau, P.J., Lavoie, P.-A., y Vergnes B. (1998). Relationship between structure and viscoelastic behavior of plasticized starch. *Journal of Rheology* 42(3): 507-525.

Denavi, G., Tapia Blácido, D.R., Añón, M.C., Sobral, P.J.A., Mauri, A.N., y Menegalli, F.C. (2008). Effects of drying conditions on some physical properties of soy protein films. *Journal of Food Engineering* 90(3): 341-349.

Denavi, G.A., Pérez-Mateos, M., Añón M.C., Montero, P., Mauri, A. N. y Gómez-Guillén, M. C. (2009). Structural and functional properties of soy protein isolate and cod gelatin blend films. *Food Hydrocolloids* 23(8): 2094-2101.

Djabourov, M., Lechaire, J., y Gaill, F. (1993). Structure and rheology of gelatin and collagen gels. *Biorheology* 30(3-4): 191-205.

Domenek, S., Feuilloley, P., Gratraud, J., Morel, M-H., y Guilbert, S. (2004). Biodegradability of wheat gluten based bioplastics. *Chemosphere* 54(4): 551-559.

Domenek, S., Morel, M., Bonicel, J. y Guilbert, S. (2002). Polymerization kinetics of wheat gluten upon thermosetting: a mechanistic model. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 50: 5947–5954.

Fabra, M.J., Talens, P., y Chiralt, A. (2008). Effect of alginate and λ -carrageenan on tensile properties and water vapour permeability of sodium caseinate–lipid based films. *Carbohydrate Polymers* 74(3): 419-426.

Ferreira, C.O., Nunes, C.A., Delgadillo, I., y Lopes-da-Silva, J.A. (2009). Characterization of chitosan–whey protein films at acid pH. *Food Research International* 42(7): 807-813.

Fishman, M.L., Coffin, D.R., Onwulata, C.I., y Konstance, R.P. (2004). Extrusion of pectin and glycerol with various combinations of orange albedo and starch. *Carbohydrate Polymers* 57(4): 401-413.

Fouk, J.A., y Bunn, J.M. (2001). Properties of compression-molded, acetylated soy protein films. *Industrial Crops and Products* 14(1): 11-22.

Franssen, L.R., Rumsey, T.R., y Krochta, J.M. (2004). Whey protein film composition effects on potassium sorbate and natamycin diffusion. *Journal of Food Science* 69(5): 347-350.

Fukushima D. y Van Buren J. (1970). Mechanisms of Protein Insolubilization During the Drying of Soy Milk. Role of Disulfide and Hydrophobic Bonds. *Cereal Chemistry* 47: 687-695

Galiotta, G., Di Gioia, L., Guilbert, S., y Cuq, B. (1998). Mechanical and thermomechanical properties of films based on whey proteins as affected by plasticizer and crosslinking agents. *Journal of Dairy Science* 81(12): 3123-3130.

Gemili, S., Yemenicioğlu, A., y Altinkaya, S.A. (2010). Development of antioxidant food packaging materials with controlled release properties. *Journal of Food Engineering* 96(3): 325-332.

Gennadios, A. (2002). Protein-based films and coatings. CRC Press. USA.

Gennadios, A., Ghorpade, V.M., Weller, C.L., y Hanna, M.A. (1996). Heat curing of soy protein films. *Transactions of the ASABE* 39(2): 575-579.

Gennadios, A., Rhim, J.W., Handa, A., Weller, C.L., y Hanna, M.A. (1998). Ultraviolet radiation affects physical and molecular properties of soy protein films. *Journal of Food Science* 63(2): 225-228.

Ghanbarzadeh, B., y Oromiehi, A.R. (2009). Thermal and mechanical behavior of laminated protein films. *Journal of Food Engineering* 90(4): 517-524.

Ghorpade, V.M., Li, H., Gennadios, A., y Hanna, M.A. (1995). Chemically modified soy protein films. *Transactions of the ASAE* 38, 1805-1808.

