



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Químicas

Departamento de Bioquímica y Alimentos

“Elaboración de películas a partir de las fracciones minoritarias de zeína de maíz criollo azul”

Tesis de licenciatura

para obtener el título de:

Químico Farmacobiólogo

Presenta:

Nayeli Alejandra Yañez Pacheco

Director:

D. C. Ivonne Pérez Xochipa

Asesor:

M. C. Ada María Ríos Cortes



Puebla, Pue.

Febrero, 2018



Puebla, Pue. a 5 de Abril de 2017

**C. YAÑEZ PACHECO NAYELI ALEJANDRA
PRESENTE**

Toda vez que se cuenta con la aprobación del Coordinador del Area de Bioquímica y Alimentos,

DC. IVONNE PEREZ XOCHIPA, Director de Tesis,

MC. ADA MARIA RIOS CORTES, Asesor,

se le comunica la autorización de su anteproyecto de tesis denominado:

"Elaboración de películas a partir de las fracciones minoritarias de zeína de maíz criollo azul"

Y con esta fecha se registra en los archivos de la Dirección de esta Facultad, para los fines legales a los que haya lugar

Atentamente

"Pensar bien para vivir mejor"

DR. JORGE RAÚL CERNA CORTEZ

DIRECTOR



Facultad
de Ciencias
Químicas

San Claudio No. 1, Edificio FCQ-9
Ciudad Universitaria, Col. San Manuel
Puebla, Pue. C.P. 72540
01 (222) 229 55 00 Ext. 7390 y 01 (222) 244 31 06



BUAP

Puebla, Pue. a 2 de Febrero de 2018

DC. LAURA MORALES LARA

MC. ARMANDO MENA CONTLA

MC. GONZALO A. FLORES MENDOZA

Con toda atención comunico a Uds. que se les propone como integrantes de la Comisión Revisora de Tesis que presenta el (la) Pasante de la Carrera de QUIMICO FARMACOBIOLOGO

YAÑEZ PACHECO NAYELI ALEJANDRA

cuyo título es :

"Elaboración de películas a partir de las fracciones minoritarias de zeína de maíz criollo azul"

Realizada en el Area de Bioquímica y Alimentos;

asimismo, les ruego que a la brevedad posible emitan el dictamen correspondiente.

Atentamente

"Pensar bien para vivir mejor"

DR. JORGE RAÚL CERNA CORTEZ

DIRECTOR



C.c.p. Archivo

80 AÑOS
DE UNIVERSIDAD

Facultad de Ciencias Químicas | San Claudio No. 1, Edificio FCQ-9
Ciudad Universitaria, Col. San Manuel
Puebla, Pue. C.P. 72540
01 (222) 229 55 00 Ext. 7390 y 01 (222) 244 31 06



BUAP

DR. JORGE RAÚL CERNA CORTEZ
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
PRESENTE

Los que suscriben, integrantes de la Comisión Revisora de la Tesis del alumno
de la carrera de QUIMICO FARMACOBIOLOGO
YANEZ PACHECO NAYELI ALEJANDRA

realizada en el area de Bioquímica y Alimentos, comunican a Ud. la aprobación
de la misma con la siguiente redacción:

**"Elaboración de películas a partir de las fracciones minoritarias de zeina de
maíz criollo azul"**

Se extiende la presente, para los usos que al interesado convengan, a los
12 días del mes de Febrero de 2018

Atentamente

"Pensar bien para vivir mejor"

DC. LAURA MORALES LARA

MC. ARMANDO MENA CONTLA

MC. GONZALO A. FLORES MENDOZA



C.c.p. Archivo

Vo.Bo.

Facultad
de Ciencias
Químicas

San Claudio No. 1, Edificio FCQ-9
Ciudad Universitaria, Col. San Manuel
Puebla, Pue. C.P. 72540
01 (222) 229 55 00 Ext. 7390 y 01 (222) 244 31 06



BUAP

MTRO. OMAR GERARDO AGUIRRE IBARRA
DIRECCION DE ADMINISTRACION ESCOLAR
P R E S E N T E

En relacion al oficio de fecha 15 de Febrero de 2018, signado por el Coordinador del Departamento de Bioquímica y Alimentos de la Facultad de Ciencias Quimicas, me permito comunicar a Ud. el nombre de los Catedráticos que integran el Jurado de Examen Profesional de la Carrera de QUIMICO FARMACOBIOLOGO que sustentará:

YAÑEZ PACHECO NAYELI ALEJANDRA

JURADO

DC. LAURA MORALES LARA
MC. ARMANDO MENA CONTLA
MC. GONZALO A. FLORES MENDOZA

Examen que se realizará el dia 28 de Febrero de 2018, a las 12:00 horas en el SALON DE USOS MULTIPLES.

Esperando una respuesta favorable al presente, le reitero mi atenta y distinguida consideracion

Atentamente

"Pensar bien para vivir mejor"

H. Puebla de Z. a 16 de Febrero de dos mil dieciocho

DR. JORGE RAUL CERNA CORTEZ

DIRECTOR



C.c.p. Archivo

Facultad de Ciencias Químicas | San Claudio No. 1, Edificio FCQ-9
Ciudad Universitaria, Col. San Manuel
Puebla, Pue. C.P. 72540
01 (222) 229 55 00 Ext. 7390 y 01 (222) 244 31 06

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, doy gracias a Dios por permitirme vivir, darme la capacidad de aprender y alcanzar mis metas.

A mis padres Justina Pacheco Bonfil y Antelmo Yañez Castillo, por su apoyo incondicional y paciencia a lo largo de mi vida, por motivarme a estudiar y ser mejor cada día, porque sin su apoyo no hubiera logrado terminar mi licenciatura, que siempre me han acompañado en los momentos importantes de mi vida.

A toda mi familia por creer en mí, preocuparse por mi bienestar y por sus consejos especialmente a mi abuelita Flor, a mis tías y tíos Caty, Hilda, Chivis, Félix, Toño, Leo, Chente, Bety, Chava, Cris y Jesús, por sus buenos deseos hacia mí y por brindarme su cariño, a mis primas y primos que los quiero mucho y también a mis sobrinas y sobrinos.

A Adyson Gustavo Flores Martínez por su apoyo, cariño y por ayudarme en los momentos difíciles de la carrera, quien es una persona especial que me hace feliz y con quien deseo poder compartir más logros.

A mis amigas y amigos que siempre han estado ahí para echarme porras para seguir adelante Barbie, Pao, Daniel, Ivette, Paty, Ángel, Lis, Jessy, Lorenita, Jaqui, Caro, Clau, Marisol y Lupita por mencionar solo a algunos entre todas esas personas maravillosas que se conocen a lo largo de la vida y te dan alegría de poder convivir con ellos.

A todos mis profesores pues sus enseñanzas han sido muy valiosas para mí, por transmitirme su conocimiento y experiencias, por su valioso esfuerzo pues han contribuido a mi formación profesional.

A mi directora de tesis D. C. Ivonne Pérez Xochipa por aceptarme como su tesista y apoyarme en la resolución de dudas y darme un espacio en el laboratorio en el que desarrollé esta tesis. Y mi asesora de tesis M. C. Ada María Ríos Cortes por su colaboración para realizar este trabajo.

A mis sinodales D. C. Laura Morales Lara, M. C. Armando Mena Contla y M. C. Gonzalo Flores Mendoza, quienes me aportaron sus puntos de vista para la aprobación de mi tesis, por dar su tiempo para las revisiones de esta.

A mi prima Jiasu Becerra y Pacheco por su ayuda en la revisión y corrección de esta tesis.

Al personal del Centro de Detección Biomolecular Cris, Elda y Sergio en donde realicé mi Servicio Social, por las enseñanzas que me dieron en el tiempo que estuve ahí.

A las químicas del Hospital Universitario de Puebla Lore Bortolotti y Mari Valencia por el aprendizaje que compartieron conmigo mientras estuve en la tarde, a la maestra Susana por aceptar mi estancia en el laboratorio y a todos los del área de hematología por el conocimiento brindado en mi estancia en el hospital.

Los experimentos Raman se realizaron con el Módulo C (laboratorio de Micro Raman) del LABORATORIO CENTRAL del IFUAP.

Las mediciones FT-IR se llevaron a cabo en el departamento de Química Analítica de la Facultad de Ciencias Químicas de la BUAP.

ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	IX
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
ÍNDICE DE CUADROS	XIII
RESUMEN	1
I. INTRODUCCIÓN.....	2
II. ANTECEDENTES.....	3
2.1 Recubrimientos y películas comestibles.....	3
2.2 Películas comestibles (PC)	4
2.3 Función de la película comestible	5
2.4 Componentes de las películas	5
2.4.1 Películas compuestas.....	8
2.5 Película de proteína	8
2.6 Plastificante en películas de proteína.....	9
2.7 Propiedades de la película de zeína	10
2.8 Características de la zeína de maíz	13
2.8.1 Extracción de la zeína	14
2.9 Generalidades del maíz	15
2.9.1 Maíz criollo azul.....	18
2.9.2 Antocianinas	18
2.10 Técnicas para análisis y evaluación de películas proteicas	19
III. JUSTIFICACIÓN	21
IV. OBJETIVOS	22
4.1 Objetivo general	22
4.2 Objetivos particulares.....	22
V. DIAGRAMA DE TRABAJO	23
VI. MATERIAL Y MÉTODOS	24
6.1 Material	24
6.2 Métodos	24
VII. METODOLOGÍA.....	25
7.1 Obtención de la harina integral	25
7.2 Extracción de las fracciones proteicas por solubilización diferencial	25

7.3	Elaboración de las películas.....	25
7.4	Caracterización por FT-IR de las películas de proteína de zeína.....	27
7.5	Análisis por Espectroscopía Raman de las películas de zeína	27
7.6	Evaluación de las características de las películas por microscopía	28
VIII.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
8.1	Obtención de zeína de maíz criollo azul.....	29
8.2	Elaboración de películas de zeína a diferentes concentraciones de plastificante	31
8.2.1	Películas de zeína de maíz criollo azul: X	31
8.2.2	Películas de zeína comercial: X'	32
8.2.3	Películas de zeína comercial, vertidas a baño maría: X''	33
8.2.4	Películas de zeína mixta (comercial y maíz criollo azul), vertidas a baño maría: X:	34
8.3	Caracterización por FT-IR de las películas	35
8.4	Análisis por Espectroscopía Raman de las películas	43
8.5	Evaluación de películas por microscopía	46
IX.	CONCLUSIONES.....	53
X.	SUGERENCIAS	54
XI.	BIBLIOGRAFÍA.....	55

ABREVIATURAS

°C	Grados Celsius
μL	Microlitros
2BME	2-mercaptoetanol
2-PrOH	2-propanol
AM	Atmósfera modificada
BUAP	Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
CCD	Dispositivo de carga acoplada (<i>Charge Coupled Device</i>)
cm	Centímetros
CO ₂	Bióxido de carbono
EVOH	Etileno de vinil alcohol
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (<i>Food and Agriculture Organization</i>)
FT-IR	Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier
g	Gramos
He	Helio
IFUAP	Instituto de Física de la Universidad Autónoma de Puebla
IR	Espectroscopía de infrarrojo
kDa	Kilodalton
KBr	Bromuro de potasio
LDPE	Polietileno de baja densidad
mL	Mililitros
Ne	Neón
O ₂	Oxígeno
-OH	Grupo hidroxilo
OP	Permeabilidad al oxígeno
p/v	Relación peso/volumen
PC	Película comestible

PRONASE	Programa Nacional para el Aprovechamiento Sustentable de la Energía
PVC	Policloruro de vinilo
PVDC	Cloruro de polivinilideno
RC	Recubrimiento comestible
RH	Humedad relativa
s.f.	Sin fecha
SAGARPA	Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural pesca y alimentación
SDS	Dodecilsulfato de sodio
SIAP	Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera
VDC	Cloruro de vinilideno
WVP	Permeabilidad al vapor de agua (<i>Water Vapor Permeability</i>)
X	Películas de fracciones minoritarias de zeína de maíz criollo azul
X'	Películas de zeína comercial
X:	Películas de zeína mixta (comercial y maíz criollo azul), vertidas a baño maría
X''	Películas de zeína comercial, vertidas a baño maría

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Estructura del grano de maíz.	17
Figura 2 Elaboración de películas de zeína.....	26
Figura 3 β -, γ - y δ -Zeína de maíz criollo azul.	29
Figura 4 Zeína comercial.....	29
Figura 5 Zeína mixta (comercial y maíz criollo azul).	29
Figura 6 Electroforesis SDS-PAGE de zeína comercial; extraída por el método de Parris y Dickey (2001). (A) Carril 2, zeína comercial sin tratamiento. (B) Zeína fraccionada: Carril 1, γ -, β -, δ - zeínas, Carril 2, α -zeína (Z-19 y Z-22)	30
Figura 7 Películas de zeína de maíz criollo azul: X	31
Figura 8 Películas de zeína comercial: X'.....	32
Figura 9 Películas de zeína comercial, vertidas a baño maría: X''	33
Figura 10 Películas de zeína mixta: X:	34
Figura 11 Espectro FT-IR película A	35
Figura 12 Espectro FT-IR película B	35
Figura 13 Espectro FT-IR película C	36
Figura 14 Espectro FT-IR película D	36
Figura 15 Espectro FT-IR película E	36
Figura 16 Espectro FT-IR película A'.....	37
Figura 17 Espectro FT-IR película B'.....	37
Figura 18 Espectro FT-IR película C'	38
Figura 19 Espectro FT-IR película D'	38
Figura 20 Espectro FT-IR película E'.....	38
Figura 21 Espectro FT-IR película A''	39
Figura 22 Espectro FT-IR película B''	39
Figura 23 Espectro FT-IR película C''	40
Figura 24 Espectro FT-IR película D''	40
Figura 25 Espectro FT-IR película E''	40
Figura 26 Espectro FT-IR película A:	41
Figura 27 Espectro FT-IR película B:	41
Figura 28 Espectro FT-IR película C:	42
Figura 29 Espectro FT-IR película D:	42
Figura 30 Espectro FT-IR película E:	42
Figura 31 Espectros Raman para las películas formadas sin adicionar glicerol....	44
Figura 32 Espectros Raman para las películas formadas adicionando 5% de glicerol.....	44
Figura 33 Espectros Raman para las películas formadas adicionando 10% de glicerol.....	45
Figura 34 Espectros Raman para las películas formadas adicionando 15% de glicerol.....	45
Figura 35 Espectros Raman para las películas formadas adicionando 20% de glicerol.....	46
Figura 36 Microfotografía a 10x de la película A	47

Figura 37 Microfotografía a 10x de la película B	47
Figura 38 Microfotografía a 10x de la película C	47
Figura 39 Microfotografía a 10x de la película D	47
Figura 40 Microfotografía a 10x de la película E	47
Figura 41 Microfotografía a 10x de la película A'	48
Figura 42 Microfotografía a 10x de la película B'	48
Figura 43 Microfotografía a 10x de la película C'	48
Figura 44 Microfotografía a 10x de la película D'	48
Figura 45 Microfotografía a 10x de la película E'	48
Figura 46 Microfotografía a 10x de la película A''	49
Figura 47 Microfotografía a 10x de la película B''	49
Figura 48 Microfotografía a 10x de la película C''	49
Figura 49 Microfotografía a 10x de la película D''	49
Figura 50 Microfotografía a 10x de la película E''	49
Figura 51 Microfotografía a 10x de la película A:	50
Figura 52 Microfotografía a 10x de la película B:	50
Figura 53 Microfotografía a 10x de la película C:	50
Figura 54 Microfotografía a 10x de la película D:	50
Figura 55 Microfotografía a 10x de la película E:	50

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Clasificación de las principales fuentes de proteínas para la elaboración de películas comestibles.	9
Cuadro 2 Clasificación taxonómica del maíz.....	15
Cuadro 3 Distribución de las principales partes del grano de maíz.....	16
Cuadro 4 Métodos y referencias para realizar las determinaciones.....	24
Cuadro 5 Formulación de las películas de zeína.....	27
Cuadro 6 Características físicas observadas visualmente de las películas de zeína de maíz criollo azul: X	31
Cuadro 7 Características físicas observadas visualmente de películas de zeína comercial: X'	32
Cuadro 8 Características físicas observadas visualmente de películas de zeína comercial, vertidas a baño maría: X''	33
Cuadro 9 Características físicas observadas visualmente de películas de zeína mixta (comercial y maíz criollo azul), vertidas a baño maría: X:.....	34
Cuadro 10 Características microscópicas de las películas de acuerdo con su concentración de plastificante	51

RESUMEN

En la actualidad las películas y recubrimientos comestibles han tomado importancia en la conservación de alimentos por su origen natural. Las películas comestibles son matrices preformadas que posteriormente se utilizan para recubrir alimentos. Debido a sus características la zeína (principal proteína del maíz) se ha utilizado para elaborar películas.

En este trabajo se realizó la extracción de las fracciones minoritarias de zeína de maíz criollo azul y por el método utilizado se mantuvo la coloración del maíz junto con el extracto. Se elaboraron películas a partir de las fracciones obtenidas además de películas a partir de zeína comercial y películas con una combinación de ambas zeínas (comercial y fracciones minoritarias) se utilizó glicerol a diferentes concentraciones como plastificante. Las películas se caracterizaron mediante FT-IR, se analizaron con espectroscopía Raman y por microscopía óptica se evaluó su uniformidad estructural.

Al utilizar las fracciones minoritarias de zeína de maíz criollo azul se obtuvieron películas visualmente atractivas por su coloración, que además presentaron gran adherencia al sustrato de formación. Las películas de zeína comercial sirvieron como control. Al evaluar la uniformidad de las películas por microscopía se observó que al variar concentraciones de plastificante estas presentan diferente estructura en su superficie.

La elección de una película dependerá del tipo de alimento que se desee recubrir y las características finales que se pretenda obtener.

I. INTRODUCCIÓN

Se ha presentado un interés por el desarrollo de películas y recubrimientos elaborados a base de biopolímeros renovables aplicados en diferentes áreas. Las proteínas se encuentran entre los biopolímeros que se utilizan o investigan como materias primas para producción de películas y recubrimientos (Krochta, 2002). Debido a la demanda para conservar al máximo las propiedades organolépticas de los alimentos se busca una mejora continua de los procesos empleados en la industria alimentaria, asegurando su conservación (Soliva y Martin, 2001).

Las películas comestibles van adquiriendo importancia como alternativa de empaque de alimentos por a su carácter biodegradable y flexible, además la ventaja de agregar aditivos que pueden mejorar la calidad y vida útil de los mismos. (Escobar et al., 2008). Los materiales para la formación de películas generalmente son proteínas, polisacáridos y lípidos, a menudo se les añade plastificante para reducir su fragilidad (Baldwin, 1999).

La zeína es una proteína del maíz que se extrae en una forma relativamente pura (Lawton, 2002), compuesta de polipéptidos que son fraccionados en cuatro subclases (α , β , γ y δ) (Larkins et al., 1984; Coleman y Larkins, 1999). La zeína α es la más abundante, zeínas β , γ y δ son las fracciones minoritarias (Esen, 1990; Huang et al., 2004; Parris y Dickey, 2003; Parris y Dickey, 2001; Shewry y Halford, 2002; Wang et al., 2003).

La coloración del grano de maíz azul se debe a la presencia de pigmentos como antocianinas (Irani et al., 2003). Al utilizar la metodología de extracción de Parris y Dickey (2001), se obtiene una pigmentación en el extracto junto con las fracciones zeína minoritarias (β -, γ - y δ -) (Pérez, 2009); al utilizar estas fracciones de zeína pigmentadas se pretende obtener películas que otorguen características de protección al alimento, que sean visualmente atractivas debido a su coloración.

