Incidencia de los Iones Divalentes y Monovalentes en las Propiedades Físico Mecánicas y de Barrera en Biopelículas a Base de Goma Gelana

Rafael E. González, Arnulfo Tarón y Fredy Colpas

Universidad de Cartagena, Piedra de Bolívar, Av del Consulado, Calle 30 N° 48-157, Cartagena-Colombia
(e-mail: rgonzalezc1@unicartagena.edu.co)

Recibido Sep. 7, 2016; Aceptado Nov. 15, 2016; Versión final Dic. 20, 2016, Publicado Abr. 2017

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la incidencia de diferentes iones sobre el espesor, transparencia, permeabilidad al vapor de agua (PVA) y propiedades mecánicas de biopelículas binarias de goma gelana. La goma gelana es un heteropolisacárido lineal aniónico que por sus características estructurales puede modificar las propiedades físico mecánicas y de barrera de biopelículas comestibles. El efecto de los cationes sobre la resistencia a la tensión (RT), la elongación al quiebre (EQ) y la PVA se aumentó sustancialmente por la cantidad de gelana de bajo acilo (GBA) presente en la biopelículas. Las biopelículas a base de goma gelana y calcio, presentan propiedades mecánicas y de barrera más deseables en comparación a las biopelículas con Na⁺. La presencia de cationes logra incrementar los valores de RT y EQ, mientras que disminuye la humedad, PVA y la transparencia. Estos resultados son realmente prometedores y sugieren la posibilidad de utilizar combinaciones de goma gelana y calcio para ser considerados como una fuente de empaque biodegradable en aplicaciones alimentarias.

Palabras clave: biopelículas; elongación al quiebre; goma gelana; permeabilidad al vapor de agua; resistencia a la tensión

Incidence of Divalent and Monovalent Ions on the Barrier and Physico Mechanical Properties of Biofilms Based on Gellan Gum

Abstract

The aim of this study was to evaluate the incidence of different ions on the thickness, transparency, water vapor permeability (WVP) and mechanical properties of binary biofilms of gellan gum. The gellan gum is an anionic linear heteropolysaccharide that due to its structural features can modify some physico mechanical and barrier properties of edible biofilms. The effect of cations on a tensile strength (TS), the elongation at break (EB) and WVP substantially increased by the amount of GBA present in binary biofilms. Biofilms based gellan gum and calcium, exhibit more desirable mechanical and barrier properties in comparison with binary biofilms and Na⁺. The presence of cations increase the TS and EB values but decrease moisture, WVP and transparency. These results are really promising and suggest the possibility of using combinations of gellan gum and calcium to be considered as a source of biodegradable packaging in food applications.

Keywords: biofilms; elongation at break; gellan gum; water vapor permeability; tensile strength

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de biopelículas biodegradables y comestibles derivados de fuentes naturales, ha despertado la atención en las últimas décadas como una alternativa para sustituir parcial o totalmente los materiales termoplásticos comúnmente utilizados en el empaque de matrices alimentarias. Las biopelículas (BP) pueden actuar como una barrera a la migración de humedad, gases, aromas y solutos, debido a la formación de una densa matriz polimérica. Además, pueden funcionar como acarreadores de ingredientes alimentarios (compuestos activos, agentes antimicrobianos, saborizantes y colorantes) extendiendo la vida útil e influenciando las propiedades mecánicas (resistencia y flexibilidad) de matrices alimentarias (Psomiadou *et al.*, 1996).

El uso de BP disminuye las preocupaciones ambientales por el continuo uso de materiales termoplásticos como polietilenos, polipropilenos etc. Diversos materiales han sido utilizados como base para la elaboración de BP, todos reconocidos como seguros para consumo humano como polisacáridos, lípidos y proteínas. Sin embargo, la naturaleza hidrofílica de los polisacáridos restringe las propiedades de barrera limitando significativamente sus aplicaciones, ya que una de las características deseadas en las aplicaciones de las BP es la resistencia al agua cuando son aplicadas en alimentos acuosos. Las propiedades mecánicas y de barrera de las BP dependen de la estructura del polisacárido, humedad relativa, composición, plastificante, agentes entrecruzantes y otras condiciones ambientales. Varios polisacáridos han sido utilizados como agentes formadores de BP, entre los cuales se encuentran: almidón, celulosa, quitosan, alginato, carragenato y goma gelana (Yang y Paulson, 2000; González *et al.*, 2016).

