



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



# UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

## ***RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES A BASE DE ALMIDÓN Y GOMA DE GELANO PARA LA CONSERVACIÓN POSTCOSECHA DE MANZANA***

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

ALUMNO:  
DIEGO PAUTA LUNA

TUTORA ACADÉMICA:  
AMPARO CHIRALT

DIRECTORA EXPERIMENTAL:  
MAYRA SAPPER

*Curso Académico: 2017-2018*

VALENCIA, FEBRERO DE 2018

# RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES A BASE DE ALMIDÓN Y GOMA DE GELANO PARA LA CONSERVACIÓN POSTCOSECHA DE MANZANA

Diego Pauta Luna, Mayra Sapper, Amparo Chiralt<sup>1</sup>

## RESUMEN

Se han desarrollado 5 formulaciones de recubrimientos comestibles a base de mezclas de almidón de yuca y goma de gelano en proporción 80:20 con y sin 25 % (respecto al polímero) de aceite esencial de tomillo (*Thymus zygis*), incorporado mediante emulsificación directa o encapsulación previa en liposomas de lecitina. Se han caracterizado la estabilidad y tamaño de partícula de las dispersiones y su comportamiento reológico, así como las propiedades de barrera al vapor de agua y al oxígeno de los films aislados. En su aplicación en manzanas, se ha cuantificado la densidad superficial de sólidos en la superficie de la manzana, la velocidad de pérdida peso de los frutos y su tasa respiratoria, así como la firmeza de las frutas después de dos semanas de almacenamiento. El aceite esencial, emulsionado, y sobre todo encapsulado en lecitina, redujo la capacidad de adsorción de agua y permeabilidad al vapor de agua de los films, que presentaron muy baja permeabilidad al oxígeno. No obstante estos efectos no se reflejaron de forma notable en su aplicación en manzanas. Los recubrimientos tuvieron una efectividad limitada en cuanto al control de la pérdida de peso y la tasa de respiración, aunque se observó una ligeramente mejor preservación de la firmeza en las frutas recubiertas con las formulaciones con menor ángulo de contacto y menor permeabilidad al vapor de agua, como la mezcla almidón-gelano y aceite esencial encapsulado en lecitina.

**PALABAS CLAVE:** recubrimientos comestibles, almidón, gelano, aceite esencial de tomillo, manzana, liposomas.

## RESUM

S'han desenvolupat 5 formulacions de recobriments comestibles a base de mesclades de midó d'yuca i goma de gelano en proporció 80:20 amb i sense 25 % (respecte al polímer) d'oli essencial de timó (*Thymus zygis*), incorporat per mitjà d'emulsificació directa o encapsulació prèvia en liposomes de lecitina. S'han caracteritzat l'estabilitat i grandària de partícula de les dispersions i el seu comportament reològic, així com les propietats de barrera al vapor d'aigua i a l'oxigen dels films aïllats. En la seua aplicació en pomes, s'ha quantificat la densitat superficial de sòlids en la superfície de la poma, la velocitat de pèrdua pes dels fruits i la seua taxa respiratòria, així com la fermesa de les fruites després de dos setmanes d'emmagatzemament. L'oli essencial, emulsionat, i sobretot encapsulat en lecitina, va reduir la capacitat d'adsorció d'aigua i permeabilitat al vapor d'aigua dels films, que van presentar molt baixa permeabilitat a l'oxigen. No obstant, estos

---

<sup>1</sup> Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo. Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, España

efectes no es van reflectir de forma notable en la seua aplicació en pomes. Els recobriments van tindre una efectivitat limitada quant al control de la pèrdua de pes i la taxa de respiració, encara que es va observar una lleugerament millor preservació de la fermesa en les fruites recobertes amb les formulacions amb menor angle de contacte i menor permeabilitat al vapor d'aigua, com la mescla almidón-gelano i oli essencial encapsulat en lecitina.

PARAULES CLAU: recobriments comestibles, midó, gelano, oli essencial de timó, poma, liposomes.

