



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

APLICACIÓN DE DIFERENTES RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES PARA LA CONSERVACIÓN POSTCOSECHA DE MANZANA

TRABAJO FIN DE MÁSTER UNIVERSITARIO EN CIENCIA E
INGENIERÍA DE LOS ALIMENTOS

ALUMNO: AUGUSTO BELÉNDEZ PASCUAL

TUTORA ACADÉMICA: LORENA MARÍA ATARÉS HUERTA

COTUTORA : MARÍA AMPARO CHIRALT BOIX

DIRECTORA EXPERIMENTAL: ANNA MARÍN GOZALBO

Curso Académico: 2016/2017

VALENCIA, SEPTIEMBRE 2017

APLICACIÓN DE DIFERENTES RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES PARA LA CONSERVACIÓN POSTCOSECHA DE MANZANA

Augusto Beléndez, Anna Marín, Lorena Atarés, Amparo Chiralt

RESUMEN

El trabajo se centra en el estudio del efecto de la aplicación de recubrimientos comestibles en manzana con la finalidad de controlar alteraciones físicas, químicas y biológicas. Se elaboraron distintas formulaciones a base de almidón de maíz pregelatinizado, utilizando glicerol como plastificante y distintos tensoactivos (ácido oleico, Span 80 y Tween 85). Se caracterizaron las propiedades más relevantes de las dispersiones formadoras de recubrimiento (estabilidad, comportamiento reológico, ángulo de contacto y tamaño de partícula) y de las películas aisladas (permeabilidad al vapor de agua, permeabilidad al oxígeno y humedad) con el objetivo de determinar cómo la incorporación de los distintos tensoactivos influía en las mismas y en su efecto al aplicarlas sobre la superficie de manzanas. Las distintas formulaciones se aplicaron en manzanas var. *Golden delicious* y en ellas se evaluó la influencia del recubrimiento en su pérdida de peso, firmeza y tasa de respiración, con el fin de determinar la formulación más adecuada. Los resultados obtenidos indicaron que la incorporación de tensoactivos supuso un aumento de la viscosidad de las dispersiones, mejora de la barrera al vapor de agua en las películas, y una reducción de la pérdida de peso, tasa de respiración y pérdida de firmeza con el tiempo en manzanas recubiertas, especialmente el Tween 85 y el Span 80.

Palabras clave: película biodegradable, almidón de maíz, manzana, tensoactivo, recubrimiento comestible, dispersiones.

RESUM

El treball es centra en l'estudi de l'efecte de l'aplicació de recobriments comestibles en poma amb la finalitat de controlar alteracions físiques, químiques i biològiques. Es van elaborar diferents formulacions amb midó de dacsà pregelatinitzat, utilitzant glicerol com a plastificant i diferents tensoactius (àcid oleic, Span 80 i Tween 85). Es van caracteritzar les propietats més rellevants de les dispersions formadores de recobriments (estabilitat, comportament reològic, angle de contacte i tamany de partícula) i de les pel·lícules aïllades (permeabilitat al vapor d'aigua, permeabilitat a l'oxigen i humitat) amb l'objectiu de determinar com la incorporació dels diferents tensoactius influïa en les mateixes i en el seu efecte al aplicar-les sobre la superfície de pomes. Les diferents formulacions es van aplicar en pomes var. *Golden delicious* i en elles es va avaluar la influència del recobriments en la seua pèrdua de pes, fermesa i taxa de respiració, amb l'objectiu de determinar la formulació més adequada. Els resultats obtinguts

van indicar que la incorporació de tensoactius va suposar un augment de la viscositat de les dispersions, millora de la barrera al vapor d'aigua en les pel·lícules, i una reducció de la pèrdua de pes, taxa de respiració i pèrdua de fermesa amb el temps en pomes recobertes, especialment el Tween 85 i l'Span 80.

Paraules clau: pel·lícula biodegradable, midó de dacsà, poma, tensoactiu, recobriment comestible, dispersions.

ABSTRACT

This essay focuses on the effect of applying edible coatings in apples with the aim of controlling physical, chemical and biological alterations. Several formulations were made with a base of pregelatinized corn starch, using glycerol as a plasticizer and different surfactants such as oleic acid, Span 80, and Tween 85. The most relevant properties of both the coating-forming dispersions (stability, rheological behaviour, contact angle, and particle size) and isolated film (water vapour permeability, oxygen permeability, and humidity) were characterized in order to determine how the incorporation of the different surfactants affected in both the films and the apples. The above mentioned formulations were applied in apples of *Golden delicious* variety, and the influence of the coating was evaluated in the loss of weight, firmness and respiration rate, in order to choose the most accurate formulation. The results obtained pointed out that the addition of surfactants caused a viscosity increase in dispersions, a vapour barrier improvement in films, and a decrease in the loss of weight, respiration rate and firmness loss with the pass of time. It was especially notable in these apples covered by Tween 85 and Span 80.

Keywords: biofilm, corn starch, apple, surfactant, edible coating, dispersions.

1. INTRODUCCIÓN

La vida útil comercial de un producto alimentario se define como el tiempo estimado en el que éste es adecuado para el consumo humano. Este rasgo es uno de los factores más importantes para la comercialización de frutos como manzana fresca, por lo que es vital para garantizar la comercialización de productos y reducir al máximo posibles pérdidas económicas (Costa et al., 2005).

La aplicación de recubrimientos comestibles es uno de los métodos más efectivos para aumentar la vida útil de los frutos, ya que estos recubrimientos actúan como barrera al intercambio de gases, reduciendo las alteraciones microbiológicas y teniendo un efecto similar al almacenamiento en atmósfera modificada o controlada (Vargas et al., 2008). Un recubrimiento comestible consiste en una fina película compuesta por un

material apto para el consumo humano, el cual se aplica de forma líquida sobre la superficie del alimento por medio de diferentes métodos como inmersión, pulverización o filtración (McHugh y Senesi, 2000).

En los últimos años, el interés por el empleo de recubrimientos y películas comestibles ha aumentado a causa de su inocuidad y de las posibilidades que ofrecen como alternativa al uso de recubrimientos poliméricos derivados del petróleo (Sun et al., 2017). Por tanto, los polímeros sintéticos convencionales como el polietileno o el polipropileno están siendo sustituidos progresivamente por polímeros biodegradables, naturales y sostenibles como los polisacáridos, las proteínas y los lípidos (Hosseini et al., 2015). Así, polisacáridos como la hidroxipropilmetilcelulosa o el almidón del maíz, y proteínas lácteas y vegetales como el caseinato de sodio y la proteína de guisante han demostrado poseer características adecuadas como material de base para formular películas comestibles que mantengan la calidad alimentaria y sensorial del producto (Marín et al., 2016). Además, es posible introducir compuestos antioxidantes y antimicrobianos en estas formulaciones, permitiendo de este modo la obtención de películas bioactivas que confieren propiedades beneficiosas adicionales para el producto recubierto (Maniglia et al., 2017).