La goma gelana es un polisacárido aniónico obtenido por fermentación microbiana de *Sphingomonas elodea* que consiste de unidades de repetición de un tetrasacárido compuesto por 1,3- β -D-glucosa; 1,4- β -D-ácido glucurónico; 1,4 β -D glucosa y 1,4- α -L-ramnosa. A bajas concentraciones, la goma gelana es capaz de modificar las características reológicas de algunos alimentos. Por consiguiente, es utilizada a nivel industrial. La gelana nativa es conocida como gelana de alto acilo (GAA) debido a que presenta un grupo acetato (C6) y uno glicerato (C2) en su residuo de glucosa-A. Cuando la GAA es sometida a un fuerte tratamiento con álcali a elevadas temperaturas, los grupos acilo son hidrolizados y se obtiene la gelana de bajo acilo (GBA). Estas diferencias estructurales entre GAA y GBA les permiten obtener una gran diversidad de propiedades texturales. La GAA produce geles elásticos y blandos; por cuanto la GBA forma geles firmes. Las mezclas de las dos gelanas pueden producir geles con una amplia variedad de propiedades intermedias dependiendo de las proporciones de GAA y GBA (González *et al.*, 2012).

En este sentido, las BP basadas en polisacáridos son vistas como potenciales sustitutos de los empaques sintéticos tradicionales. Sin embargo, los polisacáridos aniónicos son solubles en agua y por tanto, su uso es limitado en matrices alimentarias. Las BP hidrofílicas pueden disminuir su solubilidad en agua por formación de enlaces covalentes, entrecruzamiento y gelación térmica (Lee y Mooney, 2012). El entrecruzamiento es el método más práctico por su fácil implementación. Teóricamente, los polisacáridos aniónicos insolubles pueden ser obtenidos por la reacción del polisacárido con iones metálicos polivalentes (Pavlath *et al.*, 1999). Los iones de calcio (Benavides *et al.*, 2012; Cai *et al.*, 2014) y sodio han sido utilizados como agentes entrecruzantes en diversos estudios y pueden llegar a modificar las propiedades mecánicas y de barrera de las BP debido a que promueven las interacciones polímero – polímero.

Sobre la goma gelana se ha estudiado el efecto de los iones calcio (Yang *et al.*, 2010) y glicerol sobre las propiedades físico mecánicas (Yang y Paulson, 2000) y el comportamiento reológico de la GBA conteniendo iones sodio (García *et al.*, 2016), pero pocos estudios se han enfocado en la influencia de los iones monovalentes y divalentes en las propiedades físico mecánicas y de barrera de BP binarias a base de GAA y GBA. Por consiguiente, el objetivo de la presente fue evaluar la incidencia de Ca^{++} y Na^{+} sobre las propiedades mecánicas, físicas y de barrera de biopelículas binarias de goma gelana.

MATERIALES Y MÉTODOS

La glucono δ lactona, la goma gelana de bajo (GBA) y alto acilo (GAA) de grado alimenticio fueron suministrados por Modernish pantry (EEUU). NaCl (>98% pureza) comprada a Pancreac (México) fue utilizada como fuente para obtener los iones de sodio, mientras el CaCO_3 (Merck, Colombia) fue empleado como donador de iones de calcio previa acidificación con glucono δ lactona. El glicerol también fue suministrado por Merck-Colombia.

Elaboración de las biopelículas

Las soluciones formadoras de biopelículas se elaboraron considerando un diseño de mezcla simple de la siguiente manera: GAA, GBA y sus mezclas 25GAA/75GBA, 50GAA/50GBA, 75GAA/25GBA disueltas en

agua desionizada conteniendo la concentración deseada de Ca^{++} o Na^+ (30mM). Posteriormente 12 % (v/v) de glicerol fue adicionado como agente plastificante. Finalmente, las preparaciones fueron sometidas a 90 °C por 30 minutos en baño termostático bajo agitación constante. Para la formación de las BP fueron vertidos volúmenes específicos de las soluciones anteriores en cajas de Petri. El secado se realizó en estufa a 30 °C durante 45 horas asegurando uniformidad de las BP.

Resistencia a la tensión (RT) y elongación al quiebre (EQ)

Estas propiedades mecánicas (RT y EQ) se determinaron en un texturometro Shimadzu modelo EZ-Test EZ-S utilizando BP rectangulares de 3 x 6 cm fijadas en la parte inferior a una geometría de mordazas empleando una velocidad de separación de 30 mm/min. Las pruebas fueron realizadas diez veces. Los valores de RT fueron calculados dividiendo la carga máxima (N) por el área transversal (m^2) de las BP:

$$RT(\text{MPa}) = \frac{F_{\max}}{A} \quad (1)$$

Donde $F_{\max}$ es la máxima fuerza necesaria para romper la muestra (N) y A corresponde al área transversal de las BP (m^2) que es estimada al multiplicar el ancho por el espesor de la muestra. El porcentaje de EQ fue calculado utilizando la ecuación 2.

$$EQ = \frac{l_{\max}}{l_0} \times 100 \quad (2)$$

Donde $l_{\max}$ es la elongación (mm) al momento de la ruptura; y l_0 es longitud inicial (mm). Todas las determinaciones fueron realizadas cinco veces y se reportaron los promedios aritméticos (Nur Hazirah et al., 2016).