II. ANTECEDENTES

En la última década se ha presentado un interés por el desarrollo de películas y recubrimientos elaborados a base de biopolímeros renovables. Estas películas y recubrimientos se han aplicado en áreas como embalaje, farmacéutica, entre otros, un gran número más de aplicaciones se prevé. Las proteínas de origen animal y vegetal a menudo están disponibles como subproductos de la industria en el procesamiento de alimentos. Se encuentran entre los biopolímeros que se utilizan o investigan como materias primas para la producción de películas y recubrimientos (Krochta, 2002).

En los últimos años, la creciente demanda para conservar al máximo las propiedades organolépticas de los alimentos, ha fomentado una mejora continua de los procesos empleados en la industria alimentaria, con el objetivo de asegurar su conservación sin afectar su calidad y vida útil (Soliva y Martin, 2001).

2.1 Recubrimientos y películas comestibles

Un recubrimiento comestible (RC) se puede definir como una matriz continua, delgada, que se estructura alrededor del alimento generalmente mediante la inmersión en una solución formadora del recubrimiento, estas son aplicadas en el momento de su elaboración (García-Ramos et al., 2010). Por otra parte, una película comestible (PC) es una matriz preformada, delgada, que posteriormente será utilizada en forma de recubrimiento del alimento o estará ubicada entre los componentes de este. Las soluciones formadoras de PC o RC pueden estar conformadas por un polisacárido, un compuesto de naturaleza proteica, lipídica o por una mezcla de estos (Krochta et al., 1994).

Al igual que los RC, las PC poseen propiedades mecánicas, generan efecto de barrera frente al transporte de gases, y pueden adquirir diversas propiedades funcionales dependiendo de las características de las sustancias encapsuladas y formadoras de dichas matrices (Vasconez et al., 2009).

Diversos estudios reconocen la importancia de evaluar las matrices preformadas (PC), con la tarea de cuantificar diversos parámetros como propiedades mecánicas, ópticas y antimicrobianas a fin de determinar las posibilidades de su aplicación como nuevo empaque, ya que crea una atmósfera modificada (AM) que restringe la transferencia de gases (O₂, CO₂) y se convierte en una barrera para la transferencia de compuestos aromáticos (Miller y Krochta, 1997).

2.2 Películas comestibles (PC)

Podemos encontrar una variedad de definiciones de lo que es una película comestible, entre estas tenemos que es una capa delgada y continua, premoldeada, hecha de materiales que puedan ser ingeridos por el consumidor y provee una barrera a la humedad, oxígeno y solutos. El material puede cubrir completamente el alimento o puede colocarse entre los componentes del producto (Guilbert, 1986).

De acuerdo con Krochta y De Mulder-Johnston (1997), una película comestible se define como aquella capa delgada de material comestible colocada (lo que implica que debe ser preformada) sobre o entre los componentes de los alimentos.

El interés por las películas comestibles ha crecido considerablemente, debido a que según Guilbert (1986) presentan las siguientes ventajas:

- Pueden ser ingeridas por el consumidor.
- Su uso reduce los desechos y la contaminación ambiental.
- Pueden mejorar las propiedades organolépticas, mecánicas y nutricionales de los alimentos.
- Proporcionan protección individual a pequeñas piezas o porciones de alimento.
- Pueden ser utilizados en alimentos heterogéneos como barrera entre los componentes.
- Su costo es generalmente bajo.

2.3 Función de la película comestible

Kester y Fennema (1986) mencionan que las películas comestibles no están diseñadas con la finalidad de reemplazar los materiales de empaques sintéticos ni a las películas no comestibles; dicen que la importancia de las películas comestibles recae en la capacidad de actuar como un conjunto para mejorar la calidad del alimento en general y extender el tiempo de vida de anaquel.

En muchas aplicaciones de alimentos, su propósito es el de inhibir o reducir la migración de la humedad, oxígeno, dióxido de carbono, aromas, lípidos, pigmentos, etc.; servir como vehículo para aditivos alimentarios (antioxidantes, antimicrobianos, saborizantes, colorantes); y/o mejorar la integridad mecánica o característica de manejo del alimento en cuestión (Debeaufort y Quezada-Gallo, 1998).

Las películas comestibles están diseñadas para funcionar como una barrera contra la humedad, el oxígeno, sabor, aroma y/o aceite, mejorando así la calidad de los alimentos y la vida útil. Una película comestible también puede proporcionar alguna protección mecánica lo que reduce las magulladuras y roturas, mejorando así la integridad de los alimentos, por ende, la calidad y la vida útil de los alimentos se incrementan (Krochta, 2002).

A las películas en la mayoría de los casos se le denomina aditivos ya que no proveen un valor nutricional significativo al alimento, por otro lado, si de alguna forma incrementan el valor nutricional del alimento pueden ser clasificadas como ingredientes (Debeaufort y Quezada-Gallo, 1998).

2.4 Componentes de las películas

Los materiales para la formación de películas comestibles (PC) caen generalmente en las categorías de proteínas, polisacáridos y lípidos. A menudo hay que añadir un plastificante para reducir la fragilidad de la película, un agente es necesario para ayudar a la formación de película o recubrimiento. Otros

componentes pueden incluir antioxidantes y antimicrobianos para mejorar la efectividad de la película o recubrimiento (Baldwin, 1999).

Krochta (et al., 1994) clasifican a los componentes de las películas alimenticias en tres categorías: lípidos, hidrocoloides y mezclas. Los hidrocoloides incluyen proteínas, derivados de celulosa, alginatos, pectinas, almidones y otros polisacáridos. Del tipo de componente dependerán las propiedades de cada película. Dentro de estos componentes se encuentran las proteínas, las cuales desde hace años han sido utilizadas en la formación de películas biodegradables o recubrimientos digeribles para alimentos, debido a sus características funcionales como su capacidad formadora de películas, sus propiedades estabilizantes, origen renovable, buenas propiedades mecánicas y de barrera al oxígeno y aromas, a humedades relativas medias o bajas (Pereda et al., 2010).

a) Polisacáridos

En general, debido a su naturaleza hidrofílica, las películas que tienen como base a polisacáridos generalmente exhiben limitada permeabilidad al vapor de agua. No obstante, ciertos polisacáridos aplicados en forma de cobertura gelatinosa con alta humedad pueden retardar la pérdida de humedad en los alimentos. Dentro del grupo de los polisacáridos que pueden ser empleados en el desarrollo de empaques comestibles se encuentran: almidón, carragenina, agar, alginatos, y éteres de celulosa (Gennadios et al., 1997; Solís-Rivera, 2003).

Los recubrimientos y películas comestibles elaboradas a partir de polisacáridos se han aplicado con éxito para prolongar la calidad de la carne fresca, congelada y cocida, a pesar de que la mayoría de ellos no evitan por completo la pérdida de humedad. Los recubrimientos de geles de alginatos, solos o en combinación con almidón, reducen el encogimiento, la pérdida por goteo y la aparición de aromas indeseables en productos crudos y cocidos, mejorando el color y la textura (Gennadios et al., 1997).

b) Lípidos

Generalmente las coberturas elaboradas a partir de ceras han mostrado ser más resistentes al transporte de la humedad que otras películas elaboradas con lípidos o con otros compuestos. Sin embargo, las películas o recubrimientos elaboradas con ceras presentan problemas de control de homogeneidad, grosor, superficie grasienta y ruptura, además de sabor a cera y rancidez (Callegarin et al.,1997).

Los lípidos se emplean como una barrera al vapor de agua por sus características hidrofóbicas. En carne y productos cárnicos es fundamental prevenir la pérdida de humedad y la oxidación, y se han empleado monoacilglicéridos con varios grados de acetilación para mantener el color y la calidad general de la carne de res, cerdo y pollo en refrigeración o congelación, pero después de un almacenamiento prolongado la cobertura tiene que fragmentarse y aparecen sabores ácidos y amargos (García et al., 2000).

c) Proteínas

Al igual que los polisacáridos, las películas elaboradas a partir de proteínas presentan alta permeabilidad al vapor de agua, de dos a o cuatro veces más que empaques plásticos tales como el propileno, polietileno, poliéster y el PVC. Pero también, son susceptibles al ataque de enzimas proteolíticas presentes en la carne y productos cárnicos. Las proteínas que pueden ser empleadas en la elaboración de películas comestibles son: colágena, gelatina, proteínas de la leche, proteínas derivadas de los cereales, proteínas de soya (Gennadios et al., 1997).

Las películas y recubrimientos elaborados con proteínas se combinan con agentes plastificantes como glicerol o sorbitol. Al igual que los recubrimientos de polisacáridos tienen una permeabilidad alta al vapor de agua debido a su carácter hidrófilo Wu (et al., 2000) reportaron que recubrimiento de proteínas de gluten y soya fueron más efectivas que las películas plásticas para evitar la oxidación en productos cocidos.

2.4.1 Películas compuestas

Las coberturas compuestas presentan mejores características, éstas se componen de emulsiones simples de polisacáridos, proteínas y lípidos. El principal objetivo de los recubrimientos multicomponentes consiste en combinar las propiedades individuales de cada componente para mejorar el valor nutricional, las características de permeabilidad, fuerza, flexibilidad y funcionalidad. Existen películas comestibles que se comercializan y se emplean como fundas en la elaboración de productos cárnicos pasteurizados e incluso crudos. Dado que las películas compuestas o multicomponentes líquidas involucran una fase dispersa lipofílica (construida por grasas, ceras, agentes tensoactivos de carácter lipofílico o mezclas de ellos) es conveniente utilizar como material estructural un compuesto hidrofílico con actividad superficial adecuada para formar una emulsión del tipo aceite en agua estable; de allí que se utilicen como agentes estructurales a proteínas y polisacáridos (Michaca, 2004).

2.5 Película de proteína

Las películas de proteínas poseen mayor resistencia al vapor de agua que el resto de los hidrocoloides solubles en agua, son susceptibles al cambio de pH, pueden proporcionar un valor nutricional agregado al producto, son buenas formadoras de películas y se adhieren a superficies hidrofílicas (Baldwin et al., 1995).

Según Baldwin (et al.,1995), las fuentes más comunes de proteína para la elaboración de películas son caseína, zeína, soya, albúmina de huevo, lacto albúmina, suero de leche, gluten de trigo y colágeno. De entre todas estas sobresale la zeína ya que por sus propiedades actúa como barrera a la humedad, restringe el transporte de oxígeno y sirve como vehículo para los antioxidantes (Guilbert, 1986).

Las películas de proteína otorgan un brillo a productos recubiertos, pero sólo la zeína de maíz, ofrece un alto brillo aparente que iguala o incluso supera a los recubrimientos a base de resina (Weller et al., 1998).

Las estructuras secundarias, terciarias y cuaternarias de las proteínas se pueden modificar por diversos agentes físicos y químicos, como el calor, el tratamiento mecánico, presión, irradiación, interfaces de lípidos, ácidos y álcalis, y los iones metálicos. Tales agentes se utilizan a menudo en la formación de películas de proteínas y recubrimientos para optimizar la configuración de la proteína, modificando interacciones en las proteínas dando como resultado mejores propiedades de la película (Cheftel et al., 1985).

Se ha ampliado las fuentes de proteínas exitosamente para elaboración de películas comestibles se han obtenido tanto de fuentes animales como vegetales (ver Cuadro 1).

Cuadro 1 Clasificación de las principales fuentes de proteínas para la elaboración de películas comestibles.

Animal	Vegetal
Colágeno	Zeína de maíz
Proteína miofibrilar del pescado	Kafirina de sorgo
Queratina	Gluten de trigo
Gelatina	Proteína de salvado de arroz
Caseína	Proteína de soja
Proteína de suero	Proteína de maní
Proteína de clara de huevo	Proteína de semilla de algodón

Krochta, 2002.

2.6 Plastificante en películas de proteína

Las películas de proteínas son a menudo rígidas y quebradizas debido a las interacciones en las cadenas de proteínas a través de enlaces de hidrógeno, fuerzas electrostáticas, unión hidrófoba y/o puentes de disulfuro. Los plastificantes hidrófilicos de peso molecular relativamente pequeño se agregan a menudo, ya que compiten principalmente por la unión de hidrógeno y las interacciones electrostáticas con las cadenas de proteínas. El resultado de la adición de un plastificante es una reducción en las interacciones cadena-cadena en la proteína, un descenso de la temperatura de transición vítrea de proteína, y una mejora en la

flexibilidad de la película. Además, el alargamiento de la película (elasticidad o ductilidad) aumenta, sin embargo, la resistencia de esta disminuye. Desafortunadamente, los plastificantes generalmente también disminuyen la capacidad de la película para actuar como una barrera a la humedad, el oxígeno, el aroma y aceites. Los plastificantes aceptables y usados generalmente para películas comestibles de proteínas incluyen glicerol, propilenglicol, sorbitol, sacarosa, polietilenglicol, ácidos grasos, y monoglicéridos (Krochta, 2002).

El glicerol se caracteriza por tres grupos hidroxilo ($-OH$) y una estructura asimétrica; por consiguiente, las interacciones con las cadenas polipeptídicas llegan a ser complejas, dando lugar a una red poco ordenada. Esto tiene su efecto en el comportamiento mecánico (Gueguen et al., 1998). Debido a que el glicerol es un 1,2,3-propanotriol sirve para unir cadenas y permite obtener estructuras más uniformes (Brady y Holum, 1988).

2.7 Propiedades de la película de zeína

La zeína es uno de los componentes proteicos del maíz, el cual se ha estudiado para emplearlo de diferentes maneras. Es un material único y complejo, y es una de las proteínas del maíz que se extrae en una forma relativamente pura (Lawton, 2002).

En su forma pura la zeína es un polvo de color blanco, sin olor ni sabor, y amorfo; sin embargo, las presentaciones comerciales presentan un color amarillo y un sabor suave (Fu et al., 1999).

Se cree que la alta proporción de aminoácidos no polares y la falta de grupos iónicos son los responsables de su naturaleza hidrofóbica y de sus características únicas de solubilidad. Su naturaleza hidrofóbica se debe a la presencia de grandes cantidades de aminoácidos hidrofóbicos tales como la leucina, la prolina, la alanina, y la fenilalanina, razón por la cual es soluble en etanol acuoso y en los solventes orgánicos polares como el propilenglicol y ácido acético (Fu et al., 1999; Padua y Wang, 2002).

Los recubrimiento y películas comestibles elaboradas a partir de zeína tienen un compuesto hidrofílico con actividad superficial adecuada para formar una emulsión del tipo aceite en agua. En la formulación de dicha película se debe encontrar un balance apropiado entre los ingredientes para que éstas puedan desarrollar su funcionalidad adecuada (Michaca, 2004).

Las zeínas tienen propiedades de barrera de humedad, lo que le permite su uso como protector de alimentos (dulces, nueces y frutas secas) y como cubierta para tabletas farmacéuticas (Larkins et al., 1984; Coleman y Larkins, 1999).

Krochta (2002) resalta las características que presentan este tipo de películas, que se deben a las propiedades de las proteínas:

- Propiedades de barrera

La permeabilidad define la diferencia de presión parcial entre las fases adyacentes a los dos lados de la película. El carácter polar de la proteína determina las propiedades de barrera de las películas. Así las películas de proteínas polares tienen una alta permeabilidad a las sustancias polares, tales como vapor de agua, y baja permeabilidad a las sustancias no polares, tales como oxígeno, aromas, y aceites. La permeabilidad de las películas de proteína para ambas sustancias polares y no polares aumenta con el contenido de plastificante y humedad relativa (RH).

El reto es seleccionar las condiciones de proteína, plastificante, y de formación de la película que optimizan las propiedades de barrera, mientras que adicionalmente se logran propiedades deseables, tales como flexibilidad de la película, fuerza, y la solubilidad.

La falta de conocimientos y datos sobre películas comestibles, en general, todavía impide el diseño de películas comestibles a las especificaciones deseadas. Es importante tener en cuenta que el contenido de plastificante (tipo y cantidad) y condiciones atmosféricas (temperatura y humedad relativa) tienen efectos importantes sobre las propiedades de película. Al aumentar la cantidad de

plastificante, la temperatura y RH generalmente aumenta la permeabilidad. Por lo tanto, las propiedades de película deben ser comparadas en pruebas con condiciones idénticas.

- Permeabilidad al vapor de agua

Las películas de proteínas tienen alta permeabilidad al vapor de agua (WVP) en comparación con ceras comestibles como el polietileno de baja densidad (LDPE) que se utilizan a menudo como recubrimientos de barrera a la humedad en las frutas, verduras, dulces y fármacos. Los valores de WVP en una película de proteína son de dos a cuatro órdenes de mayor magnitud que la de LDPE. Las proteínas solubles en etanol acuoso como zeína de maíz, gluten de trigo y proteína miofibrilar de pescado también parecen formar películas que tienen el WVP más baja de las proteínas y son comparables a la WVP de derivados celulosa.

- Permeabilidad al oxígeno

A baja o a intermedia RH, las películas de proteínas tienen valores de permeabilidad al oxígeno (OP) que son inferiores a las de los polietilenos (que no son buenas barreras de oxígeno), comparables a los de barreras de oxígeno como poliésteres, y acercándose a los de las mejores barreras de oxígeno: copolímero de etileno de vinil alcohol (EVOH) y cloruro de polivinilideno (PVDC). Las películas de proteínas también parecen tener OP algo menor que las películas a base de celulosa. También muestra el efecto de aumentar la RH provocando un aumento de OP en películas de proteína, que es similar al efecto de RH en el EVOH que es un excelente sintético de barrera al oxígeno. La baja OP en películas de proteínas las hacen útiles para el revestimiento y bolsas para productos sensibles al oxígeno.

- Permeabilidad al aroma y aceite

La investigación que se ha hecho sobre la cuantificación de las permeabilidades al aroma es limitada. Sin embargo, los resultados mostraron que la película de gluten de trigo era una mejor barrera a la 1-octen-3-ol (aroma de hongos) que el polietileno de baja densidad (LDPE) o película de metilcelulosa (Debeaufort y

Voilley, 1994). Otro resultado de la investigación mostró que la película de proteína de suero era mejor que la de copolímero de cloruro de vinilideno (co-VDC) y era comparable a la de copolímero de etileno de vinil alcohol (co-EVOH) película útil como una barrera para el limoneno (aroma cítrico) en condiciones similares (Miller y Krochta, 1998).

Del mismo modo, existen datos limitados sobre la permeabilidad de aceite en películas de proteínas. La zeína del maíz demostró tener una excelente resistencia al aceite, tanto como una película y como un revestimiento sobre papel (Trezza y Vergano, 1994). Estos resultados mostraron el potencial de envolturas en papel totalmente compastable y cajas para la industria alimenticia. El resultado de la investigación también mostró que la película de proteína de suero y revestimiento de proteína de suero en el papel proporcionan excelentes propiedades de barrera de aceite (De Mulder-Johnston, 1999).

2.8 Características de la zeína de maíz

La zeína es la prolamina del maíz, es un biopolímero comestible y estable, reconocido por su capacidad para formar películas (Padua y Guardiola, 2015).

Las prolaminas son las proteínas mayoritarias de almacenamiento en muchas de las semillas de cereales. En 1924 Osborne reconoció que las proteínas de semillas de cereales solubles en alcohol constituyen un grupo que forman parte de las proteínas de almacenamiento, y dio el nombre de prolaminas, el cual refleja sus altos contenidos de prolina y glutamina. Pero hoy se sabe que las proporciones de estos aminoácidos varían del 30 - 70% del total entre los diferentes cereales y grupos de proteínas (Huang et al., 2004, Shewry y Halford, 2002; Shewry y Tatham, 1990).

La zeína comprende del 50-60% de las proteínas contenidas en el endospermo del maíz, dependiendo de la variedad y el método de separación usado (Larkins, 1981; Hosney, 1994; Hamaker et al., 1995; Landry et al., 2000; Padua y Wang, 2002). Las zeínas pueden ser separadas por diferentes solubilidades (Esen, 1987, 1990).

Los cuerpos de zeína (tamaño aproximado 1 μm) están localizados y distribuidos uniformemente en todo el citoplasma las células del endospermo del grano de maíz entre los gránulos de almidón (tamaño aproximado de 5–10 μm) (Lending y Larkins, 1989).