Entre los polisacáridos más estudiados en esta línea de investigación, el almidón es especialmente interesante debido a su bajo coste y fácil disponibilidad en la naturaleza. El almidón se encuentra principalmente en los cereales, algunas legumbres y tubérculos, presenta estructura granular y está compuesto por dos macromoléculas: amilosa y amilopectina (Cano et al., 2014). Es un material mediante el cual pueden obtenerse películas poliméricas transparentes incoloras e inodoras (Vásconez et al., 2009), con una reducida permeabilidad al oxígeno (Jiménez et al., 2012). Para la obtención de las mismas se hace necesaria la incorporación de agentes plastificantes, que reducen su fragilidad aumentando su flexibilidad. Algunos de los plastificantes más utilizados para la obtención de recubrimientos de almidón son el glicerol, el polietilenglicol y otros polioles como sorbitol, manitol y azúcares (Souza et al., 2012). Algunos autores consideran al glicerol, un polialcohol que se encuentra como glicéridos en grasas animales y vegetales, como el plastificante más adecuado para elaborar películas a base de polímeros solubles en agua (Bertuzzi et al., 2007; Müller et al., 2008).

Por otro lado, las películas de almidón poseen una permeabilidad al vapor de agua relativamente elevada y unas propiedades mecánicas inestables a causa del fenómeno de retrogradación y a su carácter hidrófilo (Wu et al., 2010). Por ello, en las formulaciones a base de almidón, es habitual la incorporación de componentes lipídicos como los tensoactivos con el objetivo de aumentar la barrera al agua y mejorar la flexibilidad de las películas (Villalobos et al., 2006). Los tensoactivos son compuestos provistos de un extremo hidrófilo y otro hidrofóbico. Éstos son de gran interés ya que disminuyen la tensión superficial a medida que aumenta su

concentración gracias a su carácter anfifílico, permitiendo así mejorar la mojabilidad y la estabilidad de las dispersiones (Chen et al., 2009). Uno de los factores más importantes a tener en cuenta cuando se incorporan tensoactivos es el balance hidrófilo-lipófilo (BHL), relacionado con la presencia de grupos polares y apolares en la molécula. Valores bajos de BHL indican que predomina la estructura lipófila, lo cual puede contribuir a mejorar las propiedades barrera al vapor de agua, mientras que valores superiores podrían mejorar la integración de compuestos en la matriz hidrófila (Ortega-Toro et al., 2014).

En general, la efectividad de cada película depende de sus propiedades fisicoquímicas y barrera, a su vez estrechamente relacionadas con su microestructura (Vargas et al., 2008). Por este motivo, previamente a la aplicación de un recubrimiento comestible es importante llevar a cabo un estudio de caracterización de las películas aisladas. Posteriormente, las propiedades se correlacionan con las observadas en el fruto recubierto, que en ciertas ocasiones resultan afectadas por la superficie del fruto. Además, es conveniente analizar la interacción entre la película y el fruto, por lo que la caracterización del fruto recubierto es uno de los análisis de mayor importancia para conocer las propiedades de las películas comestibles (Vargas et al., 2008).

De este modo, los objetivos de este trabajo fueron (1) la formulación y caracterización de dispersiones formadoras de recubrimiento y de películas a base de almidón, estudiando la incorporación de diferentes tensoactivos, y (2) la aplicación de las formulaciones sobre manzana fresca para analizar su efecto sobre distintos aspectos físicos de las mismas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Preparación y caracterización de las dispersiones formadoras de recubrimientos

Se dispersó almidón de maíz pregelatinizado (AM, Quimidroga, Barcelona) al 4% (wt.) en agua desionizada estéril durante 24 horas a 100°C con agitación continua a 750 rpm. Se corrigió la masa de agua perdida durante la dispersión y se adicionó glicerol (Panreac Química, S.L.U., Barcelona) como plastificante en una proporción másica polímero: plastificante de 1:0,25.

Se prepararon cuatro dispersiones formadoras de recubrimientos comestibles (DFR), tres de las cuales incluían un tensoactivo en su formulación, en proporción másica polímero:tensoactivo 1:0,1. En la cuarta formulación no se incorporó tensoactivo. Los tensoactivos utilizados fueron ácido oleico (OA, HLB: 1; Sigma – Aldrich, Madrid), monooleato de sorbitán o Span 80 (S80, HLB: 4,3; Sigma – Aldrich, Madrid) y trioleato polietilenglicol de sorbitán o Tween 85 (T85, HLB: 11; Sigma – Aldrich, Madrid). La

concentración de polímero, así como la de tensoactivo, se seleccionaron en base a estudios previos (Jiménez et al., 2012; Sánchez-González et al., 2009; Sánchez-González et al., 2013). Una vez incorporados los tensoactivos, las dispersiones se homogeneizaron a 13500 rpm durante 4 minutos con un rotor stator ultraturrax (DI25, Janke and Kunkel, Alemania). Las DFR se denominaron como: AM, AM-OA, AM-S80 y AM-T85, y se caracterizaron en las siguientes propiedades:

2.1.1. ÁNGULO DE CONTACTO

El ángulo de contacto (θ) se midió sobre la superficie de piel de manzana. Se depositó una gota de DFR y se analizó la forma de la misma a los 10 segundos con un medidor de ángulo de contacto en vídeo (modelo OCA 20, DataPhysics Instruments GmbH, Filderstadt, Alemania). Los análisis de imágenes (10 réplicas por formulación) se realizaron con el software SCA20.

2.1.2. COMPORTAMIENTO REOLÓGICO

El comportamiento reológico de las DFR se analizó por duplicado a 25°C utilizando un reómetro rotacional modelo HAAKE RheoStress 1 (Thermo Electron Corporation, Karlsruhe, Alemania), equipado con sistema de sensores tipo Z34DIN Ti de cilindros coaxiales. Las curvas de flujo se obtuvieron después de un tiempo de estabilización de 5 min a 25 °C. El esfuerzo cortante (σ) se midió en función de un gradiente de velocidad (γ) de 0 a 512 s⁻¹, con el objetivo de obtener la viscosidad (η) de las dispersiones, el índice de consistencia (K) y el índice de comportamiento de flujo (n). Para la obtención de estos parámetros se utilizaron las ecuaciones del modelo de Ostwald de Waele (ecuación 1 y ecuación 2), uno de los más utilizados para la descripción del comportamiento reológico en fluidos pseudoplásticos (Gómez-Díaz y Navaza, 2004).

$$\sigma = K \cdot \gamma^n \quad (1)$$

$$\eta_{ap} = K \cdot \gamma^{n-1} \quad (2)$$

Donde: σ = esfuerzo cortante (Pa); K = índice de consistencia; γ = gradiente de velocidad (s⁻¹); η_{ap} = viscosidad aparente (Pa·s); n = índice de comportamiento de flujo.