Espesor y contenido de humedad de las biopelículas

El espesor de las BP fue determinado utilizando un micrómetro con una exactitud de 0.01 mm midiendo cada BP en seis puntos diferentes y equidistantes, reportando los promedios aritméticos con sus respectivas desviaciones estándar. Por su parte la humedad se determinó mediante gravimetría secando muestras de 2 cm a 105°C en un horno durante 24 h.

Transparencia

Las BP fueron cortadas en rectángulos (2 x 3 cm) y colocadas directamente en la celda de un espectrofotómetro (Thomson Gold Spectrumbab 54) se utilizó una incidencia de longitud de onda de 560 nm, el aire fue utilizado como referencia. El valor de transparencia fue calculado utilizando la siguiente ecuación 3 (Han y Floros, 1997):

$$Tr = A_{560}/x \quad (3)$$

Donde, A_{560} es la absorbancia a 560 nm y x es el espesor de las BP (mm). El mayor valor de transparencia representa la menor transparencia en las BP (Dick et al., 2015).

Permeabilidad del vapor de agua (PVA)

La PVA fue determinada gravimétricamente considerando el método ASTM E96/E96M, 2010 con 75 % de humedad relativa a 30°C±1 °C utilizando la ecuación 4.

$$PVA = \left[\frac{W}{t} \right] \cdot \left[\frac{x}{\Delta P \cdot A} \right] \quad (4)$$

Donde, W es el cambio de peso debido a la absorción de agua (g); t es el tiempo en días; x es el espesor de (mm); A corresponde al área de la BP (m^2); ΔP es la diferencia de presiones parciales a través de la biopelículas. ΔP fue calculada utilizando la siguiente ecuación:

$$\Delta P = S * (R_1 - R_2) \quad (5)$$

Donde, S es la presión del vapor de agua saturada a 25°C (3166kPa); R_1 es la humedad relativa en el desecador (0.82); R_2 es la humedad relativa en el interior (0.18) expresada en fracciones.

Análisis de Datos

Los valores de las propiedades evaluadas fueron sometidos a un análisis normal de varianza (ANOVA un factor) utilizando la prueba tukey (5% de significancia) mediante el programa de computo SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versión 17.0 para Windows (SPSS Inc. Chicago, IL, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados se presentan en dos secciones: (i) Resistencia a la tensión (RT) y elongación al quiebre (EQ); y (ii) Espesor, contenido de humedad, transparencia y permeabilidad al vapor de agua de las biopelículas

Resistencia a la tensión (RT) y elongación al quiebre (EQ)

Evaluar el comportamiento de las propiedades mecánicas, particularmente la RT y EQ en el desarrollo de BP es crucial, ya que ambos parámetros son medidas apropiadas de resistencia y flexibilidad (Kurt y Kahyaoglu, 2014), además, permiten seleccionar los componentes ideales para fabricar BP resistentes a esfuerzos externos que simulan el proceso de empaque y acondicionamiento de matrices alimentarias. Los efectos de Ca^{++} , Na^+ y de las diferentes proporciones de GAA y GBA sobre las propiedades mecánicas (RT y EQ) de las BP se presentan en la tabla 1. La presencia de iones divalentes incrementa significativamente ($P < 0.05$) los valores de RT en todas las combinaciones de gelatina, siendo más evidente al aumentar las proporciones de GBA. Gennadios *et al.*, (1993) encontraron que BP de gluten de trigo tratadas con CaCl_2 incrementan los valores de resistencia como consecuencia del reforzamiento del entrecruzamiento por iones calcio en la estructura de la proteína. En la Tabla 1 las filas sin ninguna letra en común presentaron diferencias significativas a un nivel de confianza del 95%

Cuando se utilizó Ca^{++} como agente entrecruzante a 30 mM en BP de GBA (100 % p/v) se obtuvieron los mayores valores de RT (51.24 MPa), no obstante, estos resultados son menores a los publicados por Liling *et al.*, (2016) quienes encontraron valores de RT de 134.580 MPa en BP de alginato utilizando Ca^{++} como agente entrecruzante. Pavlath *et al.*, (1999) estudiaron en efecto de diferentes iones divalentes como Ca^{++} , Cu^{++} y Zn^{++} sobre las propiedades mecánicas de BP a base de alginato, encontrando que los iones de calcio producen los mayores valores de RT, debido a una mayor afinidad de los iones por los grupos carboxilos presentes en las cadenas de alginato.