## ABSTRACT

Five formulations of edible coatings were developed based on mixtures of cassava starch and gellan gum at 80:20 ratio, with and without 25% (with respect to the polymer) of thyme essential oil (*Thymus zygis*), incorporated by direct emulsification or previous encapsulation in lecithin liposomes. The stability and particle size of the dispersions and their rheological behavior, as well as the barrier properties to water vapor and oxygen of the isolated films, were characterized. In their application to apples, the surface density of solids, the weight loss, the respiration rate, as well as the firmness of the fruits after two weeks of storage, were quantified. The essential oil, emulsified, and especially encapsulated in lecithin, reduced the capacity of water adsorption and the water vapor permeability of the films, which showed very low oxygen permeability. However, these effects were not reflected in their application to apples. The coatings had limited effectiveness at controlling the weight loss and respiration rate, although a slightly better firmness preservation was observed in fruits coated with formulations with lower contact angle and lower water vapor permeability, such as the starch-gellan mixture with encapsulated essential oil.

KEYWORDS: edible coatings, starch, gellan, thyme essential oil, apple, liposomes.

## INTRODUCCIÓN

Uno de los grandes desafíos de la fruticultura es garantizar la calidad de las materias primas, reduciendo las pérdidas pre y postcosecha, con políticas medio ambientales sostenibles y desarrollando métodos alternativos a los actualmente aplicados, como la aplicación de recubrimientos activos a base de biopolímeros naturales, como polisacáridos, proteínas y lípidos o compuestos conservantes naturales (Hosseini et al., 2015). Los recubrimientos a base polisacáridos o proteínas con aceites esenciales, que han demostrado poseer un efecto antibacteriano y antifúngico (Atarés y Chiralt et al., 2016) son una alternativa prometedora para la conservación de frutas y vegetales. Los aceites esenciales, o sus componentes, presentan una alta volatilidad, y su aplicación directa se dificulta, además, por sus potenciales efectos citotóxicos y difícil dosificación. Su encapsulación en matrices poliméricas biodegradables supone una alternativa para mejorar la eficiencia y eficacia de su aplicación con efectos antimicrobianos, permitiendo el ajuste de la dosificación, la reducción de costes y la mejora de la adherencia en la superficie vegetal. Además, los recubrimientos con matrices biopoliméricas tienen la capacidad de alargar la vida útil de las frutas o vegetales, reduciendo su tasa de respiración y transpiración, y retardando su senescencia. De esta forma, ralentizan el deterioro rápido asociado a las pérdidas de peso, cambios de color y pérdidas en la textura de las de frutas en condiciones de post-cosecha. Una de las causas más relevantes de deterioro está asociada también al ataque fúngico, principalmente generado por hongos de la especie *Penicillium*, *Botrytis*, *Monilia*, y otros (Martínez Romero et al., 2006; Castillo et al., 2010).

Los polisacáridos como el almidón de maíz o la hidroxipropilmetilcelulosa y proteínas lácteas y vegetales como el caseinato de sodio y la proteína de guisante, han demostrado poseer características adecuadas como materiales para formular películas comestibles, que mantengan la calidad fisicoquímica y sensorial de las frutas (Marín et al., 2016). Entre los diferentes biopolímeros, el almidón es una opción interesante por ser un producto renovable, de gran disponibilidad, bajo coste y presentar características termoplásticas, lo que permite también su procesado mediante los métodos convencionales de los materiales plásticos. El almidón 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 (Vasconez et al., 2009), con baja permeabilidad al oxígeno (Ortega-Toro et al., 2015). No obstante, presenta algunas limitaciones en su aplicación, como su fuerte carácter hidrofílico y escaso poder barrera al vapor de agua y pobres propiedades mecánicas, comparado con los polímeros sintéticos convencionales (Teixeira et al., 2009). Esto limita su uso en el recubrimiento o envasado de alimentos y la mejora de sus características es un factor importante.

Se han utilizado diferentes métodos para mejorar las limitaciones del almidón. Entre ellas, la modificación química, la plastificación o la mezcla con otros polímeros y/o aditivos. En cuanto a los plastificantes, deben ser compatibles con el polímero generando una mezcla homogénea sin separación de fases (Mali et al., 2002) y al incluirse en la matriz, mejorar las propiedades mecánicas y térmicas del polímero. (Lee et al., 2004; Kim et al., 2015) observaron una mejora en las propiedades mecánicas de películas de almidón mediante su mezcla con goma de gelano y gelatina, respectivamente. La incorporación de goma de gelano en films

de almidón supuso mejoras significativas en las propiedades mecánicas y de barrera (Xiao et al., 2011; Kim, et al., 2015). La goma de gelano se obtiene por fermentación microbiana de *Sphingomonas elodea* o *Pseudomonas elodea*, tiene una estructura lineal, posee carga negativa y es un exopolisacárido (1-4). La estructura molecular de esta goma es en forma de molécula lineal, compuesta por uniones de monómeros como la glucosa, ácido glucurónico y la ramnosa, en proporción 2:1:1 (Zia et al., 2017). Recubrimientos a base de alginato y goma de gelano mejoraron las características de textura de papaya cortada (Tapia et al., 2008). De igual manera, su aplicación en manzanas cortadas mostró una reducción de los procesos de pardeamiento y pérdida de agua (Rojas-Grau et al., 2007).