2.1.3. ESTABILIDAD FÍSICA

Para estudiar la estabilidad física de las DFR, éstas se depositaron en probetas de 50 mL y se dejaron en reposo durante 48 horas. Transcurrido ese periodo se revisó el aspecto de las mismas para comprobar la presencia o ausencia de fenómenos de desestabilización como cremado o separación de fases.

2.1.4. TAMAÑO DE PARTÍCULA

El tamaño de partícula de las DFR se analizó por duplicado con un difractómetro láser (Mastersizer 2000, Malvern Instruments, Worcestershire, Reino Unido). Las muestras se diluyeron en agua desionizada, ajustada a pH 7 previamente, a 1800 rpm hasta que se obtuvo una tasa de oscurecimiento del 10%. Se determinó la distribución del tamaño de gota, el diámetro medio de superficie ($D_{3,2}$) (ecuación 3) y el diámetro medio volumétrico ($D_{4,3}$) (ecuación 4).

$$D_{3,2} = \frac{\sum n_i d_i^2}{\sum n_i d_i} \quad (3)$$

$$D_{4,3} = \frac{\sum n_i d_i^3}{\sum n_i d_i^2} \quad (4)$$

Donde: n_i = número de gotas de un determinado intervalo de tamaños; d_i = diámetro de partículas (μm).

2.2. Obtención y caracterización de las películas

Para la obtención de las películas, las DFR se vertieron en placas de teflón de 15 cm de diámetro colocadas sobre una superficie nivelada. En cada placa se vertió la masa de DFR necesaria para mantener constante la masa de polímero por placa (1,5 g), y se secaron a 25°C y 45% HR durante 48 horas. Transcurrido el tiempo de secado, las películas se separaron de las placas utilizando pinzas estériles. Las películas se almacenaron a 25°C durante 7 días en desecadores a 68% HR (con una disolución sobresaturada de nitrato de magnesio, Panreac Química, S.L.U., Barcelona), hasta la realización de los siguientes ensayos de caracterización:

2.2.1. HUMEDAD

El contenido en humedad de las películas equilibradas se determinó con un método gravimétrico en tres etapas, utilizando una balanza analítica (ME36S, Sartorius, Alemania). Pequeños fragmentos de película se depositaron en crisoles y se secaron en una estufa de convección a 100°C durante 24 horas. Después se pasaron a una estufa de vacío a 60°C, donde permanecieron otras 24 horas. Finalmente, se almacenaron en un desecador con pentóxido de fósforo (Panreac Química, S.A. Castellar de Vallés, Barcelona) hasta que alcanzaron masa constante. El contenido en humedad se calculó en porcentaje, tanto en base seca (g agua/100 g película seca) como en base húmeda (g agua/100 g película húmeda).

2.2.2. PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA

La permeabilidad al vapor de agua (WVP) se determinó mediante una modificación del método gravimétrico ASTM E96-95 (McHugh et al., 1993) para un gradiente de humedad 53-100%. Para ello, se recortaron tres muestras circulares de 3,5 cm de diámetro por cada formulación. Las muestras se colocaron sobre copas de aluminio del mismo diámetro (Payne, elcometer SPRL, Hermelle/s Argenteau, Bélgica) rellenas con 5 mL de agua destilada (100% HR), posicionando la cara de la película secada hacia el aire, cara al ambiente (53% HR). Se colocaron dos mordazas y una anilla de caucho con el fin de garantizar la hermeticidad del sistema. Las copas se colocaron en ventiladores con soporte, y éstos se introdujeron en desecadores sobresaturados con una solución de nitrato magnésico (Panreac Química, S.A. Castellar de Vallés, Barcelona), almacenando los desecadores en una cámara Hotcold UL (JP Selecta, Barcelona). A intervalos de 1,5 horas, se controló la masa de las copas utilizando una balanza analítica (ME36S, Sartorius, Alemania) durante 24 horas. La pendiente de la representación de la pérdida de masa frente al tiempo, se dividió entre el área expuesta para calcular la velocidad de transferencia del vapor de agua (WVTR). La presión de vapor de agua en la cara interior de la película (p_2) se calculó con el método empleado por (McHugh et al., 1993), a partir de la ecuación (5).

$$WVTR = \frac{P \cdot D \cdot \ln\left[\frac{(P-p_2)}{(P-p_1)}\right]}{R \cdot T \cdot \Delta z} \quad (5)$$

Donde: P = Presión total (atm); D = Difusividad del agua en aire a 25°C (m^2/s); p_1 = Presión de vapor de agua en la superficie de la solución (atm); p_2 = presión de vapor corregida en la cara interior de la película (atm); R = Constante de los gases ($82,057 \cdot 10^{-3} \text{ m}^3 \text{ atm kmol}^{-1} \text{ K}^{-1}$); T = Temperatura (K); Δz = Altura media del espacio de cabeza (m), considerando su altura inicial y final.

Para el cálculo de la WVP, se utilizó la ecuación (6).

$$WVP = \frac{WVTR}{(p_2 - p_3)} \cdot e \quad (6)$$

Donde: p_3 = presión de vapor de agua en la cara exterior de la película (atm); e = espesor (mm).

2.2.3. PERMEABILIDAD AL OXÍGENO

Para determinar la permeabilidad al oxígeno (OP) de las películas se utilizó un equipo OX-TRAN modelo 2/21 ML Mocon (Lippke, Neuwied, Alemania), mediante el cual se midió en tres muestras recortadas de 50 m^2 por cada formulación a 25°C y 53% HR. De este modo, se determinó la tasa de transferencia de oxígeno (OTR) cada 20 minutos hasta que se alcanzó el

equilibrio. A partir de este valor, se obtuvo la permeabilidad al oxígeno (OP) dividiéndolo por el gradiente de presión de oxígeno a ambos lados de la película y multiplicándolo por el espesor de la misma.