Tabla 1: Propiedades mecánicas de las biopelículas binarias bajo la influencia de iones Ca^{++} y Na^+

Proporción de GAA/GBA (p/v)	Ca^{++} (mM)	RT (MPa)	EQ (%)	Proporción de GAA/GBA (p/v)	Na^+ (mM)	RT (MPa)	EQ (%)
0/100	15	49.87±0.76 ^{fg}	0.74±1.32 ^a	0/100	15	42.56±1.08 ^{fg}	0.68±1.62 ^a
0/100	30	51.24±0.14 ^g	0.81±1.01 ^a	0/100	30	46.22±1.04 ^g	0.65±0.01 ^a
25/75	15	42.86±0.34 ^e	2.32±0.56 ^b	25/75	15	35.03±1.03 ^e	1.98±1.06 ^b
25/75	30	45.12±0.08 ^{ef}	2.41±0.04 ^b	25/75	30	38.41±0.80 ^{ef}	2.05±1.12 ^b
50/50	15	36.77±0.86 ^d	3.69±1.65 ^d	50/50	15	28.90±1.15 ^d	3.76±0.88 ^c
50/50	30	38.03±0.73 ^d	3.77±0.54 ^d	50/50	30	33.04±1.84 ^d	3.54±0.11 ^d
75/25	15	25.89±1.87 ^c	4.31±0.19 ^e	75/25	15	23.44±0.34 ^d	4.28±0.79 ^e
75/25	30	26.02±1.18 ^c	4.49±0.43 ^e	75/25	30	16.78±0.09 ^c	4.37±1.71 ^e
100/0	15	15.75±0.75 ^b	4.71±1.59 ^f	100/0	15	3.30±1.43 ^a	4.87±0.99 ^f
100/0	30	15.71±1.03 ^b	5.03±2.01 ^g	100/0	30	8.11±0.34 ^b	5.08±0.61 ^g

Por el contrario, al utilizar menores concentraciones de Ca^{++} (15 mM) con GAA (100 %p/v) se presentan valores menores de RT (15.75 MPa). En términos generales, al duplicar las concentraciones de iones Ca^{++} se obtiene un incremento promedio de 1.012 MPa en la resistencia de las BP, tal incremento es mayor cuando las proporciones de GBA son mayores al 50 % (p/v) logrando incrementos de 1.26; 2.26 y 1.37 MPa en BP conteniendo 50, 75 y 100 % (p/v) de GBA respectivamente. Tal comportamiento se puede explicar por la ausencia grupos acilo que ocasionan impedimentos estéricos, por tanto, se produce la formación de enlaces iónicos directos entre los iones de calcio y los grupos carboxilos presentes en la GBA (González *et al.*, 2012).

Contrario a los iones divalentes, se requieren dos iones monovalentes para producir un acercamiento entre las hélices de GBA para producir una red tridimensional que finalmente origina el gel que da soporte a las BP. En tal sentido, los valores de RT de las BP conteniendo Na^+ son menores (3.30 a 46.22 MPa) a los encontrados en aquellas BP sometidas a entrecruzamiento con iones divalentes (Ca^{++}) (15.71 a 51.24 MPa). Sin embargo, el comportamiento en general de las BP con Na^+ es muy similar al obtenido con Ca^{++} , es

decir, se aprecia un incremento significativo ($P < 0.05$) en la resistencia al aumentar la concentración de iones Na^+ de 15 a 30 mM.

Con la EQ es más notorio que el mencionado efecto de Ca^{++} y Na^+ depende principalmente de la disponibilidad de grupos carboxilos libres que permitan la formación de enlaces iónicos entre hélices de GBA. En BP con mayores concentraciones de GAA no se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) al incrementar de 15 a 30 mM las concentraciones de iones Ca^{++} y Na^+ , debido a que la GAA no necesita la presencia de iones para gelificar y/o incrementar su flexibilidad. La flexibilidad se encuentra relacionada a la proporción de ambas gomas gelanas y no por la presencia de iones monovalentes o divalentes. Es interesante mencionar que se presentaron resultados similares en los porcentajes de flexibilidad de las BP conteniendo Ca^{++} (0.74 a 5.03 %) y Na^+ (0.68 a 5.08%). Se aprecia en la tabla 1 una disminución significativa ($P < 0.05$) en los valores de EQ al disminuir las proporciones de GAA. Normalmente, la disminución de los valores de EQ es ocasionada por la reducción de la movilidad en los segmentos de las cadenas poliméricas (Benavides *et al.*, 2012; Davidovich y Bianco, 2010). El efecto de los cationes y de las proporciones de goma gelana sobre las propiedades mecánicas de las BP puede verse incrementado por la pérdida de plastificante durante el secado. La adición de plastificante disminuye las interacciones intermoleculares incrementando la movilidad de las cadenas reforzando la extensibilidad de la BP (Gontard *et al.*, 1993), por ende, el valor de plastificante se mantuvo constante a lo largo de la experimentación.