La zeína está compuesta de polipéptidos que son fraccionados en cuatro subclases (α , β , γ y δ), cada subclase de zeínas posee diferentes características de acuerdo con su solubilidad, peso molecular, estructura y secuencia proteica (Larkins et al., 1984; Coleman y Larkins, 1999).

La α -zeína puede ser extraída con alcohol acuoso sin usar un agente reductor. Las prolaminas extraídas utilizando el método de Osborne son en su mayoría α -zeínas, estas son llamadas comúnmente “zeínas nativas”. (Thompson y Larkins, 1989).

La α -zeína (23.8-26.7 kDa) es la más abundante prolamina del maíz y representa el 80-85% del total de las zeínas, la β -zeína (17 kDa) y δ -zeína (10 kDa) son fracciones minoritarias, ambas son ricas en aminoácidos azufrados y comprenden el 10% del total de las zeínas. La γ -zeína es rica en cisteína y se subdivide en subtipos de acuerdo con su peso molecular: de 27 kDa y 16 kDa, juntas se encuentran del 10-15% del total de las zeínas (Esen, 1990; Huang et al., 2004; Parris y Dickey, 2001; Parris y Dickey, 2003; Shewry y Halford, 2002; Wang et al., 2003).

2.8.1 Extracción de la zeína

A Osborne fue al primero que se le reconoció una patente en Estados Unidos de América por la extracción de zeínas. Su método, fue usado para la extracción de zeína a nivel de laboratorio (Lawton, 2002). Así también encontramos otros investigadores que realizaron extracción de zeína como Dickey Dallmer (1998), Wallace et al., (1990), Parris y Dickey (2001) que, con su método realizó el fraccionamiento de la zeína. Pérez (2009), al cotejar metodologías de extracción de zeína, observó que al utilizar la de Parris y Dickey (2001), con variedades de maíz criollo de diferentes colores, se obtenía en la primera extracción una

pigmentación en el extracto junto con las fracciones minoritarias de zeína(β -, γ - y δ -), según el color del maíz utilizado.

2.9 Generalidades del maíz

El maíz es el cultivo más importante de México desde el punto de vista alimentario, económico y social. El nombre *maíz* proviene de las Antillas, en México los nahuas lo denominaban *centli* (mazorca) y *tlaolli* (grano) (Miramontes, 2012). Pertenece al reino plantae, clase angiosperma, subclase monocotiledónea, orden de los cereales y familia gramíneas (ver Cuadro 2).

Cuadro 2 Clasificación taxonómica del maíz

Reino	Plantae
Clase	Angiosperma
Subclase	Monocotiledónea
Orden	Cereales
Familia	Gramíneas (Gramineae)
Género y Especie	<i>Zea mays</i>

Miramontes, 2012.

El maíz es una planta anual alta. El desarrollo de la planta se puede dividir en dos fases fisiológicas. La primera fase es la vegetativa y consta de dos ciclos. En el primer ciclo se forman las primeras hojas y el desarrollo es ascendente; en el segundo ciclo se desarrollan las demás hojas y los órganos de reproducción, este ciclo acaba con la emisión de los estigmas (barbas o pelos del maíz). La segunda fase es la de reproducción, se inicia con la fertilización de las estructuras femeninas; en su etapa inicial ocurre el incremento de peso de las hojas y otras partes de la flor y en la etapa final los granos aumentan de peso (FAO, 1993).

El cultivo del maíz requiere para un óptimo desarrollo de una temperatura cálida, mucho sol para su buen crecimiento, además bastante agua (alrededor de cinco milímetros diarios) (SIAP, 2016).

Debido a su productividad y adaptabilidad, el cultivo del maíz se ha extendido rápidamente a lo largo de todo el planeta, es uno de los granos que mayor

demanda tiene y juega un papel importante en la economía de varios países (Ortega y Ochoa, 2003). La migración del maíz explica la gran diversidad de razas, variedades, colores y tamaños, así como su capacidad para adaptarse a diferentes climas y condiciones (PRONASE, 1994).

Los granos de maíz se desarrollan mediante la acumulación de los productos de la fotosíntesis y la absorción de nutrientes a través de las raíces. Están constituidos por cuatro estructuras físicas fundamentales: pericarpio (cáscara o salvado), endospermo, germen (embrión) y piloriza (tejido inerte en que se une el grano con la espiga u olote) (FAO, 1993). En el Cuadro 3 podemos observar las partes principales del grano de maíz y su distribución.

Cuadro 3 Distribución de las principales partes del grano de maíz

Estructura	Distribución
Pericarpio	5 - 6 %
Endospermo	80 – 85 %
Germen	10 - 12 %
Piloriza	2 – 3 %

FAO, 1993.

El pericarpio, cáscara o salvado se caracteriza por un elevado contenido de fibra cruda constituida principalmente por hemicelulosa y celulosa. La función principal de esta estructura es formar una red que contenga y proteja a las otras estructuras de grano.

El endospermo proporciona los nutrientes para el germinado de la semilla hasta que en la nueva planta se tenga suficiente área de hoja para ser autótrofa. Esta estructura posee alto contenido de almidón y proteínas. También en esta parte del grano, la distribución del contenido de agua produce dos morfologías diferentes pues el líquido se concentra más en la parte interna y en la parte cercana al pericarpio presenta menor contenido de agua.

El germen o embrión es la estructura a partir de la que va a desarrollarse una nueva planta. Se caracteriza por su elevado contenido de grasas, proteínas y minerales.

La piloriza es una estructura cónica de tejido inerte que une el grano y el carozo (en México comúnmente llamado olote). Está constituido principalmente de celulosa y hemicelulosa, entre otros carbohidratos complejos (Benítez y Pfeiffer, 2006). En la Figura 1 se puede observar la estructura de un grano de maíz y las partes que lo conforman.

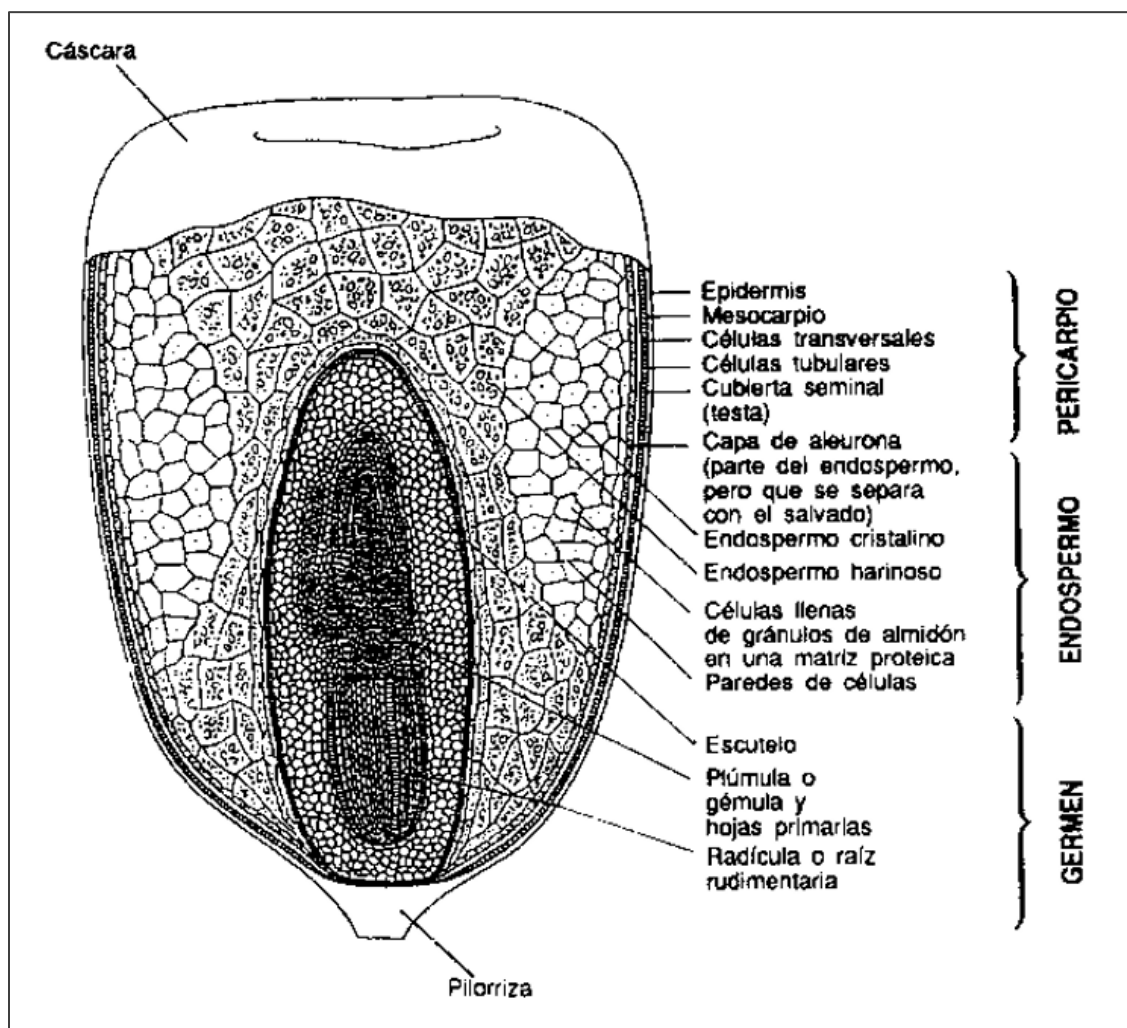


Figura 1 Estructura del grano de maíz.

2.9.1 Maíz criollo azul

Las características de la planta y el grano en las variedades de maíz azul son muy diversas. El maíz criollo azul es un cereal harinoso que generalmente tiene de ocho a doce hileras de grano con endospermo suave sin abolladuras ni arrugas (Betrán et al., 2001).

En el grano de maíz criollo azul, la capa de aleurona contiene pigmentos de antocianina que le dan el color azul. Los granos pequeños a medianos producen los productos de color azul más oscuro porque los granos más pequeños tienen una mayor proporción de capa de aleurona (a veces la pigmentación puede ser tan intensa que los granos de maíz parecen color negro) (Betrán et al., 2001). De las antocianinas del maíz también se pueden derivar pigmentos naturales que pueden ser aprovechados como colorantes de vinos, mermeladas y jugos de fruta (Maltros et al., 1999).

2.9.2 Antocianinas

Los colores azul-púrpura típicos del maíz azul se lo confieren unos pigmentos hidrosolubles conocidos como antocianinas (que es su principal colorante) y a compuestos fenólicos. Dichos compuestos provocan que la especie de maíz azul adquiera propiedades antioxidantes además de tener propiedades funcionales y bioactivas (Serratos, 2009).

Las antocianinas son compuestos cromóforos solubles en agua que poseen propiedades químicas relacionadas con la reducción del colesterol y triglicéridos del torrente sanguíneo, por lo que ayudan a reducir las afecciones cardíacas (Maltros et al., 1999).

Las antocianinas pertenecen al grupo de los flavonoides y son glucósidos de las antocianidinas, es decir, están constituidas por una molécula de antocianidina (aglicona), a la que se le une un azúcar por medio de un enlace glucosídico (Wong, 1995). La estructura química básica de las agliconas es el ion flavilio, llamado también 2-fenil-benzopirilio que consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio y un anillo fenólico (Wong, 1995; Badui, 1999).

De todas las antocianidinas que actualmente se conocen las más importantes son la pelargonidina, la delphinidina, la cianidina, la petunidina, la peonidina y la malvidina, nombres que derivan de la fuente vegetal de donde se aislaron por primera vez; la combinación de éstas con los diferentes azúcares genera aproximadamente 150 antocianinas. Los hidratos de carbono que comúnmente se encuentran en las antocianinas son la glucosa y la ramnosa, seguidos de la galactosa, la xilosa y la arabinosa (Badui,1999). Las antocianinas presentes en el maíz azul se derivan de la cianidina (Salinas et al., 1999).

2.10 Técnicas para análisis y evaluación de películas proteicas

Se pueden utilizar diferentes técnicas para hacer el análisis de una película de proteína, estos son de gran utilidad para saber sus características físicas y su composición. A continuación, se mencionan algunas de estas técnicas:

- **Espectroscopía FT-IR**

Espectroscopía de infrarrojo (IR) es una técnica para caracterización estructural de polímeros basada en vibraciones de átomos y grupos funcionales en las moléculas a causa de su interacción con la radiación emitida en la región infrarroja del espectro electromagnético. La Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR) se utiliza con el objetivo de analizar los enlaces que existen entre la matriz polimérica y nanopartículas; mide la absorción del infrarrojo del material de la muestra respecto al ancho de onda de la radiación (Arrieta et al., 2009).

- **Espectroscopía Raman**

La Espectroscopía Raman es una técnica fotónica de alta resolución que proporciona información química y estructural de casi cualquier material permitiendo su identificación. Se basa en el examen de la luz dispersada por un material al incidir sobre este un haz de luz monocromático, una pequeña porción de la luz es dispersada inelásticamente experimentando ligeros cambios de frecuencia que son característicos del material analizado e independientes de la frecuencia de la luz incidente. Se trata de una técnica de análisis que se realiza directamente sobre el material a analizar sin necesitar la muestra ningún tipo de

preparación especial y que no conlleva ninguna alteración de la superficie sobre la que se realiza el análisis (técnica no destructiva) (Pérez-Pueyo, s.f.).

- Microscopía

Aunque existen diferentes técnicas de microscopía, la integridad estructural de las películas de zeína se puede observar bajo un microscopio óptico como lo sugieren en su trabajo Rakotonirainy (et al., 2001) sobre películas de zeína en brócoli fresco.

III. JUSTIFICACIÓN

El incremento del interés en alimentos de alta calidad con mayor vida útil y un menor impacto a nivel ambiental ha llevado al estudio y desarrollo de películas comestibles. Las proteínas se han aplicado desde hace años en la formulación de películas para alimentos aprovechando sus propiedades funcionales, que ayudan a ampliar la vida de anaquel, mejorando su aspecto y por lo tanto la calidad del producto.

Un ejemplo de proteína utilizada con éxito en la producción de películas es la zeína (principal proteína del maíz). En este estudio se pretende obtener películas a base de las subunidades minoritarias de zeína (β -, γ - y δ -) que debido al tipo de fraccionamiento a que es sometida la zeína contienen la pigmentación de las variedades de maíces criollos, y así, obtener películas que otorguen características de protección que visualmente serán atractivas al consumidor.

IV. OBJETIVOS

Para que esta investigación se lleve a cabo se plantean los objetivos siguientes:

4.1 Objetivo general

Como punto de partida el objetivo general es:

- Elaborar películas a partir de las fracciones minoritarias de zeína de maíz criollo azul.

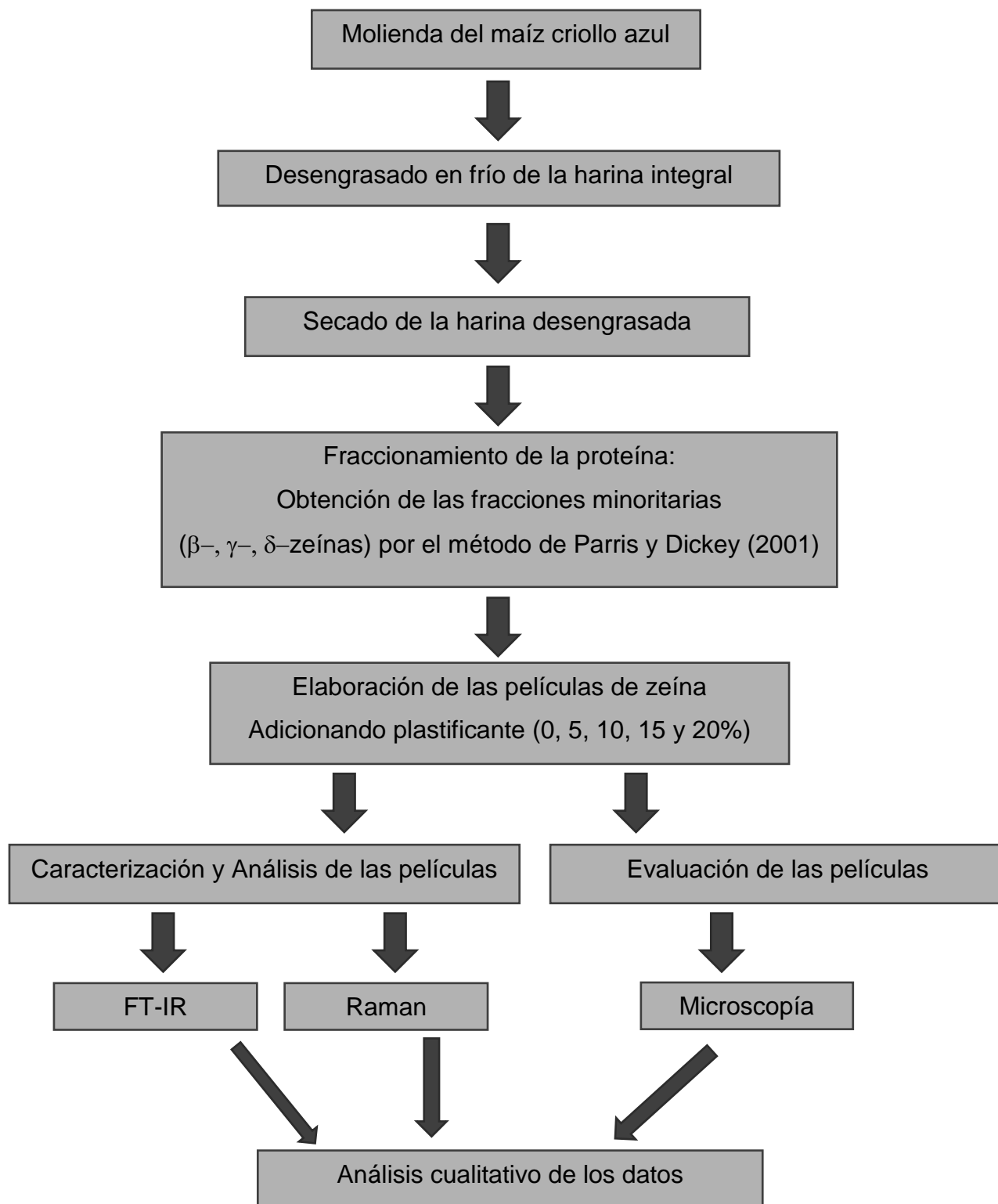
4.2 Objetivos particulares

Los objetivos específicos para la investigación son:

- Obtener las fracciones minoritarias de zeína (β -, γ - y δ -) a partir de maíz criollo azul por el método de Parris y Dickey (2001).
- Elaborar películas a base de las fracciones minoritarias de zeína (β -, γ - y δ -) a diferentes concentraciones de plastificante.
- Elaborar películas control a partir de zeína comercial a diferentes concentraciones de plastificante.
- Caracterizar las películas mediante espectroscopía FT-IR.
- Analizar las películas mediante espectroscopía Raman.
- Evaluar las características de las películas por microscopía.

V. DIAGRAMA DE TRABAJO

El presente diagrama de trabajo permite de una manera objetiva observar el desglose de las actividades desarrolladas.



VI. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Material

- Material de laboratorio, necesario para las diferentes determinaciones.
Matraces Erlenmeyer, agitadores magnéticos, vasos de precipitados, probetas, micropipetas, placas Petri, termómetro, parrilla de calentamiento, balanza analítica, molino, mortero y pistilo.
- Reactivos de grado analítico y/o alimenticio necesarios para cada determinación.
Éter de petróleo, SDS, 2-propanol, 2-mercaptoetanol, etanol al 96%, etanol al 60%, glicerol y zeína comercial.
- Materia prima para extracción de la zeína de las fracciones minoritarias.
Maíz criollo azul.
- Equipos de laboratorio adecuados para realizar las diferentes determinaciones.