Giménez, B., Gómez-Estaca, J., Alemán, A., Gómez-Guillén, M.C., y Montero, M.P. (2009). Improvement of the antioxidant properties of squid skin gelatin films by the addition of hydrolysates from squid gelatin. *Food Hydrocolloids* 23(5): 1322-1327.

Gómez-Estaca, J., Bravo, L., Gómez-Guillén, M.C., Alemán, A., y Montero, P. (2009b). Antioxidant properties of tuna-skin and bovine-hide gelatin films induced by the addition of oregano and rosemary extracts. *Food Chemistry* 112(1): 18-25.

Gómez-Estaca, J., Giménez, B., Montero, P., y Gómez-Guillén, M.C. (2009a). Incorporation of antioxidant borage extract into edible films based on sole skin gelatin or a commercial fish gelatin. *Journal of Food Engineering* 92(1): 78-85.

Gontard, N., Duchez, C., Cuq, J-L., y Guilbert, S. (1994). Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapor permeability and other physical properties. *International Journal of Food Science and Technology* 29(1): 39-50.

Gonzalez-Gutierrez, J., Partal, P., Garcia-Morales, M., y Gallegos, C. (2010). Development of highly-transparent protein/starch-based bioplastics. *Bioresource Technology* 101(6): 2007-2013.

Güçbilmez, C.M., Yemenicioğlu, A., y Arslanoğlu, A. (2007). Antimicrobial and antioxidant activity of edible zein films incorporated with lysozyme, albumin proteins and disodium EDTA. *Food Research International* 40(1): 80-91.

Gueguen, J., Viroben, G., Noireaux, P., y Subirade, M. (1998). Influence of plasticizers and treatments on the properties of films from pea proteins. *Industrial Crops and Products* 7(2-3): 149-157.

Guilbert, S. (1986). Technology and application of edible protective films. En: Mathlouthi, M. (ed.), Food packaging and preservation. Elsevier. Appl. Sci. Publ., New York, USA, pags. 371-394.

Guilbert, S., Gontard, N., y Gorris, L.G.M. (1996). Prolongation of the shelf life of perishable food products using biodegradable films and coatings. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* 29(1-2): 10-17.

Guilbert, S., y Gontard, N. (1995). Edible and biodegradable food packaging. En: Foods and packaging materials—chemical interactions. Ackermann, P., Jägerstad, M., y Ohlsson, T. (eds). R. Soc. Chem., Cambridge, pags. 159-168.

Guilherme, M.R., Mattoso, L.H.C., Gontard, N., Guilbert, S., y Gastaldi, E. (2010). Synthesis of nanocomposites films from wheat gluten matrix and MMT intercalated with different quaternary ammonium salts by way of hydroalcoholic solvent casting. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing* 41(3): 375-382.

Han J.H., Krochta J.M. (1999). Wetting properties and water vapor permeability of whey-protein-coated paper. *Transactions of the ASABE* 42(5): 1375-1382.

Han, J.H. y Gennadios, A. (2005). Edible films and coatings: a review. En Han J.H. (ed.), *Innovations in Food Packaging*. Elsevier Academic Press, California, USA, pags. 239-262.

Han, J.H., y Krochta, J.M. (2001). Physical properties and oil absorption of whey-protein-coated paper. *Journal of Food Science* 66(2): 294-299.

Hedenqvist, M.S., Backman, A., Gällstedt, M., Boyd, R.H., y Gedde, U.W. (2006). Morphology and diffusion properties of whey/montmorillonite nanocomposites. *Composites Science and Technology* 66(13): 2350-2359.

Hermansson, A. M. 1978. Physicochemical aspects of soy proteins structure formation. *J. Texture Stud.* 9:33-58.

Hong, S.I., Choi, W.Y., Cho, S.Y., Jung, S.H., Shin, B.Y., y Park, H.J. (2009). Mechanical properties and biodegradability of poly- ϵ -caprolactone/soy protein isolate blends compatibilized by coconut oil. *Polymer Degradation and Stability* 94(10): 1876-1881.