Espesor, contenido de humedad, transparencia y permeabilidad al vapor de agua de las biopelículas

El espesor de las BP no presentó diferencias significativas ($P < 0.05$) con respecto a las proporciones de gelanas utilizadas y los tipos de iones presentes (Tabla 2 y 3). Estos resultados son semejantes a los publicados por Mostafavi *et al.*, (2016) quienes no encontraron diferencias significativas en el espesor de BP a base de goma tragacanto y goma algarrobo, atribuyendo tal comportamiento al estricto control ejercido durante el proceso de elaboración secado de las muestras. Es interesante destacar que en el presente estudio, el volumen para cada solución formadora de BP fue controlado durante el proceso de fabricación, con el fin de asegurar valores similares de espesor. Controlar el espesor de las BP es importante porque esta propiedad puede llegar a modificar las propiedades mecánicas y de barrera (Liling *et al.*, 2016). Los espesores reportados para las BP conteniendo iones Ca^{++} estuvieron entre 0.17 y 0.20 mm, los cuales son lo suficientemente bajos para calificarlas como películas según ASTM 1985 (American Society for Testing and Materials (ASTM) quienes establecieron espesores menores a 0.25 mm.

El contenido de humedad de BP con proporciones de GBA mayores a 50% disminuyó significativamente ($P < 0.05$) al duplicar los niveles de Ca^{++} , esto podría suponer una mayor disponibilidad de grupos carboxilo para establecer enlaces directos entre hélices de GBA vía iones calcio. Las BP de GBA con 15 y 30 mM de Ca^{++} presentaron porcentajes de humedad de 8.01 y 9.97 respectivamente, mientras que BP de GAA presentaron porcentajes de 25.31 y 25.76. En general, el efecto de Ca^{++} depende de las proporciones de gelana utilizados en cada formulación de la BP, ya que necesita de grupos disponibles para atrapar agua en el interior de las moléculas. Las BP más transparentes fueron aquellas a base de GAA (100%) con 15 y 30 mM de Ca^{++} con índices de transparencia entre 1.43 y 1.42 respectivamente, lo cual significa que los iones de calcio no tienen influencia alguna en la transparencia de BP de GAA. Por el contrario, BP de GBA con 15 y 30 mM de Ca^{++} fueron las menos transparentes al tener índices de transparencia de 4.57 y 5.64 respectivamente. Tales resultados pueden significar una mayor presencia de enlaces en las BP con mayor concentración de GBA. Similares estudios fueron propuestos por Yang *et al.*, 2010 quienes encontraron un incremento en la opacidad de BP a base de GBA al incrementar la proporción de NaCl_2 . Estos autores atribuyen el aumento en la opacidad a una disminución del espacio entre cadenas poliméricas permitiendo un menor paso de la luz a través de la BP.

Es importante mencionar que BP con alguna proporción de GBA y bajas concentraciones de Ca^{++} (15mM) resultan ser más transparentes que aquellas con el doble de cantidad de iones calcio. Los valores de transparencias para muestras conteniendo Ca^{++} y GBA (5.56 a 2.48) son mayores a los valores publicados por Nur Hazirah *et al.*, (2016) en BP solamente a base de CMC y gelatina (1.99). Estos resultados sugieren que las BP conteniendo GBA son menos transparentes que aquellas que contienen CMC y gelatina. La transparencia es una propiedad crítica para las BP comestibles porque afecta la apariencia en general y determina el tipo de aplicación final de la misma.