6.2 Métodos

Los métodos utilizados para este experimento se muestran en el Cuadro 4, donde también se pueden observar sus determinaciones correspondientes.

Cuadro 4 Métodos y referencias para realizar las determinaciones.

Determinación	Método	Referencia
Extracción de las fracciones minoritarias de las zeínas	Solubilidad diferencial	Parris y Dickey, 2001
Elaboración de las películas de zeína	Vaciado en placa	Trezza y Krochta, 2000
Caracterización estructural de las películas de zeína	FT-IR	Arrieta et al., 2009
Análisis estructural de las películas de zeína	Raman	Pérez-Pueyo., s.f.
Uniformidad estructural de las películas de zeína	Microscopía	Rakotonirainy et al., 2001

VII. METODOLOGÍA

7.1 Obtención de la harina integral

A partir de los granos de maíz, mediante la pulverización de la muestra en seco con un molino, se obtuvo harina de maíz. Luego, para el desengrasado en frío de la harina se utilizó éter de petróleo en una proporción de 2:1 por molienda, manteniendo la agitación durante 24 horas.

Después, el secado de la harina desengrasada se realizó por precipitación de 24 horas, decantando el éter de petróleo y dejando secar por otras 24 horas a temperatura ambiente

7.2 Extracción de las fracciones proteicas por solubilización diferencial

Con base en la solubilidad diferencial se realizó la extracción y el fraccionamiento de zeínas, de acuerdo con el método descrito por Parris y Dickey (2001); adicionando SDS (dodecilsulfato de sodio) como agente desnaturizante.

La extracción se efectuó con el siguiente procedimiento:

- 1) A 2 g de la harina obtenida del maíz, se le agregaron 20 mL de 2-propanol (2-PrOH) al 60% con 2-mercaptoetanol (2BME) al 1% y SDS al 1%.
- 2) La mezcla se agitó por 12 horas a temperatura ambiente, se dejó precipitar a 4° C durante 24 horas.
- 3) Se separó el sobrenadante en el que se encontraba la zeína y se le agregaron tres volúmenes de 2-prOH, posteriormente, se dejó toda la noche a 4° C.
- 4) De esta manera, se obtuvo un precipitado en donde se encontraron las fracciones de zeína β -, γ - y δ -, debido a que estas no son solubles en concentraciones mayores de 95% de alcohol (Parris y Dickey, 2001).

7.3 Elaboración de las películas

La elaboración de las películas se realizó por un método de dispersión continua o vaciado en placa (*casting*). En un matraz se prepararon soluciones proteína-

disolvente (p/v) del polvo de fracciones de zeína suspendiéndolas en etanol al 96% (conocida como zeína comercial); o al 60% (la zeína de las fracciones minoritarias). Homogeneizadas por agitación para disolver a la proteína se agregó el plastificante para obtener las siguientes proporciones: 0%, 5%, 10%, 15% y 20%, de glicerol, a las soluciones proteínicas; el cual se calentó hasta alcanzar 40° C con agitación constante durante diez minutos en baño de agua (o “baño María”).

Finalmente, cada solución se colocó sobre sustratos para eliminar el disolvente por evaporación de acuerdo con Trezza y Krochta (2000). En la Figura 2 se muestra esquemáticamente el proceso realizado para la elaboración de las películas de zeína.



Figura 2 Elaboración de películas de zeína.

Se realizaron cuatro diferentes grupos de películas a partir de la proteína del maíz (zeína): las películas control (dos grupos) formadas a partir de zeína comercial y las películas a partir de las fracciones minoritarias de zeína de maíz criollo azul, de las cuales un grupo de películas fueron puras y las otras fueron una combinación de ambas zeínas (comercial y de maíz criollo azul). En el Cuadro 5 se muestra a detalle cada grupo de películas y su formulación.

Cuadro 5 Formulación de las películas de zeína.

Proporción de zeína	Proporción de glicerol	Disolvente	Película			
			X	X'	X''	X:
0.500 g (100%)	0 µL (0%)	10 mL	A	A'	A''	A:
0.475 g (95%)	25 µL (5%)	10 mL	D	D'	D''	D:
0.450 g (90%)	50 µL (10%)	10 mL	B	B'	B''	B:
0.425 g (85%)	75 µL (15%)	10 mL	E	E'	E''	E:
0.400 g (80%)	100 µL (20%)	10 mL	C	C'	C''	C:

Disolvente alcohol etílico al 96% y alcohol etílico al 60% de acuerdo con características de solubilidad de la zeína utilizada en cada película.

- Películas de fracciones minoritarias de zeína de maíz criollo azul: **X**
- Películas de zeína comercial: **X'**
- Películas de zeína comercial, vertidas a baño maría: **X''**
- Películas de zeína mixta (comercial y maíz criollo azul), vertidas a baño maría: **X:**

7.4 Caracterización por FT-IR de las películas de proteína de zeína

Para el análisis del espectro Infrarrojo por Transformada de Fourier (FT-IR) se empleó un equipo *Digilab Excalibur Series* modelo FTS 3000MX del Departamento de Química Analítica dentro de la Facultad de Ciencias Químicas de la BUAP y un *software Digilab Merlin 3.3* para la obtención y procesamiento de los datos. El rango de análisis fue de 4000-400 cm^{-1} y en unidades de transmitancia. Las muestras de las películas de zeína se prepararon por trituración hasta pulverizarlas y se montaron sobre una pastilla de Bromuro de potasio (KBr) para introducir las al equipo.

7.5 Análisis por Espectroscopía Raman de las películas de zeína

En el laboratorio de micro Raman del IFUAP (Instituto de Física) se realizó un análisis a las diferentes películas obtenidas en el equipo Horiba LabRam HR que presenta las siguientes características técnicas: un láser de He-Ne (632.8 nm), resoluciones máximas espacial y espectral de 6 μm y 0.5 cm^{-1} , respectivamente, un detector CCD (*Charge Coupled Device* por sus siglas del inglés) enfriado

termoeléctricamente, un microscopio óptico (10, 50 y 100x) y una videocámara para enfoque.

Las mediciones de los diferentes grupos de películas de zeína se efectuaron en el objetivo 10x, la posición del silicio 522.4 y el intervalo de análisis 200-3000 cm^{-1} ; además para los grupos de películas **X** y **X**: se utilizó un filtro 0.2. Las muestras no requirieron de una preparación especial para este análisis.

7.6 Evaluación de las características de las películas por microscopía

Por microscopía óptica se evaluó a las características de las películas de zeína en un microscopio óptico Miotic RED220 con el objetivo 10x y una cámara de 8 megapíxeles para captura de las imágenes.

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Obtención de zeína de maíz criollo azul

A partir de 60g de maíz criollo azul, se obtuvieron 5.3641g de zeína correspondiente a la mezcla de las fracciones minoritarias (β -, γ - y δ -) por el método de Parris y Dickey (2001), teniendo un rendimiento de extracción de la proteína del 8.94%. En la Figura 3 se observa la apariencia final de la zeína extraída.



Figura 3 β -, γ - y δ -Zeína de maíz criollo azul.

Para la obtención de zeína mixta (comercial y de maíz criollo azul) se utilizaron 1.250g de la zeína extraída del maíz criollo azul y 1.250g de zeína comercial (Figura 4), mezclándose en mortero para que quedara uniformemente distribuida. En la Figura 5 se muestra la zeína mixta lograda.



Figura 4 Zeína comercial.



Figura 5 Zeína mixta (comercial y maíz criollo azul).

La extracción de las fracciones de zeína de maíz criollo azul, se realizó por solubilización diferencial, Pérez (2009) siguiendo el método de Parris y Dickey (2001) en maíz criollo azul y realizando una electroforesis, encontró que las fracciones minoritarias de zeína (β -, γ - y δ -) se encuentran en el extracto, en la Figura # se muestra dicho corrimiento electroforético.

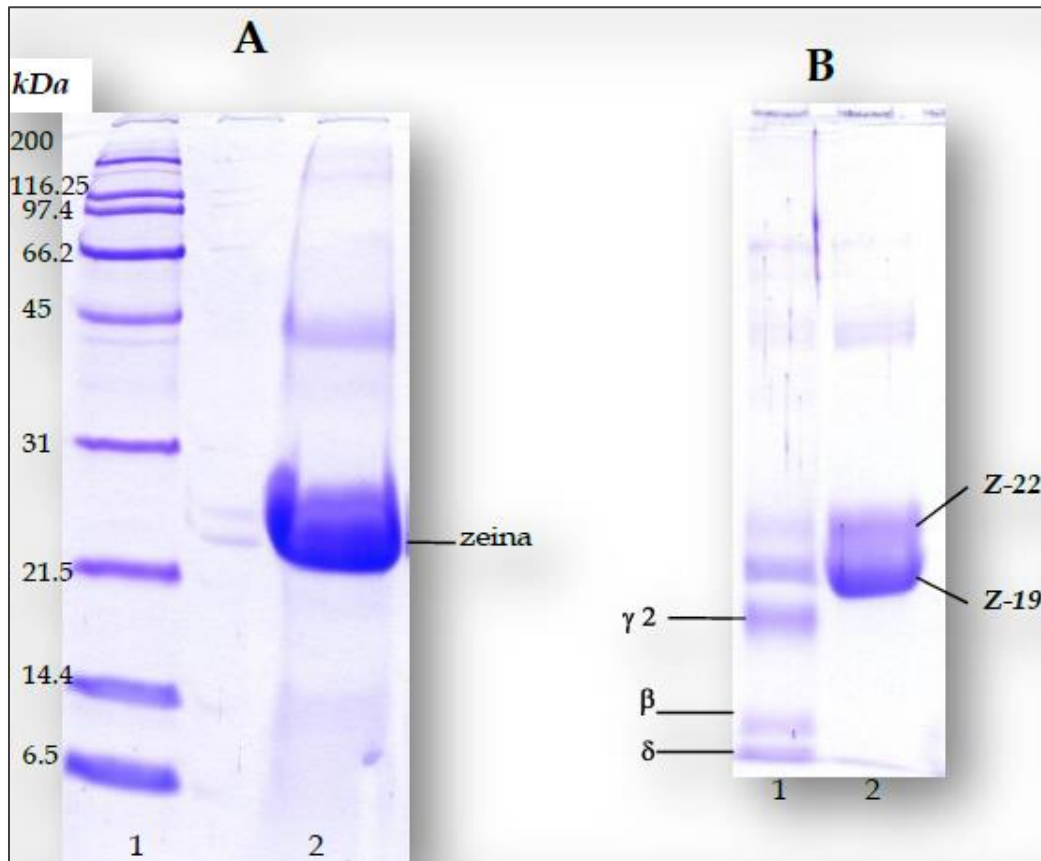


Figura 6 Electroforesis SDS-PAGE de zeína comercial; extraída por el método de Parris y Dickey (2001). (A) Carril 2, zeína comercial sin tratamiento. (B) Zeína fraccionada: Carril 1, γ -, β -, δ - zeínas, Carril 2, α -zeína (Z-19 y Z-22)

Pérez, 2009.

8.2 Elaboración de películas de zeína a diferentes concentraciones de plastificante

Después de la formación de películas de zeína estas se revisaron visualmente.

8.2.1 Películas de zeína de maíz criollo azul: X

Las películas se elaboraron siguiendo las proporciones indicadas en el Cuadro 5, con etanol al 60% como disolvente, en el Cuadro 6 se describen sus características físicas observadas visualmente.

Cuadro 6 Características físicas observadas visualmente de las películas de zeína de maíz criollo azul: X

Películas de zeína de maíz criollo azul: X				
A	B	C	D	E
Color morado, superficie rugosa, altamente adherentes a la placa, muy delgadas.	Color morado, superficie muy grumosa, altamente adherentes a la placa, delgadas.	Color morado, superficie muy grumosa, altamente adherentes a la placa, delgadas.	Color morado, superficie grumosa, altamente adherentes a la placa, delgadas.	Color morado, superficie grumosa, altamente adherentes a la placa, delgadas.

En la Figura 7 se pueden observar las películas de zeína de maíz criollo azul **A** (0% glicerol), **B** (10% glicerol), **C** (20% glicerol), **D** (5% glicerol) y **E** (15% glicerol) con las características mencionadas en el Cuadro 6.

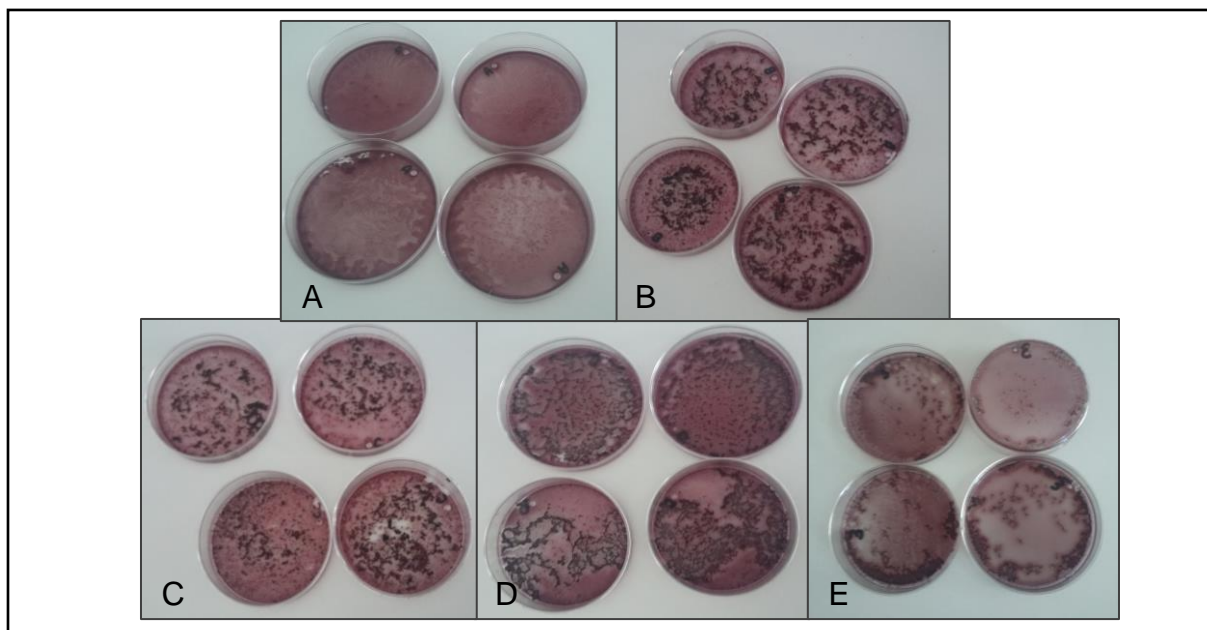


Figura 7 Películas de zeína de maíz criollo azul: X

8.2.2 Películas de zeína comercial: X'

Las películas se elaboraron siguiendo las proporciones indicadas en el Cuadro 5, con etanol al 96% como disolvente, en el Cuadro 7 se describen sus características físicas observadas visualmente.

Cuadro 7 Características físicas observadas visualmente de películas de zeína comercial:

X'

Películas de zeína comercial: X'				
A'	B'	C'	D'	E'
Color amarillo crema, delgadas, quebradizas, superficie semi-rugosa, desprendibles de la placa.	Color amarillo crema, delgadas, quebradizas, superficie lisa con algunos grumos, desprendibles de la placa.	Color amarillo crema, delgadas, quebradizas, superficie lisa con algunos grumos, desprendibles de la placa.	Color amarillo crema, muy delgadas, apariencia rugosa, superficie lisa, frágiles, desprendibles de la placa.	Color amarillo crema, muy delgadas, superficie lisa, frágiles y quebradizas, desprendibles de la placa.

En la Figuras 8 se pueden observar las películas de zeína de maíz criollo azul **A'** (0% glicerol), **B'** (10% glicerol), **C'** (20% glicerol), **D'** (5% glicerol) y **E'** (15% glicerol) con las características mencionadas en el Cuadro 7.

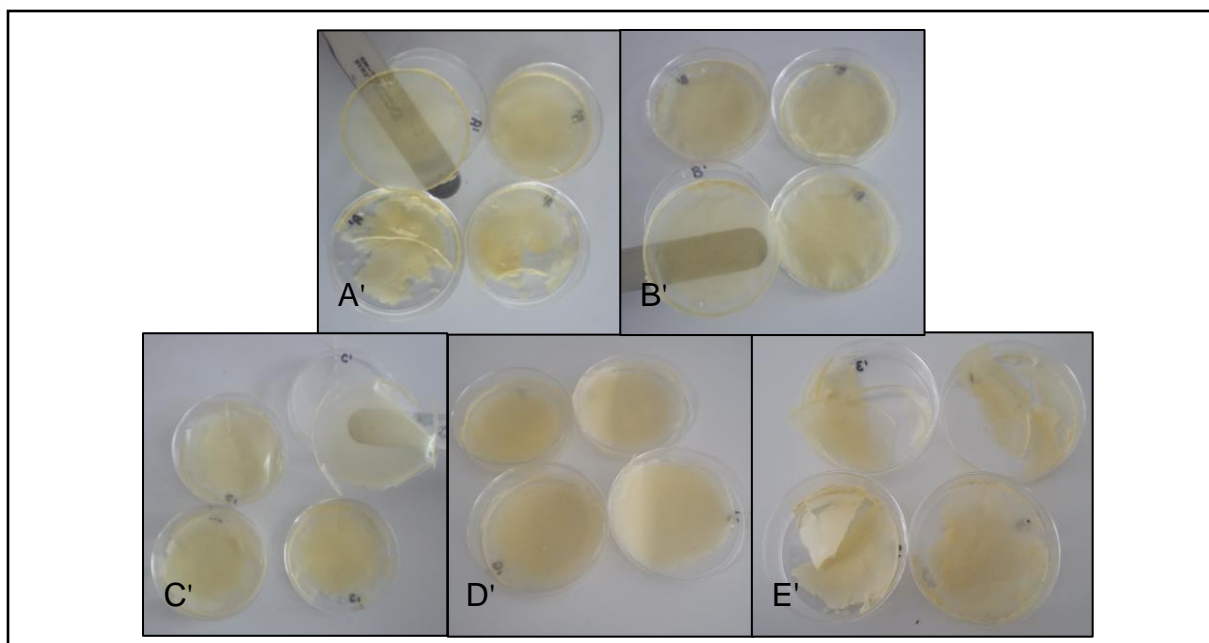


Figura 8 Películas de zeína comercial: X'

8.2.3 Películas de zeína comercial, vertidas a baño maría: X''

Las películas se elaboraron siguiendo las proporciones indicadas en el Cuadro 5, con etanol al 60% como disolvente, además al verter en las placas estas fueron sobre un baño maría, en el Cuadro 8 se describen sus características físicas observadas visualmente.

Cuadro 8 Características físicas observadas visualmente de películas de zeína comercial, vertidas a baño maría: X''

Películas de zeína comercial, vertidas a baño maría: X''				
A''	B''	C''	D''	E''
Color amarillo paja, no quebradizas, flexibles, textura lisa, delgadas, fácil desprendimiento de la placa.	Color amarillo paja, no muy quebradizas, textura lisa, flexibles, delgadas, fácil desprendimiento de la placa	Color amarillo paja, de poco a nada quebradizas, textura lisa, delgadas flexibles, fácil desprendimiento de la placa.	Color amarillo paja, textura lisa, delgadas, un poco duras pero flexibles, desprendibles de la placa.	Color amarillo paja, textura lisa, delgadas, flexibles, se desprenden de la placa.

En la Figura 9 se pueden observar las películas de zeína de maíz criollo azul A'' (0% glicerol), B'' (10% glicerol), C'' (20% glicerol), D'' (5% glicerol) y E'' (15% glicerol) con las características mencionadas en el Cuadro 8.