2.3. Aplicación de los recubrimientos en manzana

Para la aplicación de recubrimientos, se utilizaron manzanas var. *Golden delicious* adquiridas en un mercado de Valencia, que se lavaron con agua corriente durante 10 segundos y se dejaron secar durante 24 horas a 25°C y 68% HR. La aplicación del recubrimiento se llevó a cabo de forma manual por mojabilidad, siguiendo el protocolo descrito por Bai et al. (2002). Cada DFR se extendió sobre la superficie de la manzana manualmente empleando guantes de látex inocuos. Las manzanas recubiertas se almacenaron a 25°C y 67% HR, hasta la realización de los siguientes ensayos de caracterización.

2.3.1. DENSIDAD SUPERFICIAL DE SÓLIDOS

La densidad superficial de sólidos (DSS) en cada manzana recubierta se determinó por diferencia de masa antes y después de la aplicación del recubrimiento, utilizando una balanza de precisión (Kern PFB 120-3). Una vez cuantificadas las masas de la manzana recubierta y sin recubrir, se aplicó la ecuación (7):

$$DSS = \frac{(m_R - m_0) \cdot X_{sDFR}}{m_0} \cdot \rho_m \cdot \frac{1}{Se} \quad (7)$$

Donde: m_R = masa de la manzana recubierta (g); m_0 = masa de la manzana sin recubrir; X_{sDFR} = Fracción másica de sólidos en la DFR (g sólidos/g disolución); ρ_m = Densidad de la manzana (g/m^3); Se = Superficie específica de las partículas en la manzana (m^2 partículas/ m^3 manzana). Para la obtención de la superficie específica (Se), se calculó el diámetro de la manzana asimilando su volumen al de una esfera.

2.3.2. FIRMEZA

La firmeza de las manzanas se obtuvo utilizando un texturómetro (TA-Xtplus, Stable Micro Systems, Surrey, Reino Unido) provisto de un punzón de 10 mm de diámetro, a una velocidad de 10 mm/min. Los análisis se llevaron a cabo sobre mitades de manzana pelada, realizando dos punciones por cada mitad de la manzana (cuatro punciones por muestra) hasta una distancia de penetración de 10 mm. El ensayo se hizo en 5 manzanas por formulación, así como en 5 manzanas control sin recubrir, tanto después de una semana como después de dos semanas de la aplicación. Se registró la fuerza máxima (N) necesaria para romper cada muestra, así como la distancia (mm) a la que se aplicaba esta fuerza.

2.3.3. PÉRDIDA DE MASA

Para determinar el valor de pérdida de masa, se utilizaron 5 manzanas recubiertas para cada una de las DFR y, además, 5 manzanas control sin recubrir. Se llevó a cabo un seguimiento de la masa de las manzanas cada 2 días con una balanza de precisión (Kern PFB 120-3) a condiciones controladas de almacenamiento (25°C, 67% HR) durante 20 días. La pérdida de masa (g) se refirió a la masa inicial, y finalmente los resultados se expresaron como velocidad de pérdida de masa (días⁻¹).

2.3.4. TASA DE RESPIRACIÓN

La tasa de respiración de las manzanas se midió en 4 manzanas por formulación, utilizando el equipo CheckMate 9900 PBI (Dansensor, S.L.U., España). Como control se consideraron 4 manzanas sin recubrir. En cada caso, las manzanas se introdujeron en botes de vidrio cerrados y se monitorizó la concentración de oxígeno y dióxido de carbono en cada bote a intervalos de 30 minutos durante 3 horas. La velocidad de respiración de las muestras en términos de generación de CO₂ y consumo de O₂ se determinó a partir de la pendiente de la ecuación lineal ajustada, mediante la ecuación (8).

$$y_{it} = y_{i0} \pm 100 \cdot R_i \cdot \frac{M}{V} \cdot t \quad (8)$$

Donde: y_{it} = concentración de gas a tiempo t ; y_{i0} = concentración de gas inicial; R_i = velocidad de respiración (mL/kg·min); M = masa de las muestras (kg); V = volumen del espacio de cabeza (mL); t = tiempo (min).

También se determinó el cociente de respiración (RQ) determinado como la relación entre la producción de CO₂ y el consumo de O₂.

2.4. Análisis estadístico

Los resultados se analizaron por medio de un ANOVA con un nivel de significación del 95% y empleando para las comparaciones múltiples el test LSD. Los cálculos se realizaron con el Software STATGRAPHICS Centurion XVII - X64.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización de las dispersiones formadoras de recubrimiento

3.1.1. ÁNGULO DE CONTACTO

La tabla 1 muestra los resultados del ángulo de contacto de las DFR sobre la superficie de piel de manzana (θ). En todos los casos se obtuvieron valores suficientemente inferiores a 90°, por lo que puede afirmarse que

todas las DFR serían capaces de humectar la superficie del fruto. No se observaron variaciones estadísticamente significativas ($p < 0,05$) debidas a la presencia de tensoactivos en la proporción ensayada.

TABLA 1. Resultados de ángulo de contacto θ ($^\circ$), diámetro medio volumétrico $D_{4,3}$ (μm), diámetro medio superficial $D_{3,2}$ (μm), viscosidad aparente a 100 s^{-1} η ($\text{mPa}\cdot\text{s}$), índice de comportamiento de flujo n e índice de consistencia K para las diferentes DFR.

Película	AM	AM-OA	AM-S80	AM-T85
θ ($^\circ$)	67 (7) ^a	64 (7) ^a	66 (6) ^a	66 (5) ^a
$D_{4,3}$ (μm)	13,022 (0,433) ^c	12,283 (0,041) ^b	11,938 (0,013) ^a	12,093 (0,015) ^{ab}
$D_{3,2}$ (μm)	7,486 (0,007) ^d	6,778 (0,013) ^b	6,309 (0,002) ^a	6,838 (0,005) ^c
η ($\text{mPa}\cdot\text{s}$) a 100s^{-1}	14 (3) ^a	25,9 (1,1) ^b	16,40 (0,06) ^a	66,6 (0,9) ^c
n	0,88 (0,07) ^b	0,59 (0,05) ^a	0,7726 (0,0009) ^b	0,494 (0,004) ^a
K	0,027 (0,013) ^a	0,17 (0,05) ^b	0,0467 (0,0004) ^a	0,69 (0,02) ^c

Distintos superíndices (^{a, b, c}) indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre formulaciones.

3.1.2. COMPORTAMIENTO REOLÓGICO

La figura 1 muestra las curvas de flujo correspondientes a las cuatro dispersiones elaboradas, y la tabla 1 muestra los parámetros del ajuste al modelo de Ostwald de Waele, así como la viscosidad aparente a 100 s^{-1} . Todas las formulaciones tuvieron un comportamiento de fluido pseudoplástico, como también puede deducirse de los valores del índice de comportamiento al flujo (tabla 1), en todos los casos inferior a 1. La formulación con ácido oleico (AM-OA) mostró cierta tixotropía en su comportamiento, con una pequeña área de histéresis (figura 1).