Los extractos de plantas o aceites esenciales poseen poder antifúngico asociado a sus terpenoides fenólicos. El aceite esencial de tomillo tiene probada actividad antifúngica, siendo sus componentes principales timol (51,34 %) y carvacrol (3,7 %), y sus compuestos precursores, p-cimeno (35,16 %) y  $\gamma$ -terpineno (3,53 %). La inhibición del crecimiento micelar en algunos hongos fitopatógenos y de post-cosecha fue próximo al 100 %, para concentraciones del aceite de 300  $\mu\text{g/mL}$  (Marqués et al., 2015). Marchese et al. (2016) revisaron las propiedades antibacterianas y antifúngicas del timol, encontrando acción antifúngica contra hongos del género *Aspergillus*, *Cladosporium* y *Trichoderma viride*.

En general, la efectividad de un recubrimiento depende de sus propiedades de extensibilidad sobre el fruto y sus propiedades de barrera, a su vez estrechamente relacionadas con su microestructura (Vargas et al., 2008). Por este motivo, previamente a la aplicación de un recubrimiento es importante llevar a cabo un estudio de caracterización de las películas aisladas. Posteriormente, estas propiedades se podrán correlacionar con su funcionalidad en el fruto recubierto, que puede resultar afectada, a su vez, por las interacciones con la superficie del fruto. Por tanto, es necesario analizar la interacción particular entre recubrimiento y fruto, mediante la caracterización específica de la evolución del fruto recubierto (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 films a base de almidón y goma gelano, con la incorporación de aceite esencial de tomillo, mediante emulsificación directa, o previamente encapsulado en liposomas de lecitina, y (2) la aplicación de las formulaciones sobre manzana fresca para analizar su efecto en la conservación de las mismas.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Materiales**

Para la obtención de las películas y recubrimientos se utilizó: almidón de yuca (Quimidroga S.A., Barcelona, España), goma de gelano KELCOGEL F (Premium Ingredients, Murcia, España), lecitina de soja no OGM con 45% de fosfatidilcolina Lipoid P45 (Lipoid GmbH, Ludwigshafen, Alemania) y aceite esencial de tomillo (*Thymus zygis*) Plantis (Artesanía Agrícola S.A., Sant Pere de Ribes, Barcelona, España). El glicerol utilizado como agente plastificante, así como el nitrato de magnesio y el pentóxido de fósforo para el acondicionamiento de los films, fueron proveídos por Panreac Química S.A. (Castellar de Vallès, Barcelona, España).

## Diseño experimental y formulaciones preparadas

Se elaboraron formulaciones a partir de almidón de yuca (S); y mezclas almidón (S) y goma de gelano (G) en proporción 80:20, con glicerol (GLI) como plastificante (relación polímero: glicerol 1:0,25). Se adicionó aceite esencial de tomillo (AE) como compuesto antifúngico en una proporción másica de 0,25 g de AE/g de polímero, por emulsificación directa o encapsulado en liposomas de lecitina (L) (proporción lecitina: AE 2:1; proporción polímero: lecitina 1:0,5).

Se obtuvieron las siguientes formulaciones: almidón (S), almidón:gelano (S:G); film control con lecitina (S:G-L); películas con AE, no encapsulado (S:G-AE) y encapsulado en lecitina (S:G-L-AE). La Tabla 1 presenta las diferentes formulaciones con la fracción másica de cada compuesto respecto al total de sólidos.