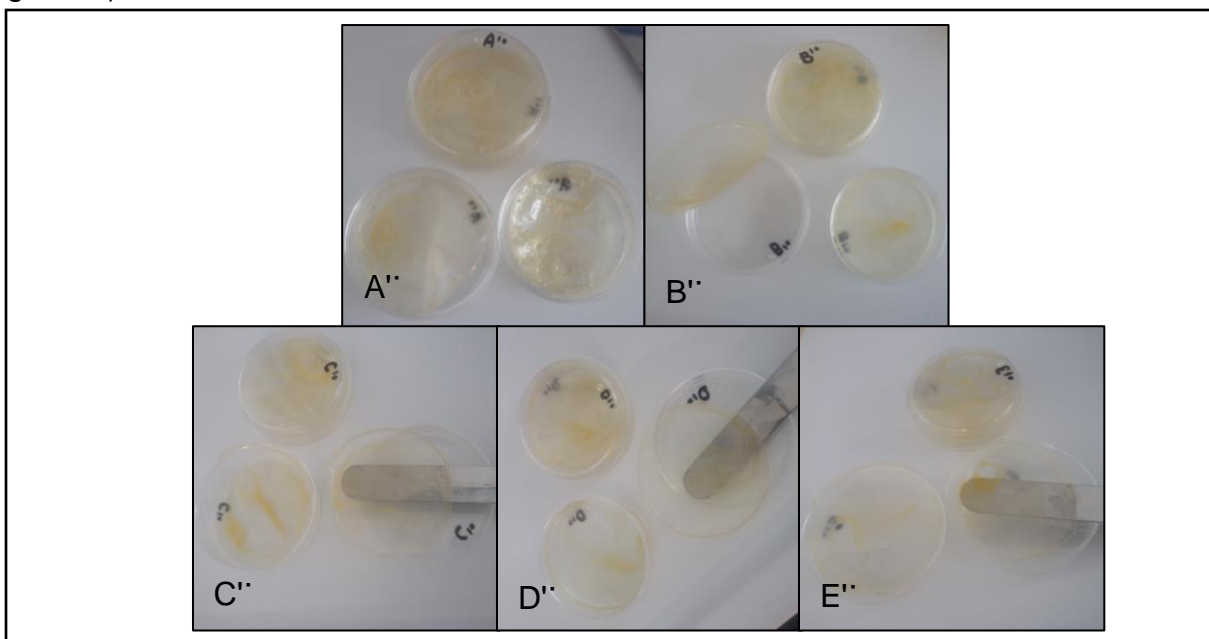


Figura 9 Películas de zeína comercial, vertidas a baño maría: X''

8.2.4 Películas de zeína mixta (comercial y maíz criollo azul), vertidas a baño maría: X:

Las películas se elaboraron siguiendo las proporciones indicadas en el Cuadro 5, con etanol al 60% como disolvente, además al verter en las placas estas fueron sobre un baño maría, en el Cuadro 9 se describen sus características físicas observadas visualmente.

Cuadro 9 Características físicas observadas visualmente de películas de zeína mixta (comercial y maíz criollo azul), vertidas a baño maría: X:

Películas de zeína mixta (comercial y maíz criollo azul), vertidas a baño maría: X:				
A:	B:	C:	D:	E:
Color morado, delgadas, quebradizas, aspecto poco grumoso, altamente adherentes a la placa.	Color violeta, delgadas, quebradizas, grumosas, no totalmente uniformes, ligeramente húmedas, altamente adherentes a la placa	Color violeta, delgadas, aspecto húmedo, no uniformes, algo grumosas, adherentes a la placa.	Color violeta, delgadas, frágiles y quebradizas, grumosas, aspecto seco, altamente adherentes a la placa.	Color violeta, delgadas, aspecto seco, muy frágiles, quebradizas y rígidas, altamente adherentes a la placa.

En la Figura 10 se pueden observar las películas de zeína de maíz criollo azul **A:** (0% glicerol), **B:** (10% glicerol), **C:** (20% glicerol), **D:** (5% glicerol) y **E:** (15% glicerol) con las características mencionadas en el Cuadro 9.

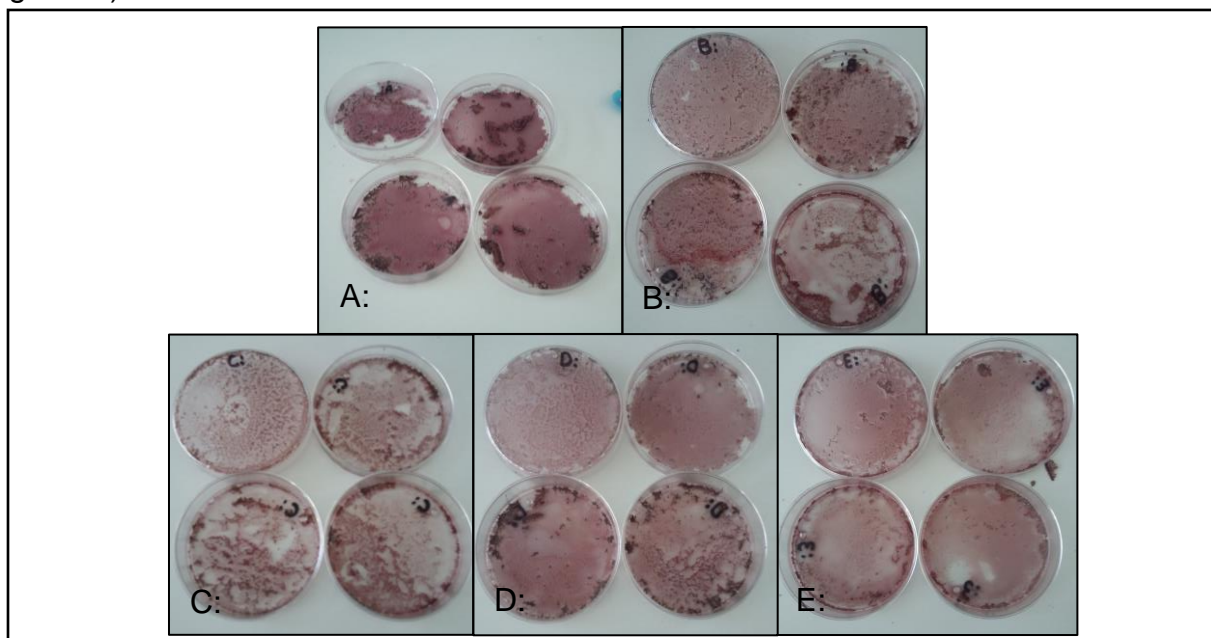


Figura 10 Películas de zeína mixta: X:

8.3 Caracterización por FT-IR de las películas

La caracterización de las películas se realizó por grupos mediante espectroscopía FT-IR y se obtuvieron los siguientes espectros (Figuras 11-30):

- Películas de fracciones minoritarias de zeína de maíz criollo azul: **X**

A

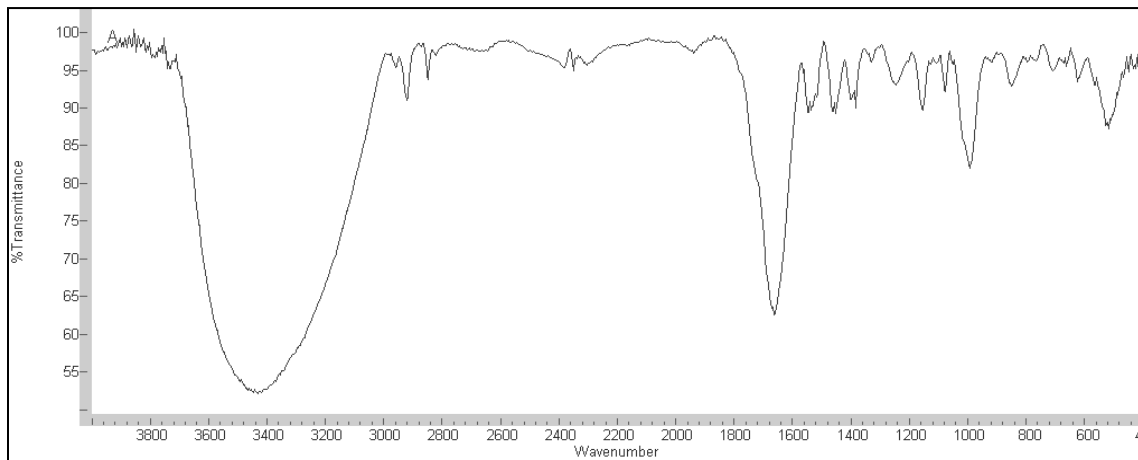


Figura 11 Espectro FT-IR película A

B

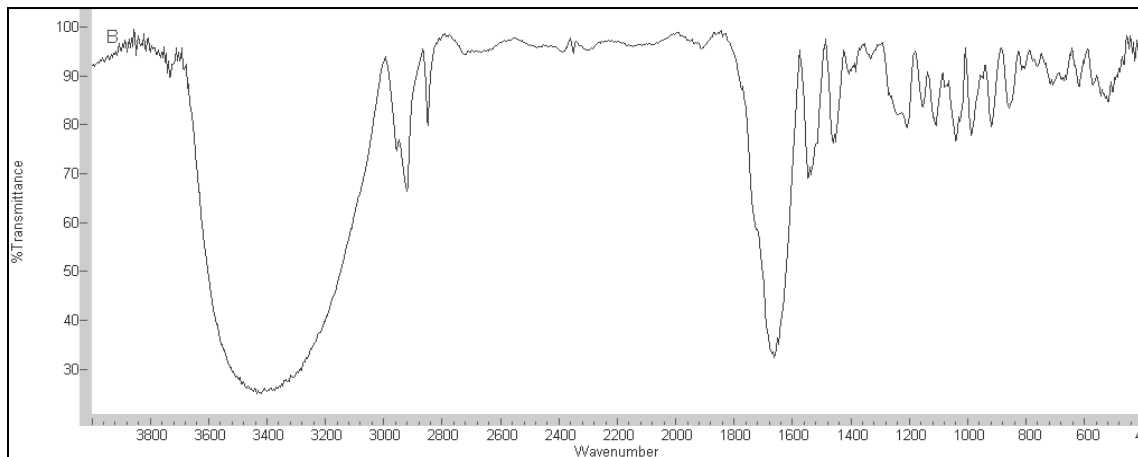


Figura 12 Espectro FT-IR película B

C

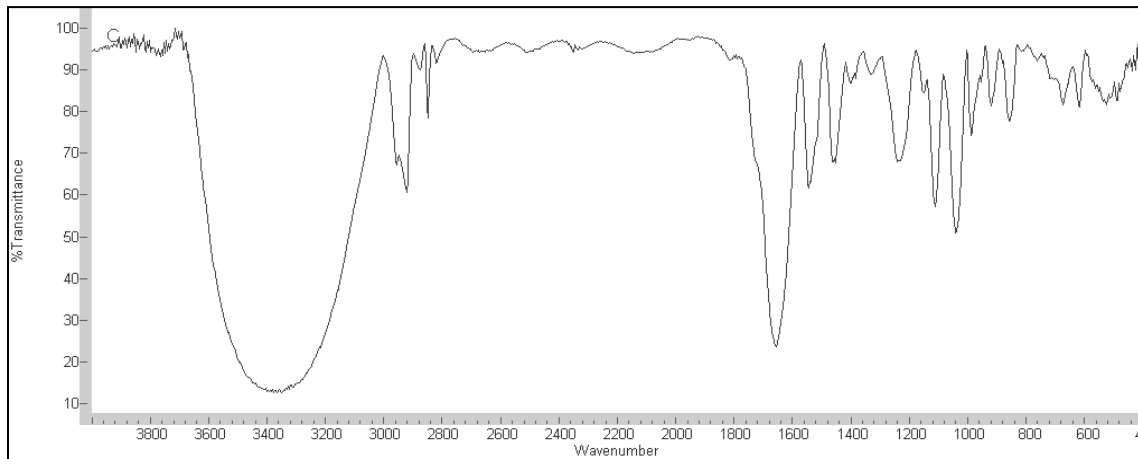


Figura 13 Espectro FT-IR película C

D

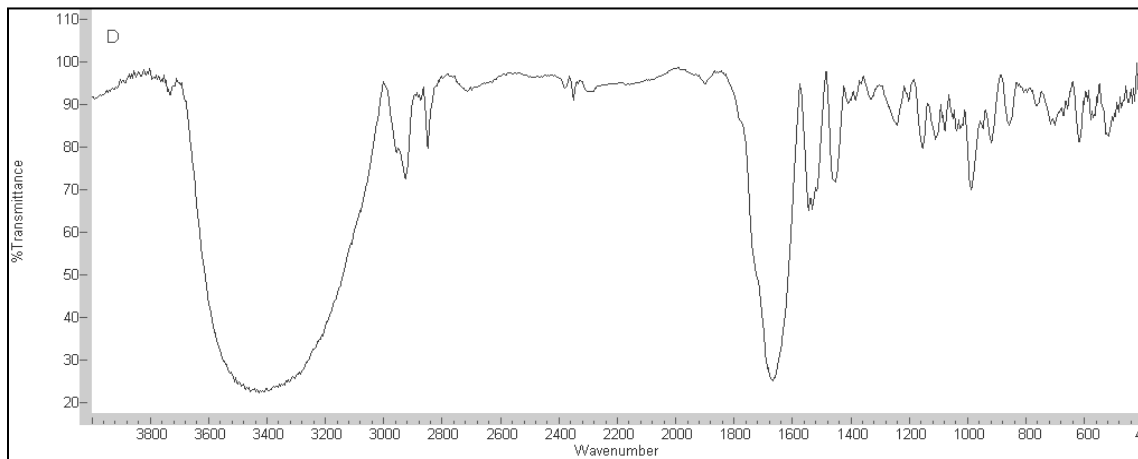


Figura 14 Espectro FT-IR película D

E

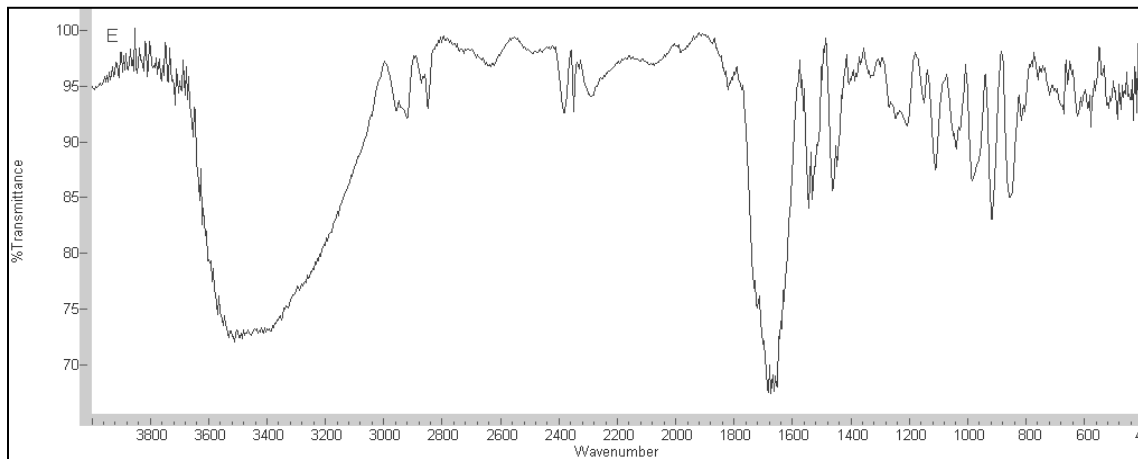


Figura 15 Espectro FT-IR película E

- Películas de zeína comercial: X'

A'

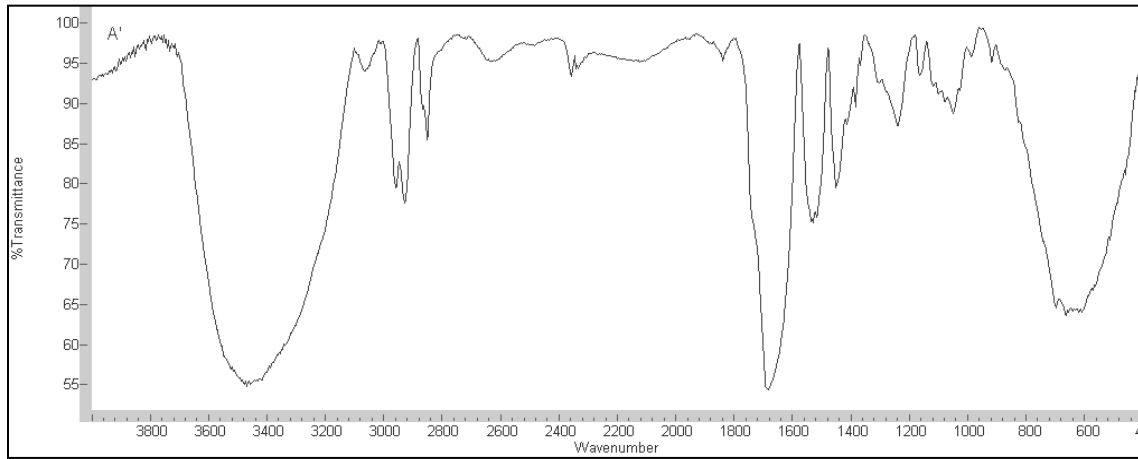


Figura 16 Espectro FT-IR película A'

B'

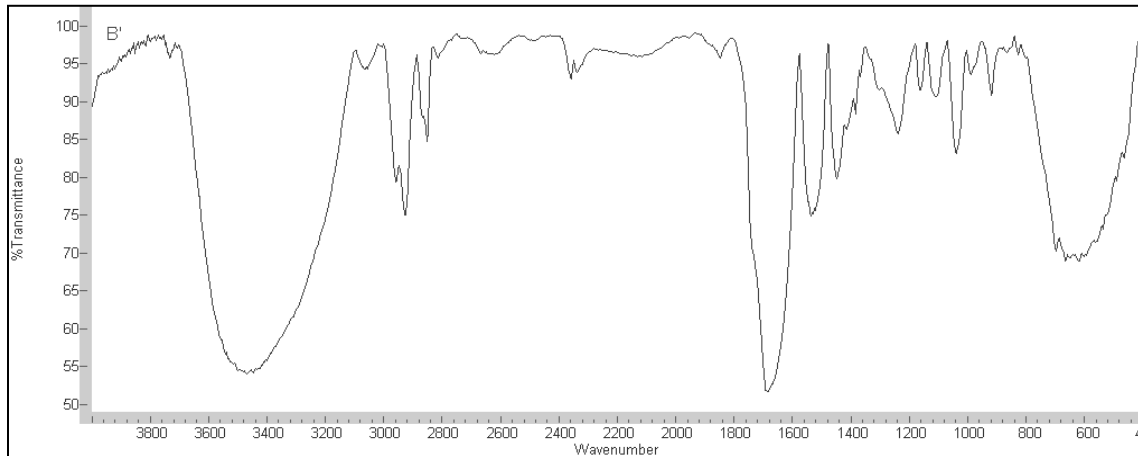


Figura 17 Espectro FT-IR película B'

C'

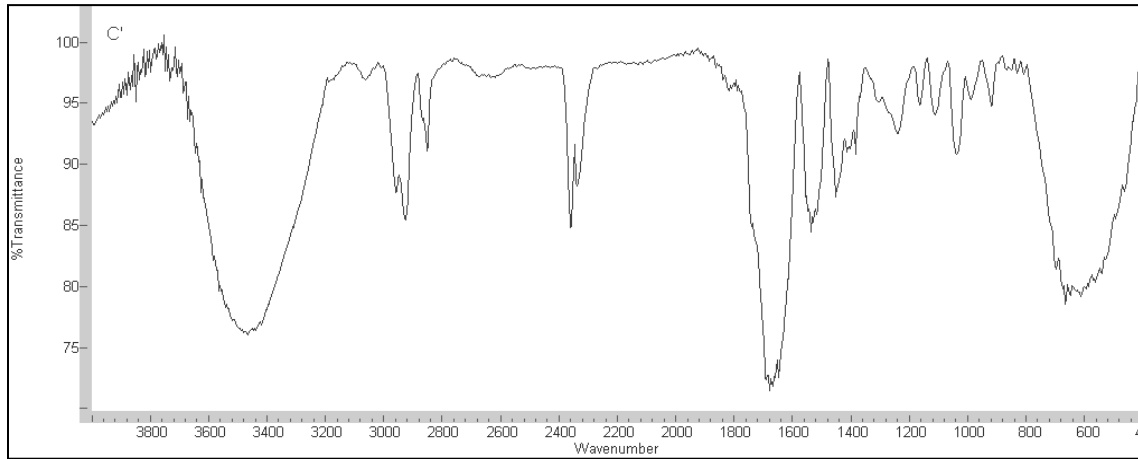


Figura 18 Espectro FT-IR película C'