Hong, S.-I., y Krochta, J.M. (2006). Oxygen barrier performance of whey-protein-coated plastic films as affected by temperature, relative humidity, base film and protein type. *Journal of Food Engineering* 77(3): 739-745.

Irissin-Mangata J., Bauduin, G., Boutevin, B., y Gontard, N. (2001). New plasticizers for wheat gluten films. *European Polymer Journal* 37(8): 1533-1541.

Jongjareonrak, A., Benjakul, S., Visessanguan, W., y Tanaka, M. (2008). Antioxidative activity and properties of fish skin gelatin films incorporated with BHT and α -tocopherol. *Food Hydrocolloids* 22(3): 449-458.

Kato, A., y Nakai, S. (1980). Hydrophobicity Determined by a Fluorescence Probe Method and its Correlation with Surface Properties of Proteins. *Biochimica et Biophysica Acta - Protein Structure* 624(1): 13-20.

Kauzmann, W. (1951). Some factors in the interpretation of protein denaturation. *Advances in Protein Chemistry* 14:1-63.

Ko, T.P., Ng, J.D., y McPherson, A. (1993). The three dimensional structure of canavalin from jack bean (*Canavalia ensiformis*). *Plant Physiology* 101(3): 729-744.

Koehler, P., Kieffer, R., y Wieser, H. (2010). Effect of hydrostatic pressure and temperature on the chemical and functional properties of wheat gluten III. Studies on gluten films. *Journal of Cereal Science* 51(1): 140-145.

Koshiyama, I. (1972). Comparison of acid-induced conformation changes between 7S and 11S globulin in soybean seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 23(7): 853-859.

Krochta J.M. (1997). Edible protein films and coatings. In: Damodaran, S. and Paraf, A. (ed), *Food proteins and their applications*. New York, Marcel Dekker, Inc, pags 529-549.

Krochta J.M. (2002). Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current, status, and opportunities. En Gennadios A. (ed.), *Protein-based films and coatings*. CRC Press, Boca Raton, USA, pags. 1-42.

Krochta, J.M., Baldwin, E.A., y Nisperos-Carriedo, M. (1994). *Edible coatings and films to improve food quality*. Technomic Publishing Co., Lancaster, PA, USA.

Kumar, P., Sandeep, K.P., Alavi, S., Truong, V.D., y Gorga, R.E. (2010). Preparation and characterization of bio-nanocomposite films based on soy protein isolate and montmorillonite using melt extrusion. *Journal of Food Engineering* 100(3): 480-489.

Laurence, M.C, Izard, T., Beuchat, M., Blagrove, R.J., y Colman, P.M. (1994). Structure of phaseolin at 2.2 Å resolution: Implications for a common vicilin/legumin structure and the genetic engineering of seed storage proteins. *Journal of Molecular Biology* 238(5):748-776.

Leerahawong, A., Aree, R., Tanaka, M., y Osako, K. (2011). Edible film from squid (*Todarodes pacificus*) mantle muscle. *Food Chemistry* 124(1): 177-182.

Lefebvre, J., Popineau, Y., Deshayes, G. y Lavenant, L. (2000). Temperature-induced changes in the dynamic rheological behavior and size distribution of polymeric proteins for glutens from wheat near-isogenic lines differing in HMW glutenin subunit composition. *Cereal Chemistry* 77: 193–201

Lei, L., Zhi, H., Xiujin, Z., Takasuke, I., y Zaigui, L. (2007). Effects of different heating methods on the production of protein–lipid film. *Journal of Food Engineering* 82(3): 292-297.

Li, Y., Jiang, Y., Liu, F., Ren, F., Guanghua, y Leng, X. (2010). Fabrication and characterization of TiO₂/whey protein isolate nanocomposite film. *Food Hydrocolloids* (in press) doi:10.1016/j.foodhyd.2010.10.006

Limpan, N., Prodpran, T., Benjakul, S., y Prasarnpran, S. (2010). Properties of biodegradable blend films based on fish myofibrillar protein and polyvinyl alcohol as

influenced by blend composition and pH level. *Journal of Food Engineering* 100(1): 85-92.