**TABLA 1.** Fracción másica ( $X_i$ ) de cada componente en el total de sólidos de cada formulación.

Formulación	$X_S$	$X_G$	$X_{GLI}$	$X_L$	$X_{AE}$
S	1				
S:G	0,64	0,16	0,20		
S:G-AE	0,46	0,11	0,14		0,29
S:G-L	0,46	0,11	0,14	0,29	
S:G-L-AE	0,40	0,10	0,13	0,25	0,13

## Preparación de las dispersiones de liposomas (DL) y caracterización de su tamaño y potencial $\zeta$

La preparación de las emulsiones se realizó de acuerdo al método propuesto por (Valencia et al. 2016). La lecitina se dispersó en agua (5 % p/p) y se agitó durante al menos 4 h a 700 rpm. A una parte de esta dispersión se le incorporó el aceite esencial de tomillo (2,5 % p/p). Ambas dispersiones, con y sin AE con o sin AE (L y L-AE), se sometieron a sonicación a 20 kHz durante 10 min con pulsos de 1 s (Vibra-Cell, Sonics & Materials, Inc. USA) para la formación de los liposomas.

Para la medida del tamaño de los liposomas y potencial  $\zeta$ , las muestras fueron diluidas en agua destilada (1:100) y analizadas a 25 °C, utilizando el equipo Zetasizer Nano- $\zeta$  (Nano series modelo Zen 2600, Marvern Instruments, Worcestershire, Reino Unido), para medir la movilidad electroforética de las partículas. Para convertir la movilidad electroforética en valores de potencial  $\zeta$  se utilizó el modelo matemático de Smoluchowsky. Las medidas se realizaron por triplicado.

## Preparación y caracterización de las dispersiones formadoras de recubrimiento (DFR)

El almidón se dispersó en agua destilada al 2 % (p/p) y se mantuvo a 95 °C durante 30 min para inducir la gelatinización. Paralelamente, la dispersión de gelano al 2 % (p/p) se obtuvo bajo agitación a 90 °C durante 60 min. Transcurrido este tiempo, las dispersiones se enfriaron hasta temperatura ambiente, se realizaron las mezclas en proporción 80:20 de almidón:gelano y se adicionó el glicerol, para obtener las dispersiones sin AE.

El AE se incorporó de dos formas diferentes: por emulsificación directa o encapsulado en liposomas de lecitina. En el primer caso, se añadieron directamente 0,25 g de AE/g de polímero total y las dispersiones se homogeneizaron durante 3 minutos a 13.500 rpm utilizando un homogeneizador Ultraturrax (Yellow Line Model DI 25 basic, IKA, Staufen, Alemania). En el caso del AE encapsulado, la dispersión con liposomas se añadió directamente a la mezcla inicial de polímeros y se mantuvo en agitación magnética durante 2 h antes del vertido en placa para la obtención de los films. De la misma forma, se obtuvo la formulación control con liposomas de lecitina sin AE. Todas las dispersiones se desgasificaron mediante una bomba a vacío (MZ 2C NT, Vacuubrand GMBH + CO KG, Wertheim, Alemania).

## COMPORTAMIENTO REOLÓGICO

El comportamiento reológico de las dispersiones se analizó por triplicado a 25 °C en un reómetro rotatorio (HAAKE Rheostress 1, Thermo Electric Corporation, Karlsruhe, Alemania) dotado de un sensor de cilindros coaxiales (Z34DIN Ti). Las curvas de flujo se obtuvieron después de un tiempo de reposo de 5 min en el sensor a 25 °C. Se midió el esfuerzo cortante ( $\sigma$ ) en función del gradiente de velocidad ( $\dot{\gamma}$ ) desde 0 a 500 s<sup>-1</sup>, con el objetivo de obtener la viscosidad ( $\eta$ ) de las dispersiones, el índice de consistencia (K) y el índice de comportamiento al flujo (n). Para la obtención de estos parámetros se utilizaron las ecuaciones del modelo de Ostwald de Waele (ecuaciones 1 y 2).

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

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

Dónde:  $\sigma$  = esfuerzo cortante (Pa); K = índice de consistencia;  $\dot{\gamma}$  = gradiente de velocidad (s<sup>-1</sup>);  $\eta_{ap}$  = viscosidad aparente (Pa·s) y n = índice de comportamiento al flujo.

## TAMAÑO DE PARTÍCULA

Se utilizó un analizador de tamaño de partícula Mastersizer 2000 (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, Reino Unido), compuesto de un sistema óptico y una unidad de dispersión por vía húmeda (Hidro MU) que permite realizar el análisis mediante la dilución de la muestra. Se determinaron las distribuciones de tamaños de las partículas de cada dispersión y los tamaños promedio  $D_{4,3}$  y  $D_{3,2}$ , (ecuaciones 3 y 4).