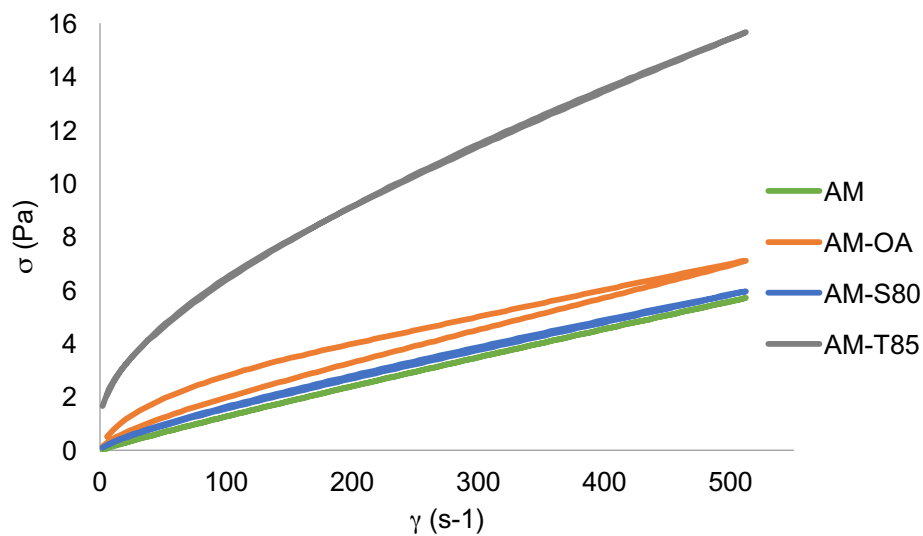


FIGURA 1. Curvas de flujo de las DFR.

La formulación AM-T85 tuvo los valores más elevados de viscosidad para un valor de gradiente 100 s^{-1} , seguida de la dispersión AM-OA. Por otro lado, no hubieron diferencias significativas ($p < 0,05$) en los parámetros reológicos de las dispersiones AM y AM-S80, las cuales tuvieron las menores viscosidades.

3.1.3. ESTABILIDAD

La figura 2 muestra el aspecto de las DFR después de 48 horas de reposo en probetas, donde puede comprobarse la homogeneidad de las mismas, puesto que no se observó cremado ni separación de fases. Esto demuestra que las DFR eran estables físicamente en la escala de tiempo ensayada.

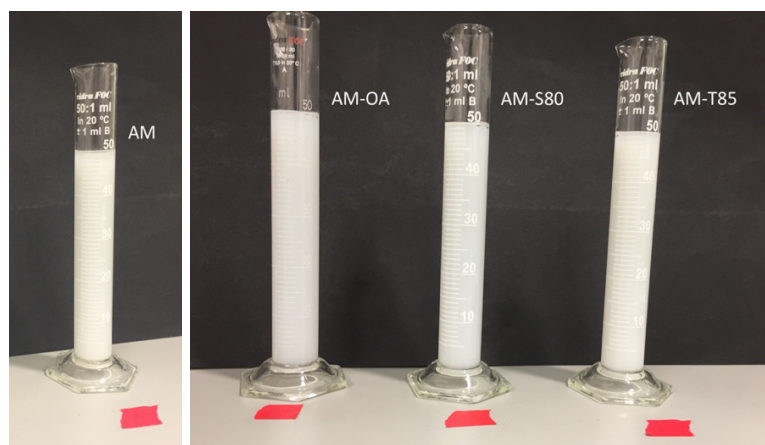


FIGURA 2. DFR tras 48 horas de reposo. AM: dispersión almidón de maíz sin tensoactivo. AM-OA: dispersión con ácido oleico. AM-S80: dispersión con Span 80. AM-T85: dispersión con Tween 85.

3.1.4. TAMAÑO DE PARTÍCULA

En la tabla 1 se muestran los diámetros medios de las partículas ($D_{4,3}$ y de superficie $D_{3,2}$) de las dispersiones. La figura 3 ilustra la distribución de tamaños obtenida para las DFR.

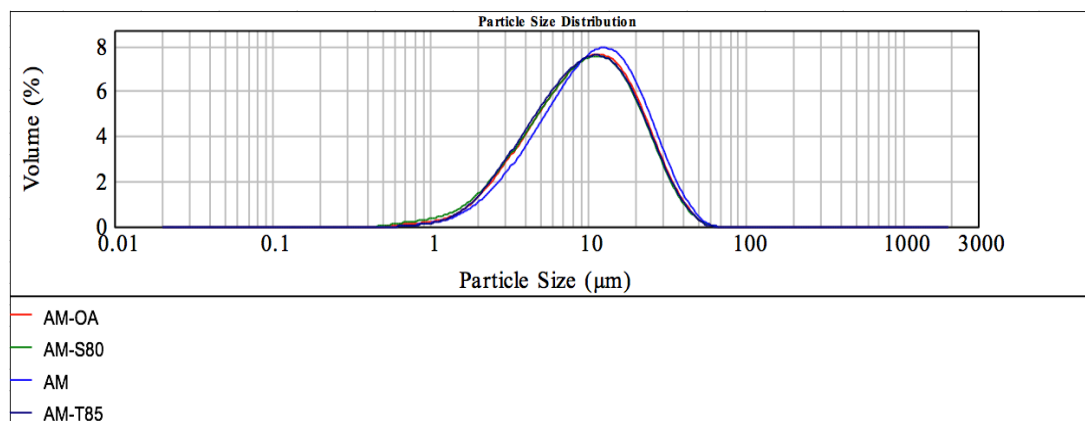


FIGURA 3. Distribución del tamaño de partícula para cada DFR. AM: dispersión sin tensoactivo. AM-OA: dispersión con ácido oleico. AM-S80: dispersión con Span 80. AM-T85: dispersión con Tween 85.

Como muestra la figura 3, la distribución de tamaños fue similar para todas las dispersiones, coherentemente con las pequeñas variaciones de los diámetros promedios debidas a la presencia de tensoactivos. La formulación AM, a pesar de no contener tensoactivos, mostró la presencia de partículas. Éstas corresponderían a agregados de cadenas de amilosa, asociadas entre sí principalmente por puentes de hidrógeno. Se observó un ligero efecto de reducción de los diámetros promedio por la incorporación de tensoactivos, lo que podría atribuirse a cierto grado de agregación de los tensoactivos con el almidón. Las hélices de amilosa generan en su interior un entorno hidrofóbico donde se ubicaría la cola apolar de los tensoactivos incorporados, generándose una ligera reducción del tamaño de los agregados. Esto es coherente con los resultados de Chin et al. (2011), en los que la incorporación de tensoactivos en dispersiones de almidón redujo el tamaño de partícula de las mismas.