Liu, W., Misra, M., Askeland, P., Drzal, L.T. y Mohanty, A.K. (2005). 'Green' composites from soy based plastic and pineapple leaf fiber: fabrication and properties evaluation. *Polymer* 46(8): 2710-2721.

Liu, W., Mohanty, A.K., Askeland, P., Drzal, L.T., y Misra, M. (2004). Influence of fiber surface treatment on properties of Indian grass fiber reinforced soy protein based biocomposites. *Polymer* 45(22): 7589-7596.

Maldonado-Valderrama, J., y Rodríguez Patino, J.M. (2010). Interfacial rheology of protein-surfactant mixtures. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 15(4): 271-282.

Maria, T.M.C., de Carvalho, R.A., Sobral, P.J.A., Habitante, A.M.B.Q., y Solorza-Feria, J. (2008). The effect of the degree of hydrolysis of the PVA and the plasticizer concentration on the color, opacity, and thermal and mechanical properties of films based on PVA and gelatin blends. *Journal of Food Engineering* 87(2): 191-199.

Maruyama, N., y Prak, K. (2004). Structure-physicochemical function relationships of soybean glycinin at subunit levels assessed by using mutant lines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(26): 8197-8201.

Maruyama, N., y Sato, R. (1999). Structure-physicochemical function relationships of soybean beta-conglycinin constituent subunits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(12): 5278-5284.

Mascheroni, E., Chalier, P., Gontard, N., y Gastaldi, N. (2010). Designing of a wheat gluten/montmorillonite based system as carvacrol carrier: Rheological and structural properties. *Food Hydrocolloids* 24(4): 406-413.

Matsudomi, N., Sasaki, T., Kato, A., y Kobayashi, K. (1985). Conformational changes and functional properties of acid-modified soy protein. *Agricultural and Biological Chemistry* 49:1251-1256.

Mauri, A., y Añón, M.C. (2006). Effect of solution pH on solubility and some structural properties of soybean protein isolate films. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86(7): 1064-1072.

Mauri, A., y Añón, M.C. (2008). Mechanical and physical properties of soy protein films with pH-modified microstructures. *Food Science and Technology Internacional* 14(2): 119-125.

McHugh, T.H., y Krochta, J.M. (1994). Water vapor permeability properties of edible whey protein-lipid emulsion films. *Journal of American Oil Chemists' Society* 71(3): 307-312.

Micard, V., Belamri, R., Morel, M-H., y Guilbert, S. (2000). Properties of chemically and physically treated wheat gluten films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(7): 2948-2953.

Micard, V., Morel, M.H., Bonicel, J.y Guilbert S. (2001). Thermal properties of raw and processed wheat glutenin relation with protein aggregation. *Polymer* 42: 477-485.

Miller, K.S., Chiang, M.T., y Krochta, J.M. (1997). Heat curing of whey protein films. *Journal of Food Science* 62(6): 1189-1193.

Molina Ortiz, S.E., y Wagner, J.R. (2002). Hydrolysates of native and modified soy protein isolates: Structural characteristics, solubility and foaming properties. *Food Research International* 35(6): 511-518.

Monedero, F.M., Fabra, M.J., Talens, P., y Chiralt, A. (2009). Effect of oleic acid-beeswax mixtures on mechanical, optical and water barrier properties of soy protein isolate based films. *Journal of Food Engineering* 91(4): 509-515.

Morel, M-H., Bonicel, J., Micard, V., y Guilbert, S. (2000). Protein insolubilization and thiol oxidation in sulfite-treated wheat gluten films during aging at various temperatures and relative humidities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(2): 186-192.

Morgan, R. G., Steffe, J. F., y Ofoli, R. Y.(1983). A generalized model for extrusion of protein dough. *Journal of Food Process Engineering*. 11:55-78.