D'

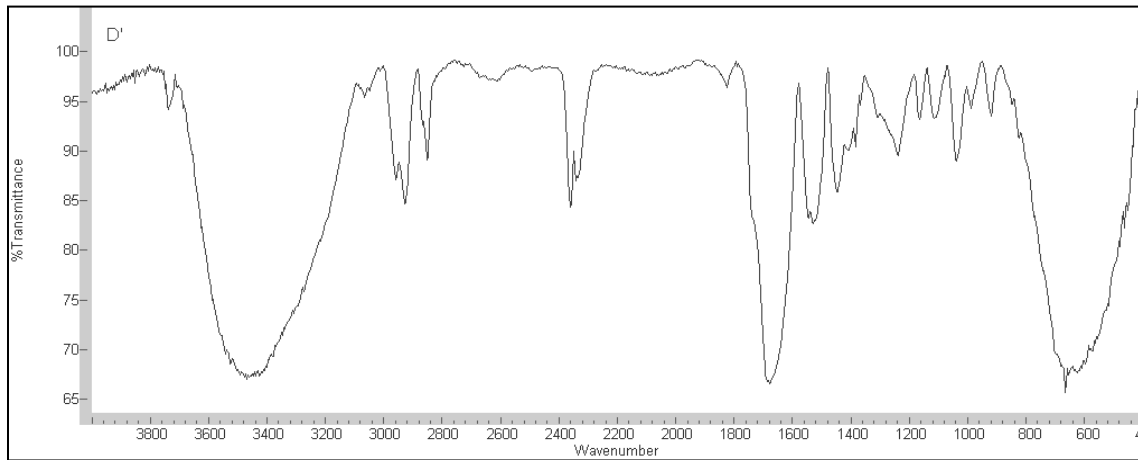


Figura 19 Espectro FT-IR película D'

E'

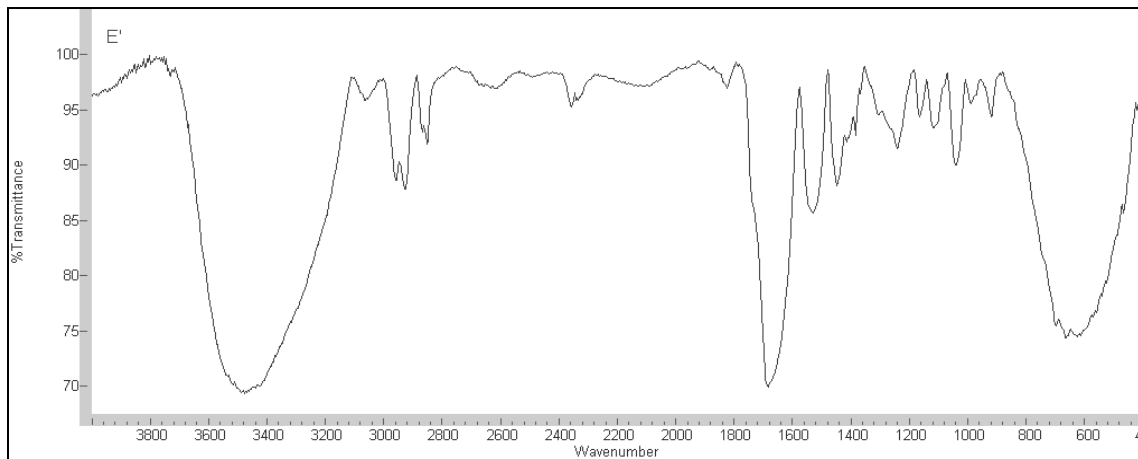


Figura 20 Espectro FT-IR película E'

- Películas de zeína comercial, vertidas a baño maría: **X''**

A''

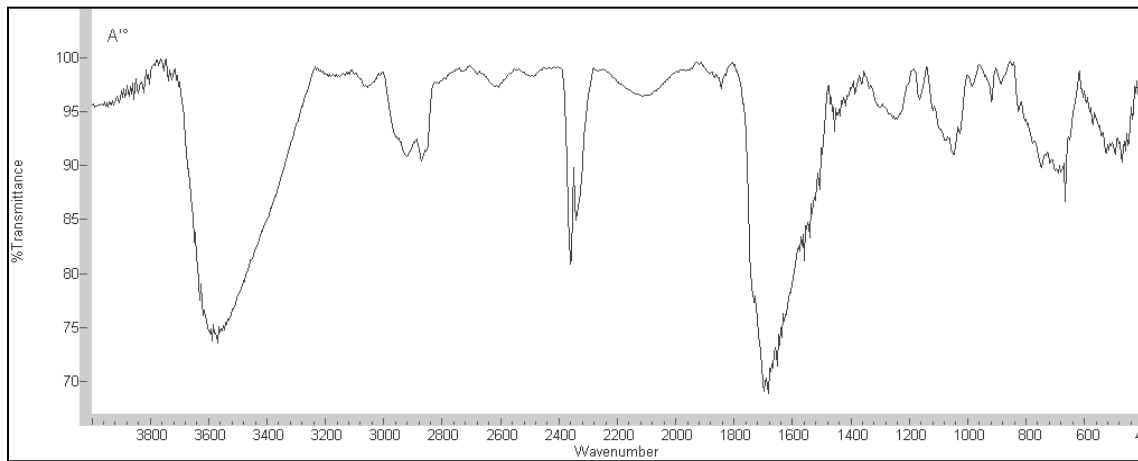


Figura 21 Espectro FT-IR película A''

B''

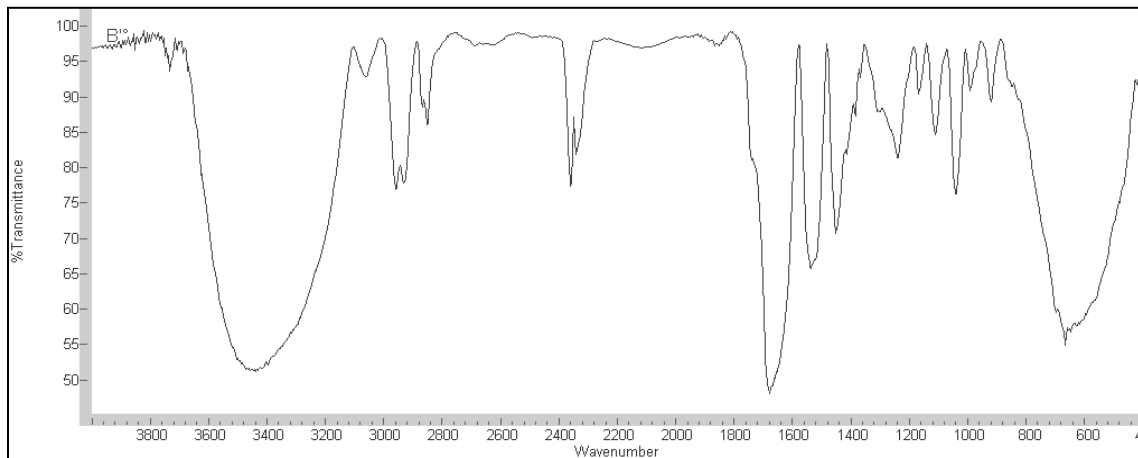


Figura 22 Espectro FT-IR película B''

C''

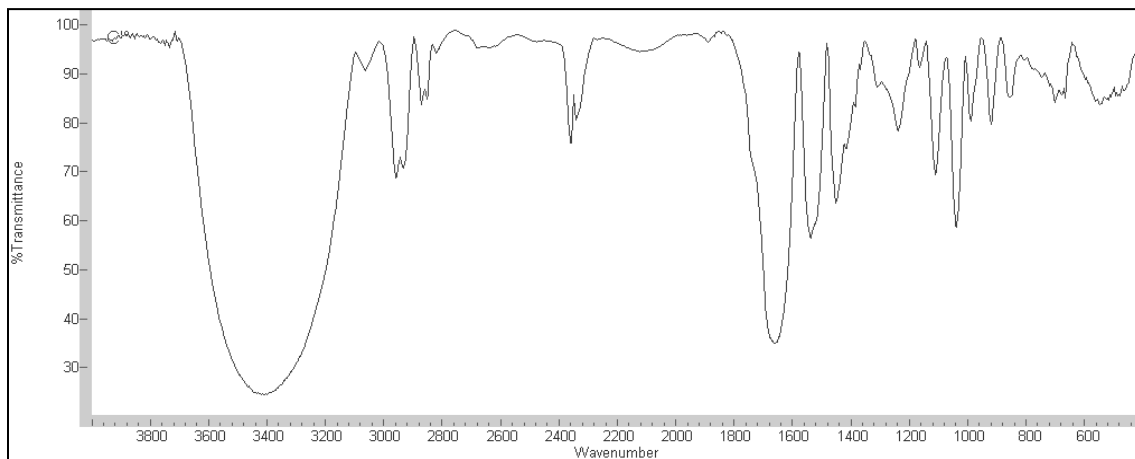


Figura 23 Espectro FT-IR película C''

D''

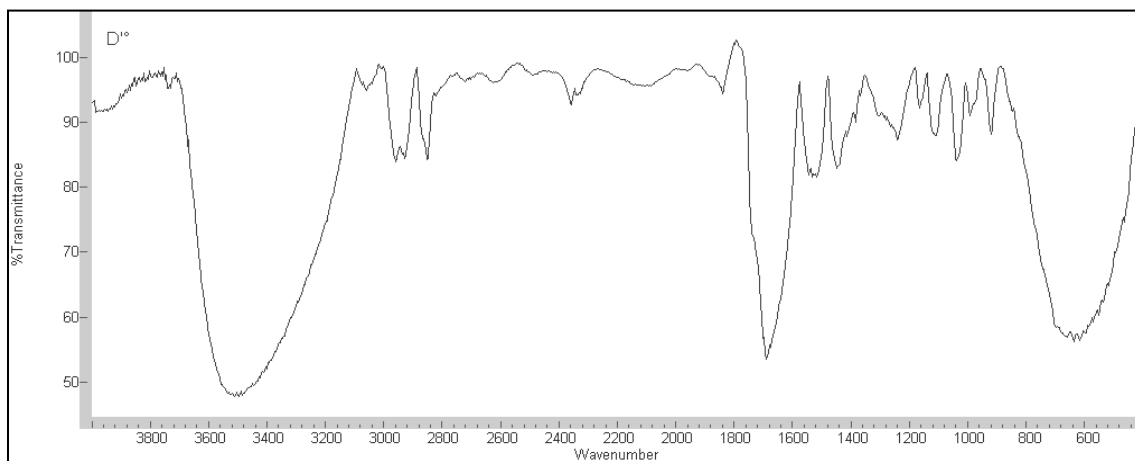


Figura 24 Espectro FT-IR película D''

E''

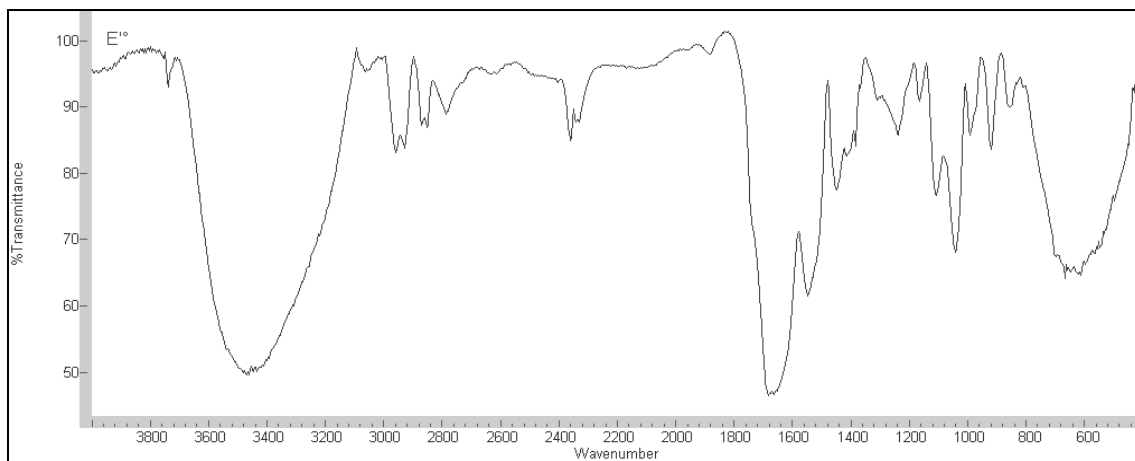


Figura 25 Espectro FT-IR película E''

- Películas de zeína mixta (comercial y maíz criollo azul), vertidas a baño maría: **X**:

A:

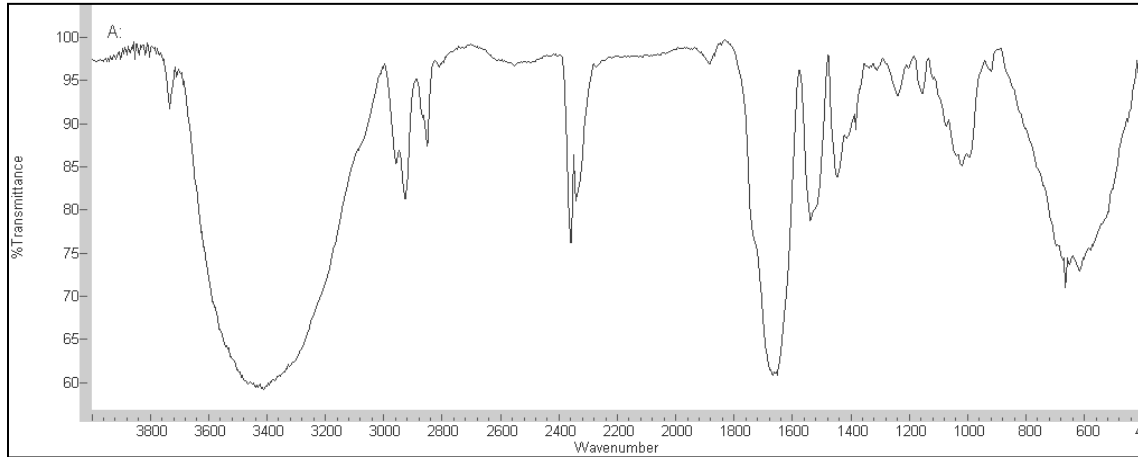


Figura 26 Espectro FT-IR película A:

B:

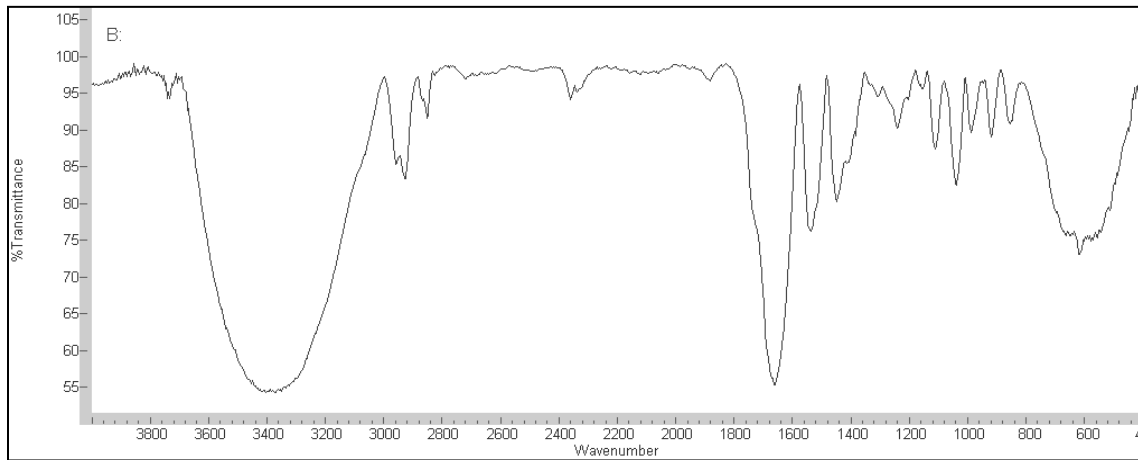


Figura 27 Espectro FT-IR película B:

C:

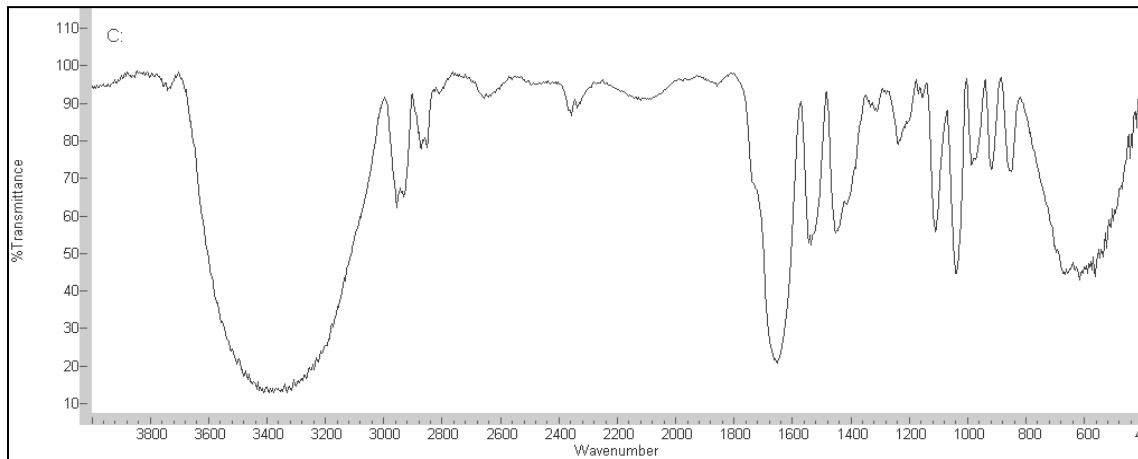


Figura 28 Espectro FT-IR película C:

D:

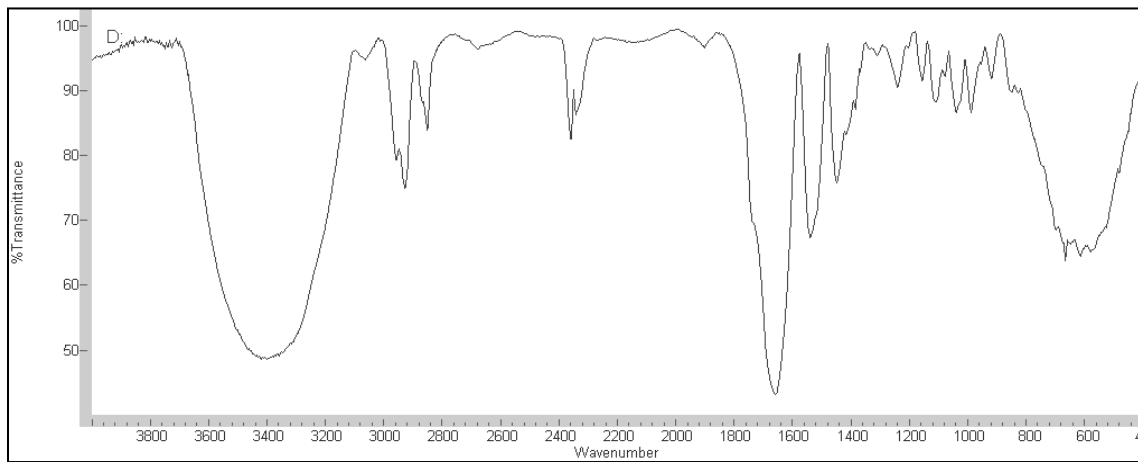


Figura 29 Espectro FT-IR película D:

E:

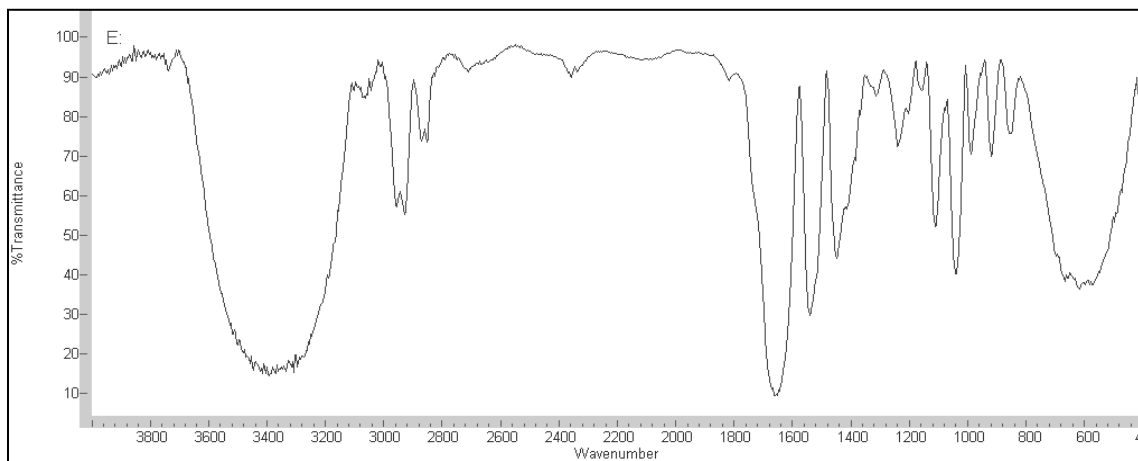


Figura 30 Espectro FT-IR película E:

Los espectros FT-IR mostrados anteriormente muestran un patrón similar en los picos obtenidos, en las películas obtenidas a partir de las fracciones minoritarias de zeína de maíz criollo azul (películas de fracciones β -, γ -, δ -zeínas y películas mixtas) como para las películas de zeína comercial el plastificante se une de manera similar en todas. En este estudio se observan claramente definidos un pico ancho en la región cercana a 3400 cm^{-1} y un pico agudo en 1650 cm^{-1} aproximadamente en todos los espectros de las películas de zeína elaboradas, en algunos de los espectros aparece también, aunque no muy definido un pico en la región entre $1520\text{-}1560\text{ cm}^{-1}$.