3.2 Caracterización de las películas

3.2.1. HUMEDAD

En la tabla 2 se muestran los resultados obtenidos para la humedad de las películas equilibradas, tanto en base seca como en base húmeda. No se encontraron diferencias significativas debidas a la presencia de tensoactivos ($p < 0,05$), aunque sí se observó cierta tendencia al descenso de la humedad por la incorporación de tensoactivos, especialmente Tween 85. Esta tendencia es coherente con el aumento del carácter hidrofóbico de la película debido a la presencia de lípidos. Es interesante que, de los tres

tensoactivos ensayados, es precisamente T85 el que menores valores de humedad mostró, a pesar de ser el de mayor BHL (mayor carácter hidrofílico). Esto sugiere que no sólo el balance hidrófilo-lipófilo determina la afinidad de las películas por el agua, y por tanto su contenido en humedad, sino también las interacciones específicas almidón-tensoactivo-agua en la estructura de las películas.

TABLA 2. Humedad en base seca (g agua/100 g película seca) y base húmeda (g agua/100 g película húmeda), permeabilidad al vapor de agua WVP ((g/Pa·s·m)·10⁹) y permeabilidad al oxígeno OP ((cm³/Pa·s·m)·10¹¹) para las diferentes películas.

Película	% Humedad (b.s.)	% Humedad (b.h.)	WVP (g/Pa·s·m)·10 ⁹	OP (cm ³ /Pa·s·m)·10 ¹¹
AM	23,1 (3,0) ^a	18,7 (2,0) ^a	44,8 (5,3) ^b	12,1 (0,9) ^a
AM-OA	20,8 (5,0) ^a	17,1 (3,4) ^a	27,0 (2,2) ^a	17,9 (1,4) ^b
AM-S80	19,1 (0,6) ^a	16,1 (0,4) ^a	24,0 (3,6) ^a	20,6 (1,2) ^{bc}
AM-T85	17,9 (0,9) ^a	15,2 (0,7) ^a	21,1 (1,3) ^a	22,9 (1,8) ^c

Distintos superíndices (^{a, b, c}) indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre formulaciones.

3.2.2. PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA

La presencia de tensoactivos tuvo un efecto significativo sobre las propiedades barrera de las películas (tabla 2). Las películas AM, sin tensoactivo, presentaron la mayor permeabilidad al vapor de agua, de tal modo que la incorporación de tensoactivos se tradujo en una mejora de las propiedades barrera. Este efecto es coherente con estudios previos (Chen et al., 2009; Ortega-Toro et al., 2014), donde la incorporación de tensoactivos a películas de almidón redujo su WVP. Esta reducción es probablemente debida al carácter anfifílico de los tensoactivos, cuyo componente lipídico favorecería la reducción de WVP.

3.2.3 PERMEABILIDAD AL OXÍGENO

Una de las grandes ventajas del empleo de almidón para la obtención de películas biodegradables es su capacidad para actuar como barrera al oxígeno (Chen et al., 2009; Wu et al., 2010). La incorporación de tensoactivos tuvo un impacto negativo sobre la OP de las películas (tabla 2), coherentemente con los cambios observados en WVP. Este efecto parece estar de nuevo relacionado con el carácter parcialmente hidrofóbico de los tensoactivos, que reducirían las propiedades barrera al oxígeno por tratarse de compuestos con cierto carácter apolar (Fabra et al., 2008). Estudios anteriores con películas de almidón y tensoactivos mostraron resultados en el mismo sentido (Ortega-Toro et al., 2014).

3.3. Aplicación de los recubrimientos en manzana

3.3.1. DENSIDAD SUPERFICIAL DE SÓLIDOS

La tabla 3 muestra los resultados de la densidad superficial de sólidos (DSS) aplicados sobre la superficie de las manzanas. Esta se vio significativamente afectada por la presencia de tensoactivos en las formulaciones ($p < 0,05$). Fue superior en las muestras sin tensoactivo y con Tween 85. Los resultados obtenidos son contradictorios con Villalobos-Carvajal et al. (2009) quien afirma que la presencia de tensoactivos con un valor de BHL reducido en dispersiones acuosas aumenta notablemente la DSS.

TABLA 3. DSS (g/m^2), velocidad de pérdida de masa (días^{-1}), velocidad de consumo de O_2 y de producción de CO_2 ($\text{mL/kg}\cdot\text{h}$), cociente de respiración (RQ) y fuerza máxima de punción (N), distancia hasta la máxima fuerza de función (mm) y relación fuerza–distancia (N/mm) para las manzanas recubiertas con diferentes dispersiones y sin recubrir (control).

Película	Control	AM	AM-OA	AM-S80	AM-T85
DSS (g/m^2)	-	3,5 (0,5) ^{bc}	2,8 (0,5) ^a	3,0 (0,3) ^{ab}	3,7 (0,3) ^c
V. pérdida de masa (días^{-1})	-0,3268	-0,3033	-0,2891	-0,2627	-0,2759
V. consumo O_2 ($\text{mL/kg}\cdot\text{h}$)	-1,6 (0,5) ^{ab}	-2,3 (0,4) ^a	-1,7 (0,2) ^{ab}	-1,3 (0,4) ^b	-1,38 (0,07) ^b
V. producción CO_2 ($\text{mL/kg}\cdot\text{h}$)	1,7 (0,3) ^a	2,8 (0,5) ^b	2,0 (0,4) ^{ab}	1,64 (0,10) ^a	1,673 (0,019) ^a
RQ	1,08 (0,12) ^a	1,222 (0,009) ^a	1,20 (0,08) ^a	1,3 (0,3) ^a	1,21 (0,08) ^a
Fmáx (N) inicial	26 (9) ^{a1}	26 (9) ^{a1}	26 (9) ^{a1}	26 (9) ^{a1}	26 (9) ^{a1}
Fmáx (N) Semana 1	36 (3) ^{a2}	40 (6) ^{b2}	35 (7) ^{a2}	37 (7) ^{a2}	38 (7) ^{a2}
Fmáx (N) Semana 2	28 (11) ^{a1}	37 (10) ^{b2}	38 (7) ^{b2}	42 (7) ^{b2}	36 (6) ^{b2}
Distancia (mm) inicial	3 (1) ^{a1}	3 (1) ^{a1}	3 (1) ^{a1}	3 (1) ^{a1}	3 (1) ^{a1}
Distancia (mm) Semana 1	4 (1) ^{a1}	4 (2) ^{a1}	4 (1) ^{a1}	4 (2) ^{a1}	4 (1) ^{a1}
Distancia (mm) Semana 2	3 (1) ^{a1}	5 (1) ^{b1}	5 (1) ^{b1}	4 (1) ^{ab1}	5 (1) ^{b1}

Distintos superíndices (^{abc}) indican diferencias significativas ($p < 0,05$) debidas al recubrimiento aplicado.