Mungara, P., Zhang, J., Zhang, S. y Jane, J. (2002). Soy protein utilization in compression-molded, extruded, and injection-molded degradable plastics. En: Gennadios, A. (ed), Protein based films and coatings. CRC Press, USA, pags. 621-638

Nakai, S. (1983). Structure-function relationships of food proteins: with an emphasis on the importance of protein hydrophobicity. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 31 (4): 676-683.

Nielsen, N.C. (1985). The structure and complexity of the 11S polypeptides in soybeans. *Journal of American Oil Chemists´ Society* 62(12): 1680-1686.

Norajit, K., Kim, K.M., y Ryu, G.H. (2010). Comparative studies on the characterization and antioxidant properties of biodegradable alginate films containing ginseng extract. *Journal of Food Engineering* 98(3): 377-384.

Orliac, O., Rouilly, A., Silvestre, F., y Rigal, L. (2002). Effects of additives on the mechanical properties, hydrophobicity and water uptake of thermo-moulded films produced from sunflower protein isolate. *Polymer* 43(20): 5417-5425.

Orliac, O., Silvestre, F., Rouilly, A., y Rigal, L., (2003) Rheological studies, production, and characterization of injection-molded plastics from sunflower protein isolate. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 42:1674–1680.

Ou, S., Wang, Y., Tang, S., Huang, C., y Jackson, M.G. (2005). Role of ferulic acid in preparing edible films from soy protein isolate. *Journal of Food Engineering* 70(2): 205-210.

Oussalah, M., Caillet, S., Salmiéri, S., Saucier, L., y Lacroix, M. (2004). Antimicrobial and Antioxidant Effects of Milk Protein-Based Film Containing Essential Oils for the Preservation of Whole Beef Muscle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(18): 5598-5605.

Ozdemir, M., y Floros, J.D. (2008). Optimization of edible whey protein films containing preservatives for water vapor permeability, water solubility and sensory characteristics. *Journal of Food Engineering* 86(2): 215-224.

Pearson, A.M. (1983). Soy proteins. In Hudson B.J.F.(ed), *Developments in Food Protein-2* (edición). Applied Science. Pub., Londres, Inglaterra, pags. 67-108

Pereda, M., Amica, G., Rácz, I., y Marcovich, N.E. (2010). Structure and properties of nanocomposite films based on sodium caseinate and nanocellulose fibers. *Journal of Food Engineering* (in press) doi:10.1016/j.jfoodeng.2010.10.001

Pérez-Gago, M.B., y Krochta, J.M. (1999). Water vapor permeability of whey protein emulsion films as affected by pH. *Journal of Food Science* 64(4): 695-698.

Petersen, K., Nielsen, P.V., Bertelsen, G., Lawther, M., Olsen, M.B., Nilsson, N.H., y Mortensen, G. (1999). Potential of biobased materials for food packaging. *Trends in Food Science and Technology* 10:52-68.

Petrucelli, S. (1993). Modificaciones estructurales de aislados proteicos de soja producidas por tratamientos reductores y térmicos y su relación con propiedades funcionales. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

Petrucelli, S., y Añón, M.C. (1994a). Relationship between the method of obtention and the structural and functional properties of soy protein isolates. 1. Structural and hydration properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42(10): 2161-2169.

Petrucelli, S., y Añón, M.C. (1994b). Relationship between the method of obtention and the structural and functional properties of soy protein isolates: 2. Surface properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42(10): 2170-2176.

Petrucelli, S., y Añón, M.C. (1995). Thermal aggregation of soy protein isolates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43(12): 3035-3041.

Pintado, C.M.B.S., Ferreira, M.A.S.S., y Sousa, I. (2009). Properties of whey protein-based films containing organic acids and nisin to control listeria monocytogenes. *Journal of Food Protection* 72(9): 1891-1896.

Pommet, M., Redl, A., Guilbert, S., y Morel, M-H. (2005). Intrinsic influence of various plasticizers on functional properties and reactivity of wheat gluten thermoplastic materials. *Journal of Cereal Science* 42(1): 81-91.