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

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

## ÁNGULO DE CONTACTO

El ángulo de contacto ( $\theta$ ) de las dispersiones sobre la superficie de la manzana se midió utilizando el equipo Video-Based Contact Angle Meter modelo (OCA 20 DataPhysics Instruments GmbH, Filderstadt, Alemania). La dispersión se aplicó utilizando una aguja de 0.26 mm de diámetro interno. Se midió la forma de la gota (0.01 mL) después de 10 segundos y el análisis de la imagen se realizó mediante el software SCA20. Se realizaron 10 repeticiones sobre la superficie con piel de la manzana.

## ESTABILIDAD FÍSICA

La estabilidad física de las diferentes dispersiones se cuantificó a las 24 h, colocando un volumen dado de muestra en tubos graduados en reposo, a 25 °C. Transcurrido ese periodo se analizó visualmente el aspecto de las mismas para comprobar la presencia o ausencia de cremado o separación de fases.

## Obtención y caracterización de los films

Para la obtención de las películas, se vertió la cantidad necesaria de cada DFR en placas de teflón de 150 mm de diámetro, manteniendo una masa constante de polímero (1,5 g/placa). Las películas se secaron durante aproximadamente 48 h, a 25 °C y 45 % de humedad relativa (HR). Los films secos se despegaron de las placas y se acondicionaron previamente a su caracterización durante una semana en desecadores a 25 °C y 53 % HR, controlada con disoluciones sobresaturadas de nitrato de magnesio.

## ESPESOR

El espesor de los films se midió con un micrómetro electrónico digital (modelo Palmer, comenta, Barcelona, España) con una precisión de 0,001 mm en 5 a 6 posiciones aleatorias del film.

## HUMEDAD

El contenido en humedad de los films acondicionados se determinó mediante el método gravimétrico en estufa a vacío (Vacioterm-T, JP-selecta S.A., Barcelona, España), a 60 °C y presión de 0,8 bar, luego fueron almacenados en un desecador con P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> para la completa eliminación de la humedad hasta obtener una masa constante. Se realizaron tres repeticiones por formulación. Los resultados se expresaron en g agua/g de film seco.

## PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA (WVP)

Para determinar la permeabilidad al vapor de agua (WVP) de los films, se siguió una modificación del método gravimétrico ASTM E96-95 según (McHugh et al., 1993), aplicando un gradiente de HR de 53-100 %. Se depositaron 5 mL de agua destilada en el interior de copas de aluminio (Payne, elcometer SPRL, Hermelle/s Argenteau, Bélgica), y se ajustaron las muestras circulares de 3,5 cm de diámetro de cada formulación (4 de cada una). La cara del film en contacto con el aire



durante el secado se colocó hacia el exterior de la copa. El sistema se aseguró con un anillo de goma y dos mordazas. Dichas copas se colocaron sobre un soporte con un ventilador, y el conjunto en desecadores de vidrio con disolución saturada de nitrato de magnesio para mantener una HR del 53 %. Los desecadores se almacenaron a 25 °C en una cámara Hotcold UL (JP Selecta S.A., Barcelona). Se monitorizó la pérdida de peso de las copas con una balanza analítica (ME235P Sartorius, Alemania) a intervalos de 1,5 h.

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 del film ( $p_2$ ) se obtuvo con el método propuesto por (McHugh et al., 1993), para corregir el efecto del gradiente de concentración establecido en el espacio de cabeza de la copa (5).

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

Dónde: P = presión total (atm); D = difusividad del agua en aire a 25 °C ( $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ ); R = constante de los gases ( $82.057 \times 10^{-3} \text{ m}^3 \text{ atm kmol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ); T = temperatura (K);  $\Delta z$  = altura media del espacio de cabeza (m), considerando su altura inicial y final;  $p_1$  = presión de vapor de agua en la superficie de la solución (atm);  $p_2$  = presión de vapor corregida en la cara interior del film.

Utilizando la ecuación (6), se calculó la permeabilidad al vapor del agua (WVP) a partir de  $p_2$ , la presión de vapor de agua en la cara exterior del film ( $p_3$ ) y el espesor del film.

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

## PERMEABILIDAD AL OXÍGENO (OP)

La permeabilidad al oxígeno de las películas se midió según el método estándar ASTM D3985-05 (ASTM et al., 2010). Se utilizó un equipo de medida de la transmisión de oxígeno (OX-TRAN, Oxtran System, Mocon, Mineapolis, USA). Las medidas se realizaron a una HR de 53 %, utilizando muestras de 50  $\text{cm}^2$  de superficie expuesta. Se realizaron dos réplicas por formulación.