Distintos superíndices (¹²³) indican diferencias significativas ($p < 0,05$) debidas al tiempo de almacenamiento.

3.3.2. FIRMEZA

En la tabla 3 se muestran los resultados de firmeza en función del tipo de recubrimiento y el tiempo de almacenamiento. El recubrimiento aplicado tuvo un efecto significativo sobre la fuerza máxima de punción en función del tiempo, obteniéndose un valor similar entre la primera y segunda semana, a diferencia de las muestras control, cuya fuerza máxima de punción se redujo significativamente con el paso del tiempo. Respecto a la distancia a la que se alcanza la fuerza máxima de punción (punto de fractura), no se encontraron diferencias significativas entre las muestras.

3.3.3. PÉRDIDA DE MASA

En la figura 4 se muestra la pérdida de masa de las manzanas recubiertas y no recubiertas (control) durante 20 días de almacenamiento, y en la tabla 3 se pueden consultar los correspondientes valores de las pendientes (días^{-1}). Se observó un ligero efecto de la presencia de los recubrimientos sobre el mantenimiento de la masa de los frutos, así como cierto efecto positivo de la incorporación de tensoactivos en los recubrimientos. Probablemente, el efecto de reducción de WVP debido a la adición de tensoactivos en las formulaciones tuvo cierto impacto en el transporte de humedad a través de los mismos, lo que tuvo como consecuencia una menor pérdida de humedad por parte de las manzanas durante el almacenamiento. Las películas que mostraron los valores más bajos de WVP (AM-S80 y AM-T85), corresponden a las formulaciones con menor velocidad de pérdida de masa (Tabla 3, Figura 4).

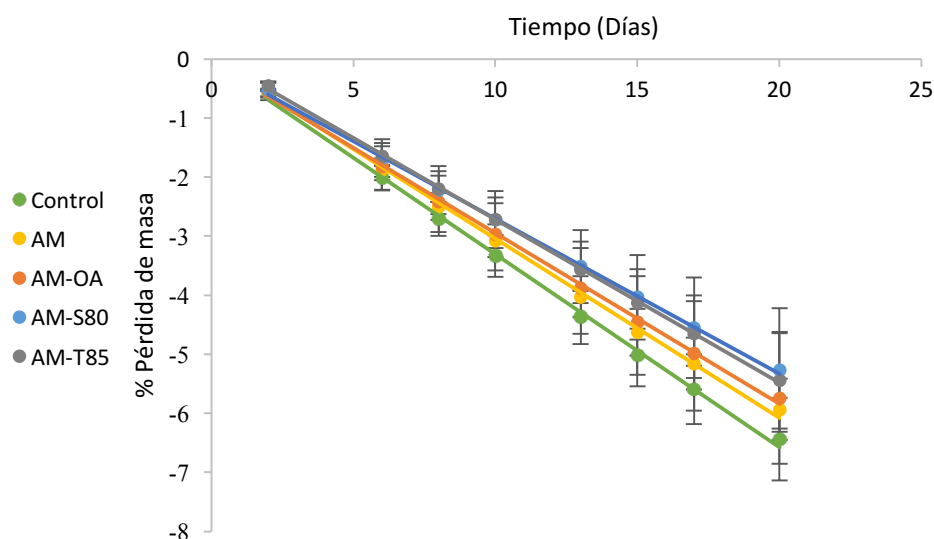


FIGURA 4. Pérdida de masa de manzanas recubiertas con cada dispersión y sin recubrir (control) durante 20 días de almacenamiento. AM: dispersión sin tensoactivo. AM-OA: dispersión con ácido oleico. AM-S80: dispersión con Span 80. AM-T85: dispersión con Tween 85.

3.3.4. TASA DE RESPIRACIÓN

La aplicación del recubrimiento AM (sin tensoactivos), en comparación con las manzanas control sin recubrir, tuvo un efecto de aceleración de la respiración, tanto para el consumo de O_2 y como para la generación de CO_2 (Tabla 3). Este efecto podría atribuirse al estrés sufrido por la fruta por efecto de la presencia del recubrimiento, que acelera el intercambio de gases con el ambiente. Por otro lado, las manzanas recubiertas con AM-S80 y AM-T85 mostraron unas velocidades de consumo de O_2 y de generación de CO_2 inferiores a aquéllas recubiertas con AM y AM-OA, y similares a las de las manzanas control sin recubrir, a pesar del limitado poder barrera a los gases de las correspondientes películas. Por lo tanto, puede concluirse que la incorporación de estos dos tensoactivos en la formulación de almidón tiene un papel positivo sobre la respiración de la fruta, compensándose el efecto negativo de la aplicación del recubrimiento.

En cuanto al RQ, no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, por lo que se puede concluir que la aplicación de los recubrimientos ensayados no tuvo un efecto destacable sobre la fisiología del fruto.

4. CONCLUSIONES

Todas las DFR mostraron buena estabilidad física y mojabilidad sobre la superficie de la manzana. Además todas tuvieron comportamiento pseudoplástico, con cierta tixotropía en el caso de AM-S80 y siendo AM-T85 la más viscosa. Respecto al tamaño de partícula de las dispersiones, la incorporación de tensoactivos supuso una ligera reducción.

La incorporación de tensoactivos influyó significativamente en las propiedades barrera de las películas, produciéndose un descenso de la permeabilidad al agua y un incremento en la permeabilidad al oxígeno, coherentemente con el carácter hidrofóbico de los lípidos.

Las manzanas recubiertas con AM-S80 y AM-T85 mostraron los menores valores de pérdida de masa durante el almacenamiento, así como las menores tasas de respiración entre las muestras recubiertas, por lo que cabría esperar una extensión de la vida útil en estos casos. Además, las manzanas con recubrimiento mantuvieron una mayor firmeza durante 2 semanas que las manzanas sin recubrir.

En investigaciones futuras podría considerarse como variable el aspecto del fruto, sus propiedades sensoriales y el deterioro microbiológico de la manzana recubierta, con el fin de estudiar el parámetro limitante de la vida útil de la manzana, y el efecto de los recubrimientos sobre la misma.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Lorena y Amparo por darme la oportunidad de realizar este trabajo.