Puppo, M.C., y Añón, M.C. (1999). Soybean protein dispersions at acid pH thermal and rheological properties. *Journal of Food Science* 64(1): 50-56.

Quezada Gallo, J.-A., Debeaufort, F., Callegarin, F., y Voilley, A. (2000). Lipid hydrophobicity, physical state and distribution effects on the properties of emulsion-based edible films. *Journal of Membrane Science* 180(1): 37-46.

Rangavajhyala, N., Ghorpade, V. y Hanna M. (1997). Solubility and molecular properties of heat-cured soy protein film. *Journal of Agriculture and Food. Chemistry* 45, 4204-4208.

Rao, Y.Q. (2007). Gelatine-clay nanocomposites of improved properties. *Polymer* 48(18): 5369-5375.

Redl, A., Morel, M.H., Bonicel, J., Guilbert, S. y Vergnes, B. (1999a). Rheological properties of gluten plasticized with glycerol: dependence on temperature, glycerol content and mixing conditions. *Rheologica Acta* 38: 311–320.

Redl, A., Morel, M.H., Bonicel, J., Vergnes, B. y Guilbert, S. (1999b). Extrusion of wheat gluten plasticized with glycerol: influence of process conditions on flow behavior, rheological properties, and molecular size distribution. *Cereal Chemistry* 76: 361–370.

Rhim, J.W., A. Gennadios, A. Handa, C.L. Weller, y Hanna, M.A. (2000). Solubility, tensile and color properties of modified soy protein isolate films. *Journal of Agriculture and Food. Chemistry* 48: 4937-4941.

Rhim, J.-W., Lee, J.H., y Ng, P.K.W. (2007). Mechanical and barrier properties of biodegradable soy protein isolate-based films coated with polylactic acid. *LWT - Food Science and Technology* 40(2): 232-238.

Rhim, J.W., Wu, Y., Weller, C.L., y Schnepf, M. (1999). Physical characteristics of emulsified soy protein–fatty acid composite films. *Sciences des Aliments* 19(1): 57-71.

Rhim, J.W., y Ng, P.K.W. (2007). Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 47(4): 411-433.

Rossi-Márquez, G., Han, J.H., García-Almendárez, B., Castaño-Tostado, E., y Regalado-González, C. (2009). Effect of temperature, pH and film thickness on nisin release from antimicrobial whey protein isolate edible films. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89(14): 2492-2497.

Salgado, P., Schmidt, V., Molina Ortiz, S., Mauri, A., y Laurindo, J. (2008). Biodegradable foams based on cassava starch, sunflower proteins and cellulose fibers obtained by a baking process. *Journal of Food Engineering* 85: 435-443.

Salgado, P.R., Molina Ortiz, S.E., Petrucci, S., y Mauri, A.N. (2010). Biodegradable sunflower protein films naturally activated with antioxidant compounds. *Food Hydrocolloids* 24(5): 525-533.

Seacheol, M., y Krochta, J.M. (2007). Ascorbic acid-containing whey protein film coatings for control of oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(8): 2964-2969.

Shutov, A.D., Blattner, F.R., y Baumlein, U. (1999). Evaluation of a conserved protein module from Archaea to plants. *Trends in Genetics* 15: 348-349.

Siripatrawan, U., y Harte, B.R. (2010). Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids* 24(8): 770-775.

Sivarooban, T., Hettiarachchy, N.S., y Johnson, M.G. (2008). Physical and antimicrobial properties of grape seed extract, nisin, and EDTA incorporated soy protein edible films. *Food Research International* 41(8): 781-785.

Sorgentini, D.A., Wagner, J.R., y Añón, M.C. (1995). Effects of thermal treatment of soy protein isolate on the characteristics and structure-function relationships of soluble and insoluble fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43(9): 2471-2479.