## Aplicación de los recubrimientos en manzanas y caracterización del efecto en su conservación.

Los recubrimientos fueron aplicados en manzanas var. *Golden delicious*, adquiridas en un mercado de Valencia y seleccionadas en base a una evaluación visual, de acuerdo a su tamaño, color, firmeza y ausencia de daños físicos superficiales.

Previamente a la aplicación de las DFR, las manzanas fueron lavadas con una solución de hipoclorito de sodio 1 %, enjuagadas con agua desionizada y secadas a temperatura ambiente. La aplicación del recubrimiento se llevó a cabo de forma manual por extensión del film sobre la superficie de la fruta, siguiendo el protocolo descrito por (Bai et al. 2002). Cada DFR (1,5 mL/fruta) se extendió sobre la superficie de la manzana manualmente empleando guantes de látex. Cada fruta se

pesó antes y después de la aplicación y se inspeccionó para asegurar la correcta aplicación del recubrimiento. Todas las frutas se mantuvieron en condiciones ambientales, aproximadamente 25 °C y 65 % HR, durante 14 días. Se emplearon 5 frutas por formulación y 5 frutas sin recubrimiento (control).

## DENSIDAD SUPERFICIAL DE SÓLIDOS

La densidad superficial de sólidos (DSS) aplicados 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), según (Marín *et al.*, 2017):

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

Dónde:  $m_R$  = masa de la manzana recubierta;  $m_0$  = masa de la manzana sin recubrir;  $X_{sDFR}$  = fracción másica de sólidos de la DFR (g sólidos/g disolución);  $\rho_m$  = densidad de la manzana ( $m^2$  partículas/ $m^3$  manzana). Para la obtención de la superficie específica ( $S_e=6/d$ ,  $m^2$  superficie/ $m^3$  manzana), se calculó el diámetro promedio (d) de la manzana asimilando su volumen al de una esfera.

## PÉRDIDA DE MASA

Para el control de la pérdida de peso, se utilizaron 5 manzanas recubiertas para cada una de las DFR y, además, 5 manzanas control sin recubrir. Una vez seco el recubrimiento, se llevó a cabo un seguimiento de la masa utilizando una balanza analítica (ME235P Sartorius, Alemania) y se repitió este mismo procedimiento a diferentes tiempos: 3, 7 y 14 días de almacenamiento. La pérdida de masa (g) se refirió a la masa inicial, y finalmente los resultados se expresaron como velocidad de pérdida de masa ( $\text{días}^{-1}$ ).

## TASA DE RESPIRACIÓN

La tasa de respiración de las frutas en términos de consumo  $O_2$  y producción  $CO_2$  se evaluó por medio de un equipo CheckMate 9900 PBI Dansensor, (Ringsted, Dinamarca). Las manzanas se colocaron en frascos herméticos y las medidas se realizaron a intervalos de 30 min durante aproximadamente 4 h a diferentes tiempos de almacenamiento de las frutas: 3, 7 y 14 días. La velocidad de respiración de las muestras en términos de generación de  $CO_2$  y consumo de  $O_2$  se determinó a partir de la pendiente de la ecuación lineal ajustada, mediante la ecuación (8).

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

Dónde:  $y_{it}$ = concentración de gas a tiempo t;  $y_{i0}$ = concentración de gas inicial;  $R_i$ = velocidad de respiración ( $mL \text{ kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$ );  $M$ = masa de las muestras (kg);  $V$ = volumen del espacio de cabeza (mL);  $t$ = tiempo.

También se determinó el cociente de respiración (RQ) determinado como la relación entre la producción de CO<sub>2</sub> y el consumo de O<sub>2</sub>. La tasa de respiración se expresó en mL kg<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup> de O<sub>2</sub> o CO<sub>2</sub>.

## FIRMEZA

La firmeza de las manzanas se determinó con una prensa universal (Stable Micro Systems, TA.XT plus, Haslemere, England), mediante un ensayo de punción sobre la fruta sin piel, tal como describe (Saei et al., 2011), con algunas modificaciones. Las mediciones se realizaron en la fruta entera, colocada sobre un anillo para mantenerla estable, en cuatro puntos distintos de la zona ecuatorial de la manzana con un punzón de 11 mm de diámetro, a una velocidad de 10 mm min<sup>-1</sup> y penetración total de 10 mm. Se realizaron medidas en cinco manzanas por formulación, después de 14 días desde la aplicación del recubrimiento. El mismo procedimiento se aplicó a frutas no recubierta (control), tanto al inicio como a los 14 días de almacenamiento. Se registró la fuerza máxima (N) de ruptura de cada muestra, así como la distancia (mm) correspondiente a la fuerza de fractura.

## Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante el análisis de varianza (ANOVA), empleando Statgraphics Centurion XVI para Windows (Manugistics Corp., Rockville, Md).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Propiedades de las dispersiones formadoras de recubrimientos

Las dispersiones de liposomas de lecitina con y sin AE presentaron tamaños de partícula (promedio zeta) de  $94 \pm 1$  nm y  $97 \pm 1$  nm, respectivamente y valores de potencial  $\zeta$  de  $-44 \pm 1$  mV y  $-39 \pm 2$  mV, respectivamente. Ambos tipos de liposomas, con y sin AE presentaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) tanto en tamaño como en carga, lo que refleja la interacción de los compuestos del AE con los lípidos de la lecitina. El mayor tamaño promedio correspondió al control solo con lecitina, mientras la mayor carga superficial negativa la tuvieron los liposomas cargados con AE. Los resultados indican la interacción de los componentes del aceite en la estructura liposomal, afectando sobre todo a la carga superficial de las nanopartículas.

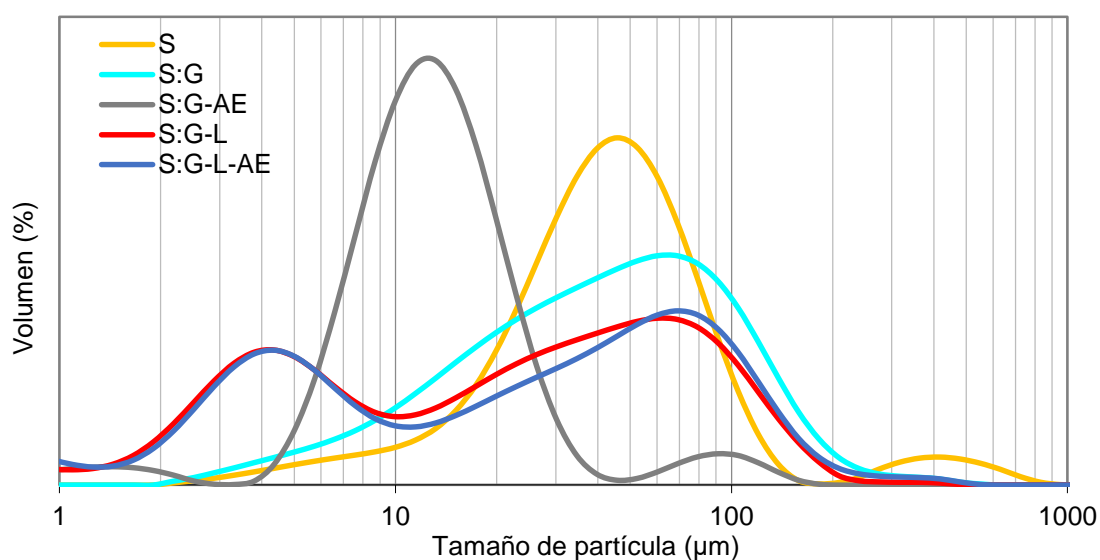
La Figura 1 muestra la distribución de tamaños de las partículas de las diferentes dispersiones formadoras de recubrimientos (DFR). Las dispersiones de S y S:G mostraron una distribución prácticamente monomodal con mayores tamaños promedio ( $D_{4,3}$  y  $D_{3,2}$ , Tabla 2). Estas partículas corresponden a agregados de las cadenas polímeros con una amplia distribución de tamaños, fundamentalmente amilosa, a través de las asociación de las formas helicoidales (Marín et al., 2017), que con mayor concentración darían lugar al gel y donde podrían participar también las moléculas de lípidos a través de la formación de complejos con la forma helicoidal de la amilosa (Wokadala *et al.*, 2012). La incorporación de AE emulsionado comporta una reducción global del tamaño de partícula debido principalmente a la presencia mayoritaria de gotas del AE, cuyo