A Anna, por su paciencia y dedicación durante todo este tiempo, sin ella hubiera sido imposible llevar a cabo este trabajo.

A mis padres, hermanos y amigos, que me apoyaron en todo momento.

REFERENCIAS

- Bai, J.; Baldwin, E. A.; Hagenmaier, R. H. 2002. Alternatives to shellac coatings provide comparable gloss, internal gas modification, and quality for 'Delicious' apple fruit. *HortScience*, **37(3)**:559-563.
- Bertuzzi, M. A.; Vidaurre, E. C.; Armada, M.; Gottifredi, J. C. 2007. Water vapor permeability of edible starch based films. *Journal of food engineering*, **80(3)**:972-978.
- Cano, A.; Jiménez, A.; Cháfer, M.; González, C.; Chiralt, A. 2014. Effect of amylose: amylopectin ratio and rice bran addition on starch films properties. *Carbohydrate polymers*, **111**:543-555.
- Chen, C. H.; Kuo, W. S.; Lai, L. S. 2009. Effect of surfactants on water barrier and physical properties of tapioca starch/decolorized hsian-tsoo leaf gum films. *Food Hydrocolloids*, **23(3)**:714-721.
- Chin, S. F.; Pang, S. C.; Tay, S. H. 2011. Size controlled synthesis of starch nanoparticles by a simple nanoprecipitation method. *Carbohydrate Polymers*, **86(4)**:1817-1819.
- Costa, F.; Stella, S.; Van de Weg, W. E.; Guerra, W.; Cecchinell, M.; Dallavia, J.; Sansavini, S. 2005 Role of the genes Md-ACO1 and Md-ACS1 in ethylene production and shelf life of apple (*Malus domestica* Borkh). *Euphytica*, **141(1)**:181-190.
- Fabra, M.J.; Talens, P.; Chiralt, A. 2008. Tensile properties and water vapor permeability of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures. *Journal of Food Engineering*, **85(3)**:393-400.
- Gómez-Díaz, D.; Navaza, J. M. 2004. Rheology of food stabilizers blends. *Journal of food engineering*, **64(2)**:143-149.
- Hosseini, S. F.; Rezaei, M.; Zandi, M.; Farahmandghavi, F. 2015. Bio-based composite edible films containing *Origanum vulgare* L. essential oil. *Industrial Crops and Products*, **67**:403-413.
- Jiménez, A.; Fabra, M. J.; Talens, P.; Chiralt, A. 2012. Edible and biodegradable starch films: a review. *Food and Bioprocess Technology*, **5(6)**:2058-2076.
- Maniglia, B. C.; Tessaro, L.; Lucas, A. A.; Tapia-Blácido, D. R. 2017. Bioactive films based on babassu mesocarp flour and starch. *Food Hydrocolloids*, **70**:383-391.
- Marín, A.; Cháfer, M.; Atarés, L.; Chiralt, A.; Torres, R.; Usall, J.; Teixidó, N. 2016. Effect of different coating-forming agents on the efficacy of the biocontrol agent *Candida sake* CPA 1 for control of *Botrytis cinerea* on grapes. *Biological Control*, **96**:108-119.

- McHugh, T.H.; Avena-Bustillos, R.; Krochta, J.M. 1993. Hydrophobic edible films: Modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *Journal of Food Science*. **58(4)**:899–903.
- McHugh, T. H.; Senesi, E. 2000. Apple wraps: A novel method to improve the quality and extend the shelf life of fresh- cut apples. *Journal of Food Science*, **65(3)**:480-485.
- Müller, C. M.; Yamashita, F.; Laurindo, J. B. 2008. Evaluation of the effects of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier properties of cassava starch films through a solubility approach. *Carbohydrate Polymers*, **72(1)**:82-87.
- Ortega-Toro, R.; Jiménez, A.; Talens, P.; Chiralt, A. 2014. Effect of the incorporation of surfactants on the physical properties of corn starch films. *Food Hydrocolloids*, **38**:66-75.
- Sánchez-González, L.; Vargas, M.; González-Martínez, C.; Chiralt, A.; Cháfer, M. 2009. Characterization of edible films based on hydroxypropylmethylcellulose and tea tree essential oil. *Food Hydrocolloids*, **23(8)**:2102-2109.
- Sánchez-González, L.; Quintero Saavedra, J. I.; Chiralt, A. 2013. Physical properties and antilisterial activity of bioactive edible films containing *Lactobacillus plantarum*. *Food Hydrocolloids*, **33(1)**:92-98.
- Souza, A. C.; Benze, R. F. E. S.; Ferrão, E. S.; Ditchfield, C.; Coelho, A. C. V.; Tadini, C. C. 2012. Cassava starch biodegradable films: Influence of glycerol and clay nanoparticles content on tensile and barrier properties and glass transition temperature. *LWT-Food Science and Technology*, **46(1)**:110-117.
- Sun, L.; Sun, J.; Chen, L.; Niu, P.; Yang, X.; Guo, Y. 2017. Preparation and characterization of chitosan film incorporated with thinned young apple polyphenols as an active packaging material. *Carbohydrate Polymers*, **163**:81-91.
- Vargas, M.; Pastor, C.; Chiralt, A.; McClements, D. J.; Gonzalez-Martinez, C. 2008. Recent advances in edible coatings for fresh and minimally processed fruits. *Critical reviews in food science and nutrition*, **48(6)**:496-511.
- Vásconez, M. B.; Flores, S. K.; Campos, C. A.; Alvarado, J.; Gerschenson, L. N. 2009. Antimicrobial activity and physical properties of chitosan–tapioca starch based edible films and coatings. *Food Research International*, **42(7)**:762-769.
- Villalobos, R.; Hernández-Muñoz, P.; Chiralt, A. 2006. Effect of surfactants on water sorption and barrier properties of hydroxypropyl methylcellulose films. *Food Hydrocolloids*, **20(4)**:502-509.
- Villalobos-Carvajal, R.; Hernández-Muñoz, P.; Albors, A.; Chiralt, A. 2009. Barrier and optical properties of edible hydroxypropyl methylcellulose coatings containing surfactants applied to fresh cut carrot slices. *Food Hydrocolloids*, **23(2)**:526-535.
- Wu, H.; Liu, C.; Chen, J.; Chen, Y.; Anderson, D. P.; Chang, P. R. 2010. Oxidized pea starch/chitosan composite films: Structural characterization and properties. *Journal of applied polymer science*, **118(5)**:3082-3088.