Staswick, P.E., M.A. Hermodson and N.C. Nielsen. 1984. Identification of the cystines that link the acidic and basic components of the glycinin subunits. *Journal of Biological Chemistry*. 259:13431-13435

Su, J.-F., Huang, Z., Zhao, Y.-H., Yuan, X.-Y., Wang, X.-Y., y Li, M. (2010). Moisture sorption and water vapor permeability of soy protein isolate/poly(vinyl alcohol)/glycerol blend films. *Industrial Crops and Products* 31(2): 266-276.

Tang, C., Jiang, H., Wen, Q., y Yang Q. (2005). Effect of transglutaminase treatment on the properties of cast films of soy protein isolates. *Journal of Biotechnology* 120 (3): 296-307

Thanh, V.H., y Shibasaki, K. (1976). Major proteins of soybean seeds - straightforward fractionation and their characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 24 (6): 1117-1121

Thanh, V.H., y Shibasaki, K. (1978). Major proteins of soybean seeds. Subunit structure of β -conglycinin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 26(3): 692-695.

Tunc, S., Angellier, H., Cahyana, Y., Chalier, P., Gontard, N., y Gastaldi, E. (2007). Functional properties of wheat gluten/montmorillonite nanocomposite films processed by casting. *Journal of Membrane Science* 289(1-2): 159-168.

Utsumi, S., y Kinsella J.E. (1985). Structure-function relationship in food proteins: subunit interactions in heat induced gelation of 7S, 11S and soy isolate proteins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 33(2): 297-303.

Utsumi, S., y Matsumura, Y. (1997). Structure-function relationships of soy proteins. En Damodaran S and Paraf A. (ed.), *Food Proteins and Their Applications*. Marcel Dekker, New York. pags: 257-291.

Vanin, F.M., Sobral, P.J.A., Menegalli, F.C., Carvalho, R.A., y Habitante, A.M.Q.B. (2005). Effects of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin-based films. *Food Hydrocolloids* 19(5): 899-907.

Vaz, C.M., de Graaf, L.A., Reis, R.L., y Cunha, A.M. (2003). In vitro degradation behaviour of biodegradable soy plastics: effects of crosslinking with glyoxal and thermal treatment. *Polymer Degradation and Stability* 81(1): 65-74.

Wagner, J.R., Sorgentini, D.A., y Añón, M.C. (1996). Thermal and electrophoretic behavior, hydrophobicity, and some functional properties of acid-treated soy isolates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44(7): 1881-1889.

Wagner, J.R., y Guéguen, J. (1995). Effects of dissociation, deamidation and reducing treatment on structural and surface active properties of soy glycinin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43(8): 1993-2000.

Wolf, W.J. (1970). Soybean proteins. Their functional, chemical, and physical properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 18(6): 969-976.

Wu, L.C. y Bates, R. P. (1972). Soy protein-lipid films. 1. Studies on the Film formation phenomenon. *Journal of Food Science* 37: 36-39.

Yamauchi, F.; Yamagishi, T. y Iwabuchi, S. (1991). Molecular understanding of heat-induced phenomena of soybean protein. *Food Review International* 7: 283-322.

Zhang, C., Guo, K., Ma, Y., Ma, D., Li, X., y Zhao, X. (2010). Incorporations of blueberry extracts into soybean-protein-isolate film preserve qualities of packaged lard. *International Journal of Food Science and Technology* 45(9): 1801-1806.

Zhao, R., Torley, P., y Halley, P.J. (2008). Emerging biodegradable materials: starch- and protein-based bio-nanocomposites. *Journal of Materials Science* 43(9): 3058-3071.

Zheng, H., Ai, F., Chang, P.R., Huang, J., y Dufresne, A. (2009). Structure and properties of starch nanocrystal-reinforced soy protein plastics. *Polymer Composites* 30(4): 474-480.

Zuo, M., Song, Y., y Zheng, Q. (2009). Preparation and properties of wheat gluten/methylcellulose binary blend film casting from aqueous ammonia: A comparison with compression molded composites. *Journal of Food Engineering* 91(3): 415-422.