Los valores de permeabilidad al vapor de agua (PVA) en BP con Ca^{++} se presentan en la tabla 2, donde se aprecian variaciones significativas ($P < 0.05$) desde 14.09 hasta 36.11 (g mm/ m²d kPa) dependiendo de las concentraciones de iones y goma gelana. En la Tabla 2, las filas sin ninguna letra en común presentaron diferencias significativas a un nivel de confianza del 95%. Resultados similares fueron obtenidos por González *et al.*, (2016) quienes reportaron incrementos en valores de PVA desde 0.41 hasta 0.88 (g mm)/(m² h kPa) en BP de carragenato y GAA. Krochta *et al.*, 1988; Gennadios *et al.*, 1993 encontraron que la PVA de BP de

gluten de trigo caseína y caseinato de sodio disminuyó por inmersión en soluciones de CaCl_2 . Tal comportamiento puede ser atribuido a la modificación estructural de la matriz de la BP, en la cual las cadenas del polímero se hacen más estrechas (disminuyendo el espacio entre las cadenas) con un restringido movimiento como consecuencia del entrecruzamiento y la pérdida del glicerol (Park *et al.*, 2001; Yang y Paulson, 2000).

La PVA disminuyó 1.12 (g mm/ m²d kPa) en promedio al adicionar Ca^{++} , confirmando así un aumento en el número de enlaces que se establecen, ya que al decrecer las concentraciones de GBA no se aprecian diferencias significativas ($P < 0.05$) con la variación de iones calcio (15 a 30 mM). Tales resultados concuerdan con los contenidos de humedad, porque un incremento en el contenido de humedad generalmente conlleva a un aumento en los valores de PVA, dado que la PVA es un indicador de como la humedad atraviesa las BP y es relacionado con las reacciones que deterioran la textura de las matrices alimentarias (Hernández, 1994; Ahmadi *et al.*, 2012). Uno de los requerimientos más relevantes en las BP comestibles es disminuir la transferencia de humedad entre la matriz alimentaria y su medio ambiente, en tanto, la PVA debe ser lo más baja posible (Kurt y Kahyaoglu, 2014). Por lo cual, la adición de iones calcio (30 mM) es conveniente en este tipo de BP con el fin de disminuir los valores de PVA. Generalmente, la transmisión del vapor de agua a través de una BP hidrofílica, depende de la difusividad y la solubilidad de las moléculas de agua en la matriz polimérica (Gontard y Guilbert, 1994).

Tabla 2: Espesor, contenido de humedad, PVA y valores de transparencia de BP entrecruzadas con Ca^{++}

Proporción de GAA/GBA (p/v)	Ca^{++} (mM)	Espesor (mm)	Contenido de humedad (%)	Transparencia a 560 nm	PVA (g mm/ m ² d kPa)
0/100	15	0.17 ± 0.1 ^a	9.97 ± 0.5 ^b	4.57 ± 0.0 ^a	14.09 ± 1.3 ^b
0/100	30	0.17 ± 0.2 ^a	8.01 ± 0.1 ^a	5.64 ± 0.3 ^b	12.33 ± 0.7 ^a
25/75	15	0.17 ± 0.0 ^a	13.72 ± 0.2 ^d	3.78 ± 0.2 ^c	18.50 ± 0.8 ^d
25/75	30	0.18 ± 0.1 ^a	12.91 ± 0.0 ^c	4.72 ± 0.0 ^a	15.55 ± 1.2 ^b
50/50	15	0.19 ± 0.1 ^a	19.04 ± 0.3 ^e	2.76 ± 0.0 ^d	22.44 ± 0.1 ^e
50/50	30	0.17 ± 0.1 ^a	18.61 ± 0.1 ^e	3.58 ± 0.4 ^c	21.83 ± 0.4 ^e
75/25	15	0.19 ± 0.0 ^a	21.31 ± 0.7 ^f	2.48 ± 0.0 ^d	27.22 ± 1.8 ^f
75/25	30	0.18 ± 0.1 ^a	21.10 ± 0.1 ^f	2.64 ± 0.1 ^d	26.93 ± 1.5 ^f
100/0	15	0.17 ± 0.0 ^a	25.31 ± 0.8 ^g	1.43 ± 0.3 ^e	36.11 ± 1.0 ⁱ
100/0	30	0.19 ± 0.0 ^a	25.76 ± 0.5 ^g	1.42 ± 0.18 ^e	36.09 ± 1.3 ⁱ

Las BP con Na^+ presentaron comportamientos en las propiedades físico mecánicas y de barrera similares en comparación a las BP con Ca^{++} . Es decir, los valores de humedad y PVA disminuyeron gradualmente al incrementar los niveles de Na^+ . Por el contrario, los valores de transparencia aumentaron al duplicar la concentración de Na^+ . Sin embargo, en el contenido de humedad y la PVA no se aprecian diferencias significativas ($P < 0.05$) al variar los niveles de Na^+ de 15 a 30 mM. Es bien conocido que se requieren menos concentración de Ca^{++} comparación a los iones de sodio para formar geles (Gibson y Sanderson, 1997; Miyoshi, 1996). Este comportamiento es atribuido al hecho que los iones Ca^{++} promueven la gelación por la unión entre pares de grupos carboxilatos de hélices cercanas, mientras que los sitios de unión de Na^+ es causado por atracción electrostática de los cationes a los grupos carboxilos de las macromoléculas junto con la formación de una coordinación compleja (Morris *et al.*, 2012). Las BP con Ca^{++} tienen menor PVA y transparencia que BP conteniendo Na^+ .