De los picos observados, los de la región aproximada a 3400 cm^{-1} corresponden a enlaces O-H pues de acuerdo con Pretsch (et al., 1988) este tipo de enlaces aparecen en el espectro IR en la región comprendida entre $3200\text{ a }3600\text{ cm}^{-1}$.

De acuerdo con Yang (et al., 2017) la espectroscopía FT-IR se ha utilizado con frecuencia para investigar la estructura básica, la compatibilidad entre los componentes y las interacciones de segundo orden, como los enlaces de hidrógeno, las interacciones electrostáticas del material, ellos observaron dos picos agudos bien definidos a $1655\text{ y }1534\text{ cm}^{-1}$ para zeína, los cuales atribuyeron a la vibración de estiramiento de C=O de la amida primaria (primer pico), mientras que el último a la vibración de flexión N-H.

De los resultados anteriores, puede decirse que en las películas obtenidas existe la presencia de enlaces entre oxígeno e hidrógeno, y enlaces peptídicos ya que en el espectro FT-IR a estos últimos los identifica de manera similar a la estructura de amidas primarias.

8.4 Análisis por Espectroscopía Raman de las películas

Las películas se analizaron por espectroscopía Raman, los espectros obtenidos se muestran a continuación en las Figuras 31 a la 35, por concentración de glicerol utilizada para los diferentes grupos de películas elaboradas.

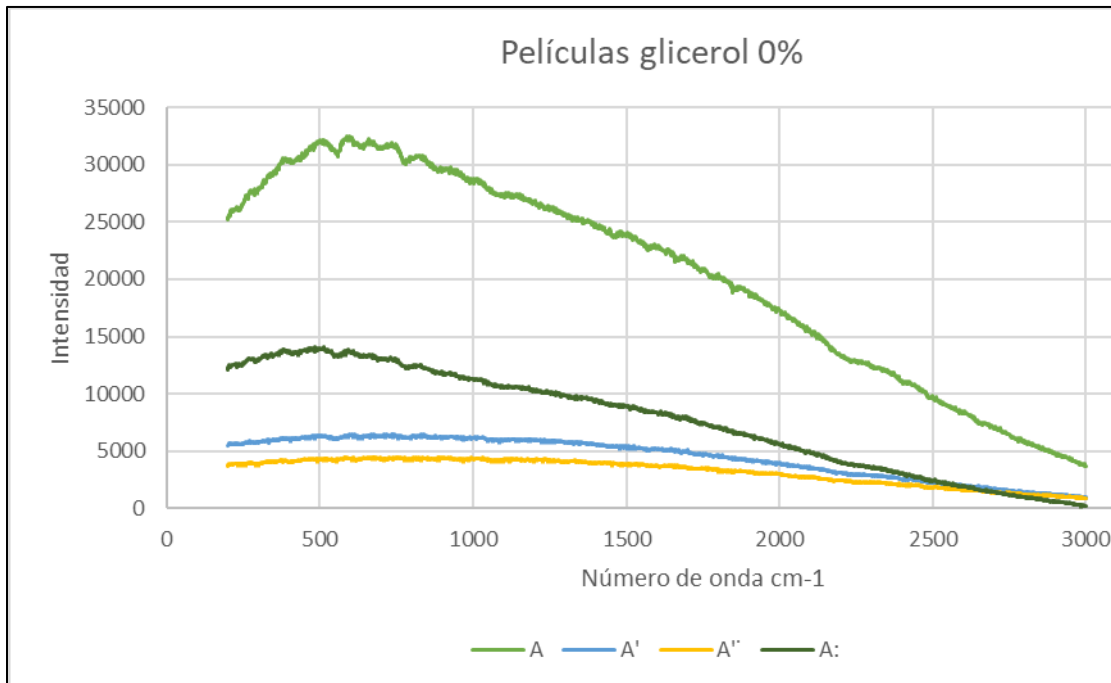


Figura 31 Espectros Raman para las películas formadas sin adicionar glicerol

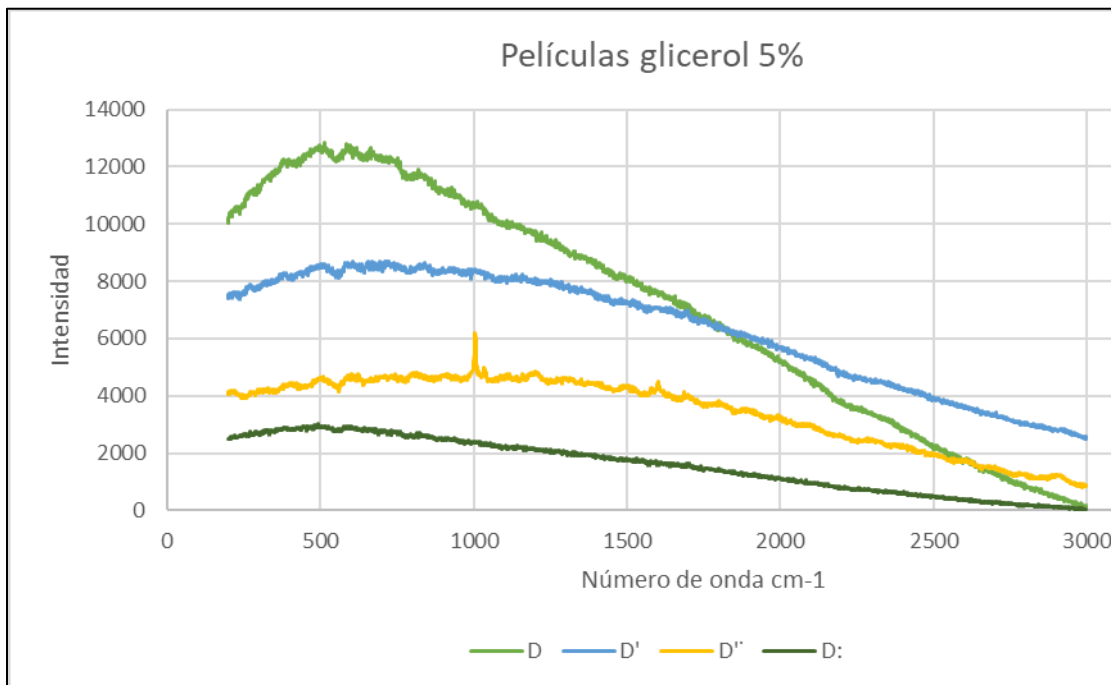


Figura 32 Espectros Raman para las películas formadas adicionando 5% de glicerol

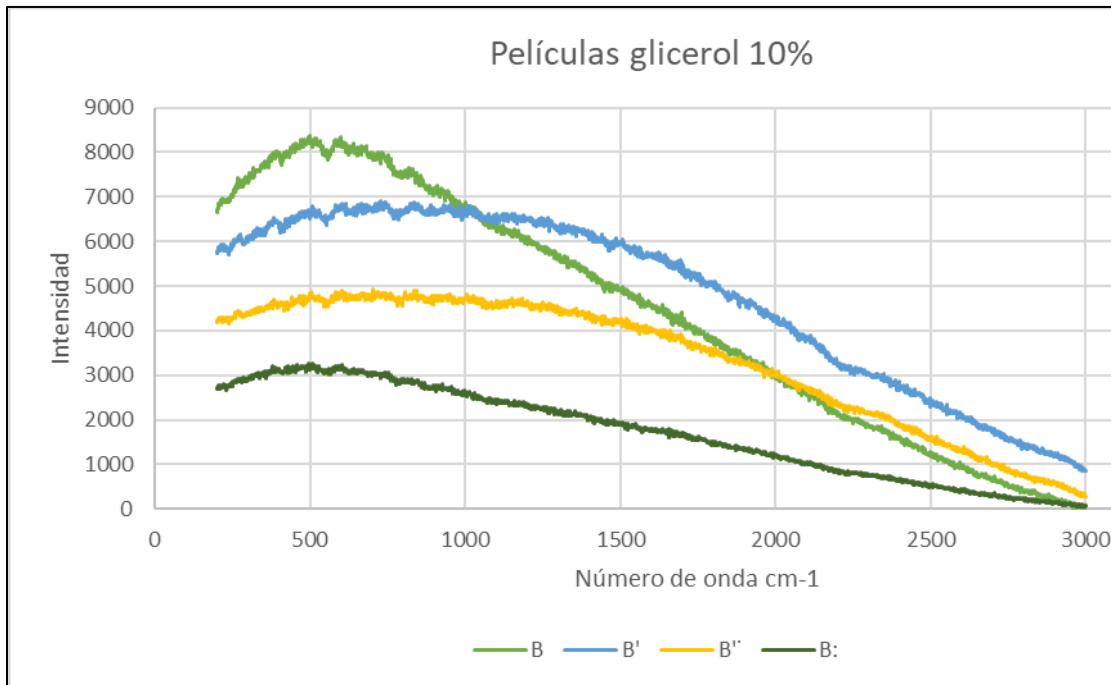


Figura 33 Espectros Raman para las películas formadas adicionando 10% de glicerol

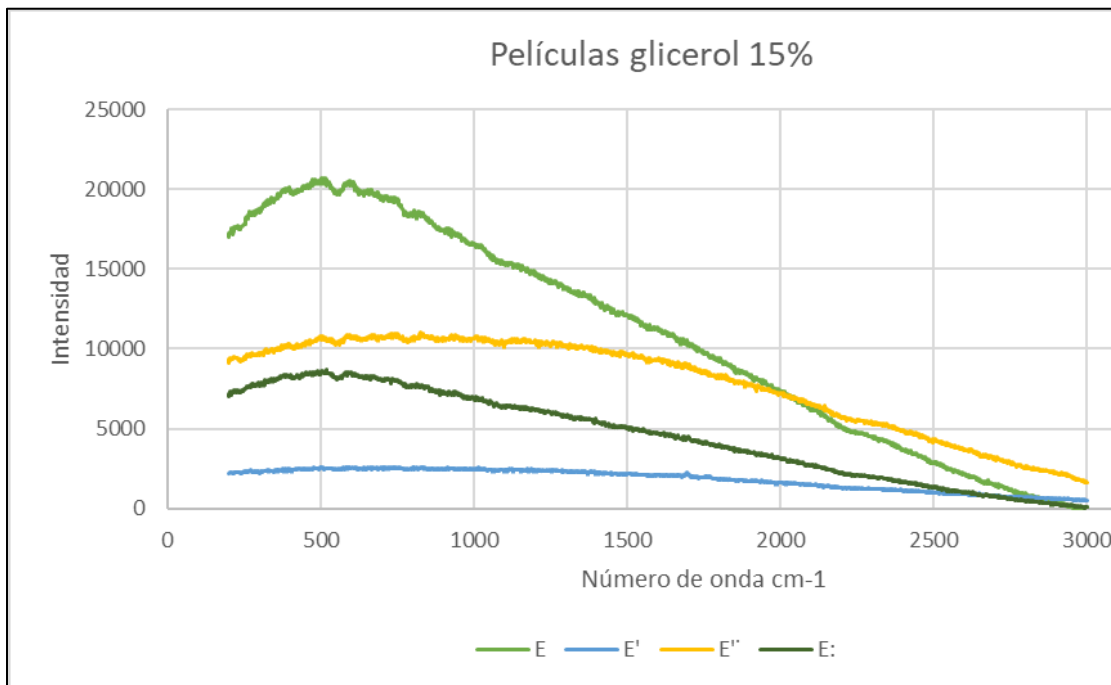


Figura 34 Espectros Raman para las películas formadas adicionando 15% de glicerol

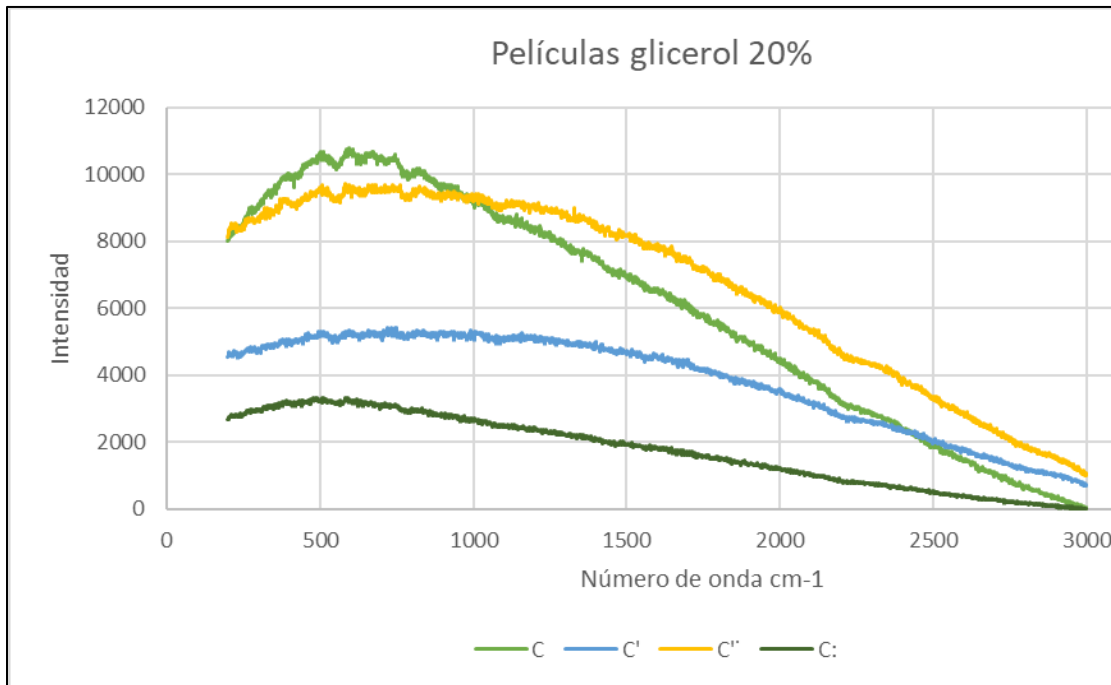


Figura 35 Espectros Raman para las películas formadas adicionando 20% de glicerol

Las películas de las fracciones minoritarias de zeína de maíz criollo azul fueron más intensas que las películas de zeína comercial, por ello la necesidad de utilizar un filtro 0.2 que divide entre cien la intensidad. Conforme a la adición de plastificante (glicerol) para las películas de zeína mixta, estas mostraron una disminución de su intensidad.

Para el espectro de la película **D''** (5% de glicerol, películas de zeína comercial a baño maría) el pico característico de las mediciones con espectroscopía Raman se muestra muy evidente en la región 1000 cm⁻¹ aproximadamente.

8.5 Evaluación de películas por microscopía

Mediante microscopía óptica se evaluó a las características de las películas, en las siguientes imágenes (Figuras 36-55) se muestran las microfotografías obtenidas de los diferentes grupos de películas:

- Películas de fracciones minoritarias de zeína de maíz criollo azul: **X**

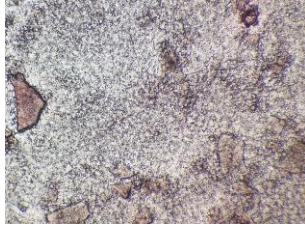


Figura 36 Microfotografía a 10x de la película A

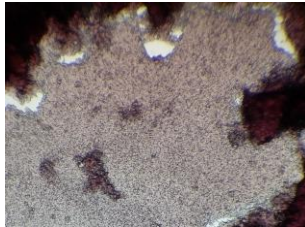


Figura 37 Microfotografía a 10x de la película B

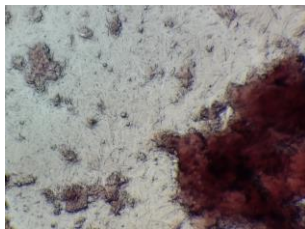


Figura 38 Microfotografía a 10x de la película C



Figura 39 Microfotografía a 10x de la película D

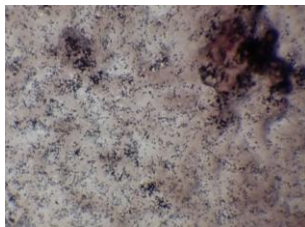


Figura 40 Microfotografía a 10x de la película E

- Películas de zeína comercial: X'

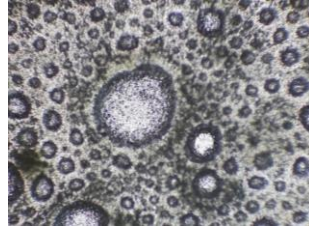


Figura 41 Microfotografía a 10x de la película A'



Figura 42 Microfotografía a 10x de la película B'

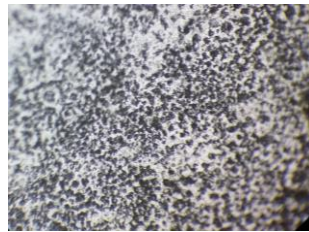


Figura 43 Microfotografía a 10x de la película C'

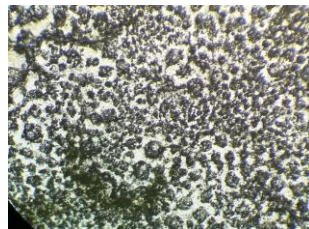


Figura 44 Microfotografía a 10x de la película D'

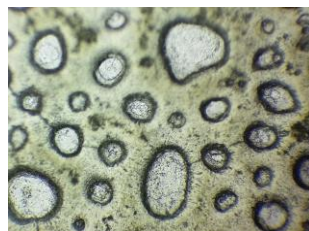


Figura 45 Microfotografía a 10x de la película E'

- Películas de zeína comercial, vertidas a baño maría: **X''**



Figura 46 Microfotografía a 10x de la película A''

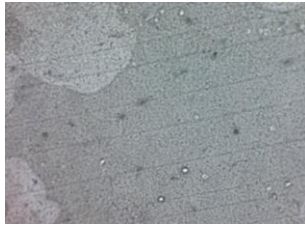


Figura 47 Microfotografía a 10x de la película B''



Figura 48 Microfotografía a 10x de la película C''



Figura 49 Microfotografía a 10x de la película D''



Figura 50 Microfotografía a 10x de la película E''

- Películas de zeína mixta (comercial y maíz criollo azul), vertidas a baño maría: **X**:

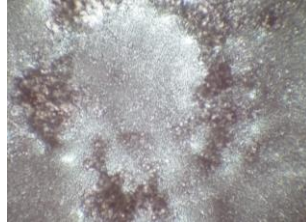


Figura 51 Microfotografía a 10x de la película A:

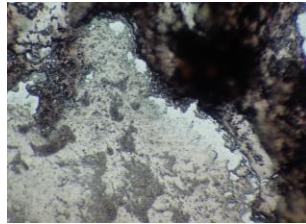


Figura 52 Microfotografía a 10x de la película B:

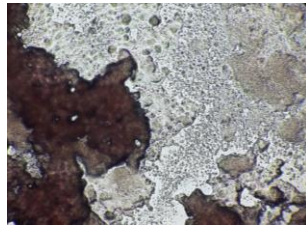


Figura 53 Microfotografía a 10x de la película C:

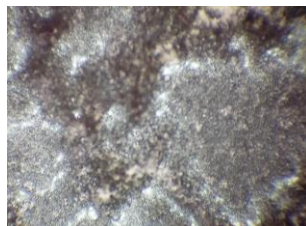


Figura 54 Microfotografía a 10x de la película D:

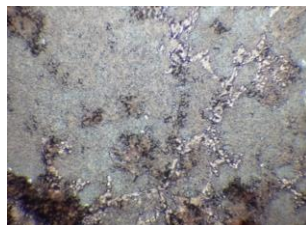


Figura 55 Microfotografía a 10x de la película E:

En general para todos los grupos de películas las distintas concentraciones de glicerol utilizadas para la formación de estas originaron diferencias notorias con microscopía, pero no habían sido muy evidentes a simple vista. En el Cuadro 10 se describen las características particulares de cada película.

Cuadro 10 Características microscópicas de las películas de acuerdo con su concentración de plastificante

	0% glicerol	10% glicerol	20% glicerol	5% glicerol	15% glicerol
Películas de fracciones minoritarias de zeína de maíz criollo azul: X	A Estructura fina, con algunas aglomeraciones de la proteína ligeras.	B Estructura muy fina, algunas regiones de la película aglomeradas.	C Bastante aglomeración en la película, pero con estructura fina.	D Estructura fina y bastante uniforme en toda la película.	E Estructura fina con aglomeraciones pequeñas en la película.
Películas de zeína comercial: X'	A' Burbujas de aire de diferentes tamaños por toda la superficie de la película.	B' Estructura fina, muy uniforme.	C' Estructura no muy fina pero uniforme.	D' Estructura no muy fina pero uniforme, con burbujas muy pequeñas de aire en la superficie.	E' Burbujas de aire grandes presentes en toda la superficie de la película.
Películas de zeína comercial, vertidas a baño maría: X''	A'' Estructura lisa y uniforme en toda la película. Sin burbujas de aire.	B'' Estructura lisa y uniforme en toda la película. Sin burbujas de aire	C'' Estructura lisa y uniforme en toda la película. Sin burbujas de aire	D'' Estructura lisa y uniforme en toda la película. Sin burbujas de aire	E'' Estructura lisa y uniforme en toda la película. Sin burbujas de aire
Películas de zeína	A: Estructura	B: Estructura	C: Aglomeración	D: Estructura	E: Aglomeración

mixta (comercial y maíz criollo azul), vertidas a baño maría: X:	uniforme en la película, sin burbujas de aire, algunas aglomeracion es pequeñas observables.	con aglomeracion es grandes en algunas zonas de la película, sin burbujas de aire.	es grandes en algunas partes de la película.	con aglomeracion es medianas a pequeñas por toda la película.	es muy pequeñas en toda la película, pero estructura uniforme.
---	--	--	--	---	--

Las películas formadas con las fracciones minoritarias de zeína mostraron una superficie rugosa con algunas partes lisas y coloración morada bajo el microscopio óptico.

Mediante microscopía óptica, las películas formadas con zeína comercial mostraron la incorporación de burbujas de aire en su superficie, además de rugosidad en la misma.

Las películas de zeína comercial pero vertidas a baño maría durante su formación se observaron con una superficie muy lisa, sin incorporar burbujas de aire y una estructura bastante uniforme.

La mayoría de las películas de zeína mixta mostraron dos zonas, posiblemente por la diferencia de solubilidad en alcohol de los zeínas que la conforman (comercial y de maíz azul) una zona es más lisa y sobre esta una parte más rugosa, esto se evidenció por microscopía óptica.

IX. CONCLUSIONES

En primer lugar, la obtención de las fracciones minoritarias de zeína (β -, γ -, y δ -zeínas) de maíz criollo azul tienen un rendimiento bajo en comparación con la obtención de la fracción α -zeína, pero el extracto de las fracciones minoritarias se encuentra junto con la coloración del maíz del cual se obtuvieron.

En un segundo lugar, se observó que las películas elaboradas a partir de las fracciones minoritarias de zeína de maíz criollo azul son altamente adheribles al sustrato de formación a comparación de las películas de zeína comercial, esto puede deberse a sus interacciones con el material.

En tercer lugar, se notó que las películas elaboradas con zeína comercial cambian sus propiedades físicas según la temperatura de vertido a la placa, así mismo, mejoran su textura si son vertidas a baño maría.

En cuarto lugar, la caracterización por espectroscopía FT-IR muestra similitudes para todos los tipos de películas elaboradas, existen enlaces oxígeno- hidrógeno en las películas y enlaces peptídicos que se mostraron en este análisis.

En quinto lugar, del análisis por espectroscopía Raman se concluye que las películas formadas con las fracciones minoritarias de zeína de maíz criollo azul son más intensas debido a la coloración que presentan, además que la formulación de la película D'' presenta interacciones diferentes a las demás películas con la luz del espectro.

En sexto lugar, se observó que los cambios en la estructura de las películas de zeína, con diferentes concentraciones de plastificante, pueden no ser evidentes a simple vista en todos los casos, pero mediante microscopía óptica se aprecia que la uniformidad estructural de la película está modificada.

X. SUGERENCIAS

Debido a que las películas elaboradas a partir de fracciones minoritarias de zeína de maíz criollo azul y de zeína mixta presentan una gran adherencia por el sustrato de formación, permite decir que se puede usar para elaborar recubrimientos.

Las películas de zeína comercial tienen un acabado más liso cuando se vierten en la placa a baño maría, en comparación con las vertidas a temperatura ambiente. Además de que se favorece la velocidad de evaporación del alcohol utilizado como disolvente, razón por la cual se recomienda como modificación en el método para formación de películas de zeína.

Se requieren estudios de toxicidad para evaluar si las películas son seguras para su ingesta, debido a los reactivos utilizados durante la extracción de las fracciones de zeína.

Finalmente, la elección de una película dependerá del tipo de alimento que se desee recubrir y las características finales que se pretendan obtener.

XI. BIBLIOGRAFÍA

Arrieta M. P., Peltzer M. A., Garrigos M. C., Jiménez A. (2009). "Desarrollo de un sistema de envasado activo: biopelículas de proteínas lácteas para un desarrollo sostenible". Investigación: Fundación MAFRE.

Badui S. (1999). "Química de los Alimentos". Longman de México Editores. México: 648.

Baldwin E. A. (1999). "Surface treatments and edible coatings in food preservation". Handbook of Food Preservation. New York, EUA: 577-609.

Baldwin E. A., Nisperos C. M. O., Shaw P. E., Burns J. K. (1995). "Effect of coatings and prolonged storage-conditions on fresh orange flavor volatiles, degrees brix, and ascorbic acid levels". J. Agric. Food Chem. 43: 1321-1331.

Benítez C. G. y Pfeiffer H. (2006). "El maíz: origen, composición química y morfología". Materiales Avanzados. 7:15-20.

Betrán F. J., Bockholt A. J., Rooney L. (2001). "Blue corn". Specialty Corns. Hallauer A R (ed). Iowa State University. Ames Iowa, USA: 293-337.

Brady J. E., y Holum J. R. (1988) "Fundamentals of chemistry". New York, Wiley 3rd ed.

Callegarin F., Quesada-Gallo J. A., Debeaufort F., Voilley A. (1997). "Lipids and biopackaging". J. Amer. Oil Chem. Soc. 74: 1183-1192.

Cheftel J. C., Cuq J. L., Lorient D. (1985). "Protéines alimentaires. Biochimie, propriétés fonctionnelles, valeur nutritionnelle, modifications chimiques". Paris: Technique et documentation. Lavoisier ed.

Coleman C. E. y Larkins B. A. (1999). "The prolamins of maize". In Seed Proteins, eds. Shewry P. R., Casey R. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers: 109-139.

De Mulder-Johnston C. L. C. (1999). "Thermal Analysis Of, and Oil Migration Through Films From, Whey Protein Isolate". University of California.

- Debeaufort F. y Quezada-Gallo J. A. (1998). "Edible films and Coatings: Tomorrow's Packagings.". *Food Science and Nutrition* 38 (4): 299-313.
- Debeaufort F. y Voilley A. (1994). "Aroma compound and water vapor permeability of edible films and polymeric packagings". *J. Agric. Food Chem.* 42: 2871-2875.
- Dickey L. C., Dallmer M. F., Radewonuk E. R., Parris N., Kurantz M., Craig J. C. (1998). "Zein batch extraction from dry-milled corn cereal disintegration by dissolving fluid shear". *J. Cereal Chem.* 75: 443-356.
- Escobar D., Márquez R., Repiso L., Sala A., Silvera C. (2008). "Elaboración, caracterización y comparación de películas comestibles en base a aislado de proteínas de suero lácteo (WPI)". *Investigación, Desarrollo e Innovación, Laboratorio Tecnológico del Uruguay*, 3: 57-62.
- Esen A. (1987). "A proposed nomenclature for alcohol-soluble proteins (zeins) of maize (*Zea mays* L.)". *J. Cereal Science* 5: 117-128.
- Esen A. (1990). "An immunodominant site of zeína is the region of tandem hexapeptide repeats". *J. Protein Chem.* 9: 453-460.
- FAO. (1993). "El maíz en la nutrición humana". *Alimentación y nutrición*, No. 25.
- Fu D., Weller C. L., Wehling R. L. (1999). "Zein: Proteins, preparations, and applications". *Food Science Biotechnol* 8 (1): 1-10.
- García M., Martino M., Zaritzky N. (2000). "Lipid addition to improve barrier properties of edible starch". *Journal of Food Science*: 941-943.
- Gennadios A., Hanna M. A., Kurt L. M. (1997). "Application of edible coatings on meats, poultry, and seafoods". *Lebensm. U. Technol.* 30 :337-350.
- Gueguen J., Viroben G., Noireaux P., Subirade M. (1998). "Influence of plasticizers and treatments on the properties of films from pea proteins". *Industrial Crops and Products* 7:149–157.

- Guilbert S. (1986). "Technology and application of edible protective films". Food Packaging and Preservation, ed. Mathlouthi, M. New York: Elsevier. Appl. Sci.: 371-394.
- Hamaker B. R; Mohamed A. A., Habben J. E; Huang C. P., Larkins B. A. (1995). "Efficient procedure for extracting maize and sorghum kernel proteins reveals higher prolamin contents than the conventional method". Cereal Chem. 72 (6): 583-588.
- Hoseney R. R. (1994). "Protein of cereals". Principles of Cereal Science and Technology, ed. Am. Assoc. 2nd St. Paul, MN: Cereal Chem: 65-79.
- Huang S., Adams W. R., Zhou Q., Malloy K. P., Voyles D. A., Anthony J., Kiriharaja J.A., Petri J.B., Messing J.W. (2004). "Isolation and sequence of a gene encoding and methionine-rich 10-kDa zein protein from maize". Gene 71: 359-370.
- Irani N. G., Hernandez J. M., Grotewold E. (2003). "Regulation of anthocyanin pigmentation". Recent Advances in Phytochemistry. 37: 59-78.
- Kester J. J. y Fennema O.R. (1986). "Review: Edible films and coatings". Food Technology, 40: 47-59.
- Krochta J. M. (2002). "Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities". Gennadios Ed. CRC Press: 1-41.
- Krochta J. M. y De Mulder-Johnston C. (1997). "Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities". Food Technology. 51: 61-77.
- Krochta J. M., Baldwin E. A., Nisperos-Carriedo M. (1994). "Edible Coatings and films to improve food quality". New York: CRC Press: 79-103.
- Landry J., Delhaye S., Damerval C. (2000). "Improved method for isolating and quantitating α -amino nitrogen as nonprotein, true protein, salt-soluble protein, zeins, and true glutelins in maize endosperm". Cereal Chem. 77 (5): 620-626.
- Larkins B. A. (1981). "Seed storage proteins: Characterization and biosynthesis.". Biochemistry of Plants, Vol. 6, ed. A. Marcus. NewYork: Academic Press: 449-489.

- Larkins B. A., Pedersen K., Marks M. D., Wilson D. R. (1984). "The zein proteins of maize endosperm". *Trends Biochem.* 9: 306-308.
- Lawton. J. W. (2002). "Zein: A history of processing and use". *J. Cereal Chem.* 79:1-18.
- Lending C. R., Larkins B. A. (1989) "Changes in the Zein Composition of Protein Bodies during Maize Endosperm Development". *Plant Cell* 1, 10: 1011-1023.
- Maltros R. H., Ibañez J. L., Bustillos P., Díaz R. I. (1999). "Industrialización del maíz como fuente de pigmentos para la industria alimentaria y farmacéutica y de cosméticos". Memoria Segundo Taller Nacional de Especialidades de Maíz. J Espinoza, J del Bosque C (eds.). Saltillo Coahuila, México 9 y 10 de septiembre. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro: 35-57.
- Michaca M. A. (2004). "Efecto de la adición de glicerol como agente plastificante en las propiedades fisicoquímicas de las películas de zeína". Universidad Autónoma Metropolitana, México.
- Miller K. S. y Krochta J. M. (1998). "Permeability of d-limonene in whey protein films". *Journal of Food Science* 63: 244-247.
- Miller K.S. y Krochta J. M. (1997). "Heat curing of whey protein films". *Journal of Food Science* 62:1189-1193.
- Miramontes C. U. (2012). "Situación actual y perspectivas del maíz en México 1996-2012". Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. México.
- Ortega, R. C. y Ochoa, B. R. (2003). "El maíz: un legado de México para el mundo". *Claridades Agropecuarias*. SAGARPA. Noviembre: 3-16.
- Padua G. W. y Guardiola L. V. (2015). "Microcapsules produced from zein". *Microencapsulation and Microspheres for Food Applications*. Academic Press.: 3-20.

Padua G. W. y Wang Q. (2002). "Formation and properties of corn zein films and coatings". In Protein-Based Films Coat, Ed. Gennadios A., New York: CRC Press.: 43-67.

Parris N. y Dickey L. C. (2001). "Extraction and solubility characteristics of zein proteins from dry-milled corn". J. Agric. Food Chem. 49: 3757-3760.

Parris N. y Dickey L. C. (2003). "Adhesive properties of corn zein formulations on glass surfaces". J. Agric. Food Chem. 51: 3892-3894.

Pereda M., Aranguren M. I., Marcovich N. E. (2010). "Caseinate films modified with tung oil". Food Hydrocolloids 24 (8): 800-808.

Pérez I. (2009). "Estudios de la variabilidad genética de maíces criollos y su correlación con el contenido y estructura de las zeínas". Tesis de Doctorado en Instituto Politécnico Nacional.

Pérez-Pueyo R. (s.f.). "Fundamentos de espectroscopía Raman". Consultado en línea el 2 de enero 2018, de:
<http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/6887/03Rpp03de11.pdf>

Pretsch E., Clerc T., Seibl J., Simon W. (1988). "Tablas para la Elucidación Estructural de Compuestos Orgánicos por Métodos Espectroscópicos". Ed. Alambra.

PRONASE. (1994). "El maíz, fundamento de la cultura popular mexicana". Ed. Aguilar S.A. de C.V. México: 10-25.

Rakotonirainy A. M., Wang Q., Padua G.W. (2001). "Evaluation of Zein Films as Modified Atmosphere Packaging for Fresh Broccoli". Journal of Food Science 66 (8): 1108-1111.

Salinas M. Y., Soto M., Martínez F., González V. A., Ortega R. (1999). "Análisis de antocianinas en maíces de grano azul y rojo provenientes de cuatro razas". Rev. Fitotec. México 22: 161-174.

Serratos J. A. (2009). "El origen y la diversidad del maíz en el continente americano". México: 4-18.

Shewry P. R. y Halford N. G. (2002) "Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization". *J. Exp. Bot.* 53 (370): 947-958.

Shewry P. R. y Tatham A. S. (1990). "The prolamin storage proteins of cereals seeds: structure and evolution". *Biochem. J.* 267: 1-12

SIAP. (2016). "Atlas Agroalimentario 2016". Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. México.

Solís-Rivera I. (2003). "Inmovilización de la bacteriocina producida por *Pediococcus parvulus* en geles de alginato de calcio". Tesis de Licenciatura. Facultad de Química UNAM.

Soliva, R. y Martin, O. (2001). "Envasado de alimentos mediante recubrimientos comestibles". *Alimentaria*, septiembre.

Thompson G. A. y Larkins B. A. (1989). "Structural elements regulating zein gene expression". *Bio Essays* 10: 108-113.

Trezza T. A. y Krochta J. M. (2000). "The gloss of edible coatings as affected by surfactants, lipids, relative humidity, and time". *Journal of Food Science* 65 (4): 658-662.

Trezza T. A. y Vergano P. J. (1994). "Grease resistance of corn zein coated paper". *Journal of Food Science* 59:912-915.

Wallace J. C., Lopes M. A., Paiva E., Larkins, B. A. (1990). "New methods for extraction and quantitation of zeins reveal a high content of g-zein in modified opaque-2 maize". *Plant Physiol.* 92: 191-195.

Wang J. F., Geil P. H., Kolling D. R. J., Padua G. W. (2003). "Analysis of Zein by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry". *J. Agric. Food Chem.* 51: 5849-5854.

Wang Y., Su, C.-P., Schulmerich, M., Padua, G. W. (2013). "Characterization of core-shell structures formed by zein". *Food Hydrocolloids* 30: 487-494.

Weller C. L., Gennadios A., Saraiva R. A. (1998). "Edible bilayer films from zein and grain sorghum wax or carnauba wax". *LWT-Food Science and Technology* 31 (3): 279-285.

Wong D. (1995). "Química de los Alimentos: Mecanismos y Teoría". Ed. Acribia, S. A. España: 476.

Wu Y., Rhim J. W., Weller C. L., Hamouz F., Cuppett S., Schnepf M. (2000). "Moisture loss and lipid oxidation for precooked beef patties stored in edible coatings and films". *Journal of Food Science* 65:300–304.

Yang H., Wen P., Feng K., Zong M. H., Lou W. Y., Wu H. (2017). "Encapsulation of fish oil in coaxial electrospun nanofibrous mat and its properties". *Royal society of Chemistry* 7: 14939-14946.