Tabla 3: Espesor, contenido de humedad, PVA y valores de transparencia de BP entrecruzadas con Na^+ . Filas sin ninguna letra en común presentaron diferencias significativas a un nivel de confianza del 95%

Proporción de GAA/GBA (p/v)	Na^+ (mM)	Espesor (mm)	Contenido de humedad (%)	Transparencia a 560 nm	PVA (g mm/ m ² d kPa)
0/100	15	0.18 ± 0.1 ^a	9.82 ± 0.7 ^a	3.32 ± 0.1 ^a	16.65 ± 1.5 ^a
0/100	30	0.18 ± 0.2 ^a	9.12 ± 0.8 ^a	3.84 ± 0.7 ^b	16.07 ± 1.7 ^a
25/75	15	0.17 ± 0.0 ^a	13.89 ± 0.7 ^b	3.78 ± 0.2 ^b	19.33 ± 0.1 ^b
25/75	30	0.18 ± 0.1 ^a	13.61 ± 0.3 ^b	3.92 ± 0.0 ^b	19.13 ± 1.0 ^b
50/50	15	0.19 ± 0.1 ^a	19.87 ± 0.4 ^c	3.36 ± 1.1 ^c	27.81 ± 0.0 ^c
50/50	30	0.19 ± 0.1 ^a	19.23 ± 0.0 ^c	2.74 ± 0.2 ^d	26.72 ± 0.4 ^d
75/25	15	0.19 ± 0.0 ^a	22.31 ± 0.7 ^d	2.06 ± 0.6 ^e	32.87 ± 1.4 ^e
75/25	30	0.20 ± 0.1 ^{ab}	22.00 ± 0.1 ^d	2.45 ± 0.1 ^f	32.07 ± 0.8 ^e
100/0	15	0.20 ± 0.0 ^b	24.62 ± 0.8 ^f	0.87 ± 0.0 ^g	41.72 ± 1.1 ⁱ
100/0	30	0.20 ± 0.0 ^b	24.52 ± 0.5 ^f	1.01 ± 0.1 ^h	41.11 ± 1.3 ⁱ

CONCLUSIONES

La goma gelana es un agente prometedor en la formación de BP que potencialmente puede ser útil en la producción de envases comestibles para extender la vida útil de ciertas matrices alimentarias y disminuir la contaminación ambiental. Las propiedades físico mecánicas y de barrera evaluadas son afectadas principalmente por el tipo y concentración de iones, así como las proporciones de goma gelana. Las biopelículas a base de goma gelana y calcio, presentan propiedades mecánicas y de barrera más deseables en comparación a las biopelículas con Na^+ . La presencia de cationes logra incrementar los valores de RT y EQ, mientras que disminuye la humedad, PVA y la transparencia. Estos resultados son realmente prometedores y sugieren la posibilidad de utilizar combinaciones de goma gelana y calcio para ser considerado como una fuente de empaque biodegradable en aplicaciones alimentarias.

REFERENCIAS

- Ahmadi, R., Kalbasi, A. y otros tres autores, Development and characterization of a novel biodegradable edible film obtained from psyllium seed (*Plantago ovata* Forsk), *Journal of Food Engineering*, 109, 745–751 (2012)
- American Society for Testing and Materials (ASTM), Standard terminology relating to plastic, Designation D883-00, Annual book of ASTM standards, Philadelphia 13 (1985)
- American Society for Testing and Materials (ASTM), Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials, West Conshohocken, ASTM, 11 (2010)
- Benavides, S., R. Villalobos y J. Reyes, Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and orange essential oil concentration, *Journal of Food Engineering*, 110(2), 232–239 (2012)
- Cai, S. y otros cinco autores, Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* CGMCC1.2686 via emulsification/internal gelation of alginate using Ca-EDTA and CaCO_3 as calcium sources, *Food Hydrocolloids*, 39, 295–300 (2014)
- Davidovich, M. y H. Bianco, A quantitative analysis of alginate swelling, *Carbohydrate Polymers*, 79, 1020–1027 (2010)
- Dick, M. y otros cinco autores, Edible film production from chia seed mucilage: Effect of glycerol concentration on its physicochemical and mechanical properties, *Carbohydrate Polymers*, 130, 198–205 (2015)
- García, C., C. Alfaro y J. Muñoz, Creep-recovery-creep tests to determine the yield stress of fluid gels containing gellan gum and Na^+ , *Biochemical Engineering Journal*, 114, 257–261 (2016)
- Gibson, W. y G. Sanderson, Gellan gum, in: A. Imeson (Ed.), *Thickening and Gelling Agents for Food*, 2nd Ed., Blackie, London, pp. 119–143 (1997)
- Gennadios, A., C. Weller y R. Testin, Modification of physical and barrier properties of edible wheat gluten-based films, *Cereal Chemistry*, 70, 426–429 (1993)
- Gontard, N. y S. Guilbert, Biopackaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin, In M. Mathlouthi, *Food packaging and preservation*, London, Blackie Academic & Professional (1994)
- Gontard, N., S. Guilbert y J. Cuq, Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film, *Journal of Food Science*, 58, 206–211 (1993)
- González, R. y otros tres autores, Rheological characterization and activation energy values of binary mixtures of gellan, *European Food Research Technology*, 235, 305–313 (2012)
- González, R., L. Morón y A. Tarón, Caracterización físico mecánica de biopelículas comestibles binarias a base de κ -carragenato y gelana de alto acilo, *Vitae* 23 (Supl. 1), S185 – S189 (2016)

- González, R., Urbina, N. y L. Morón, Caracterización viscoelástica de biopelículas obtenidas a base de mezclas binarias, *Información Tecnológica*, 26(3), 71-76 (2015)
- Han, J. y D. Floros, Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity, *Journal of Plastic Film and Sheeting*, 13(4), 287–298 (1997)
- Hernández, E., Edible coatings from lipids and resins, *Edible coatings and films to improve food quality*, Lancaster, PA: Technomic Publishing Co., 279–303 (1994)
- Krochta, J. y otros tres autores, Edible films for lightly processed fruits and vegetables, Paper N° 88–6532. St. Joseph, MI, American Society of Agricultural Engineers, 34 - 54 (1988)
- Kurt, A. y T. Kahyaoglu, Characterization of a new biodegradable edible film made from salep glucomannan, *Carbohydrate Polymers*, 104(0), 50–58 (2014)
- Lee, K. y D. Mooney, Alginate: Properties and biomedical applications, *Progress in Polymer Science*, 37(1), 106–126 (2012)
- Liling, G. y otros cinco autores, Effects of ionic crosslinking on physical and mechanical properties of alginate mulching films, *Carbohydrate Polymers*, 136, 259–265 (2016)
- Miyoshi, E., T. Takaya y K. Nishinari, Rheological and thermal studies of gelsol transition in gellan gum aqueous solutions, *Carbohydrate Polymers*, 30, 109-119 (1996)
- Morris, E., K. Nishinari y M. Rinaudo, Gelation of gellan- A review, *Food Hydrocolloids*, 28, 373–411 (2012)
- Mostafavi, S. y otros tres autores, Preparation and characterization of tragacanth–locust bean gum edible blend films, *Carbohydrate Polymers*, 139 (2), 20–27 (2016)
- Nur Hazirah, M., N. Isab y M. Sarbona, Effect of xanthan gum on the physical and mechanical properties of gelatin-carboxymethyl cellulose film blends, *Food Packaging and Shelf Life*, 9, 55–63 (2016)
- Park, S. y otros tres autores, Mechanical properties and water-vapor permeability of soy-protein films affected by calcium salts and glucono-d-lactone, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2308–2312 (2001)
- Pavlath, A. y otros tres autores, Ionomeric films of alginic acid, *Journal of Food Science*, 64(1), 61–63, (1999)
- Psomiadou, E., I. Arvanitoyannis y N. Yamamoto, Edible films made from natural resources; microcrystalline cellulose (MCC), methylcellulose (MC) and corn starch and polyols – Part 2, *Carbohydrate Polymers*, 31, 193–204 (1996)
- Sworn, G., Gellan Gum, in: G.O. Phillips, P.A. Williams (Eds.), *Handbook of Hydrocolloids*, 2nd Ed., Woodhead Publishing Limited, Cambridge, pp.204–227 (2009)
- Yang, L., y A. Paulson, Mechanical and water vapor barrier properties of edible gellan films, *Food Research International*, 33(7), 563–570 (2000)
- Yang, L., A. Paulson y M. Nickerson, Mechanical and physical properties of calcium-treated gellan films, *Food Research International*, 43, 1439–1443 (2010)