tamaño promedio estaría alrededor de las 10  $\mu\text{m}$  (Tabla 2). La presencia de aceite provoca también cambios en la constante dieléctrica del medio, pudiendo afectar a la agregación de las cadenas poliméricas. Con la incorporación de liposomas, se obtienen distribuciones bimodales muy similares con y sin AE, con partículas muy pequeñas del orden de 4  $\mu\text{m}$  y otras mucho más grandes del orden de 70  $\mu\text{m}$ . Las primeras pueden asociarse a los liposomas interaccionando con las cadenas poliméricas, que incrementan su tamaño promedio, y las segundas a los agregados poliméricos presentes en todos los casos en diferente proporción. Estudios previos (Jiménez et al., 2014) reportan también la formación de vesículas y otras asociaciones lipídicas cuando cambian las condiciones solventes (incorporación de polímeros) diferentes debido al cambio en el equilibrio de las fuerzas de interacción molecular.

**TABLA 2.** Valores de los diámetros promedio  $D_{3,2}$  ( $\mu\text{m}$ ) y  $D_{4,3}$  ( $\mu\text{m}$ ), para las diferentes DFR con distribución de tamaños mono-modal y valores de la moda (picos) en las distribuciones bimodales con liposomas. Desviación estándar entre paréntesis.

Formulación	$D_{3,2}$ ( $\mu\text{m}$ )	$D_{4,3}$ ( $\mu\text{m}$ )	Pico 1 ( $\mu\text{m}$ )	Pico 2 ( $\mu\text{m}$ )
S	26,81 (0,06) <sup>c</sup>	59 (6) <sup>b</sup>	-----	-----
S:G	21,99 (0,02) <sup>b</sup>	53,2 (0,1) <sup>b</sup>	-----	-----
S:G-AE	8,4 (0,7) <sup>a</sup>	15 (1) <sup>a</sup>	-----	-----
S:G-L	-----	-----	4,4	60,3
S:G-L-AE	-----	-----	4,4	69,2

Diferentes letras (a – c) en la misma columna indican diferencias significativas entre las distintas formulaciones, con un intervalo de confianza del 95%. Los valores con un asterisco corresponden al tamaño de partícula ( $\mu\text{m}$ ) con mayor porcentaje en volumen en las distribuciones bimodales.



**FIGURA 1.** Distribución del tamaño de partícula para las diferentes DFR.

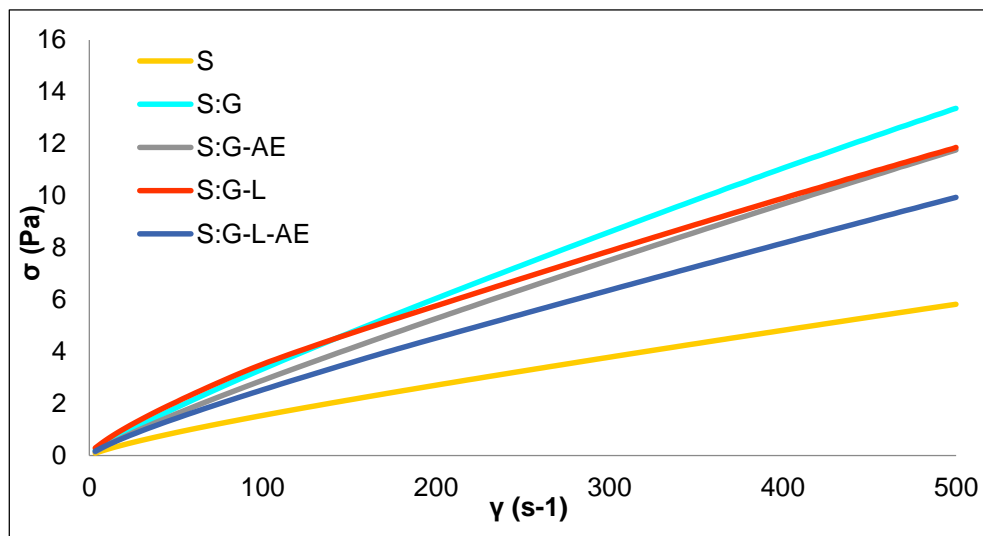
En relación al comportamiento reológico de las DFR, la Tabla 3 presenta los parámetros del ajuste al modelo de Ostwald de Waele y la viscosidad aparente a  $100 \text{ s}^{-1}$ , así como los valores del ángulo de contacto de las diferentes DFR. La Figura 2 muestra las curvas de flujo correspondientes a las cinco dispersiones elaboradas donde puede apreciarse su comportamiento pseudoplástico, con valores de  $n$  muy similares entre las distintas formulaciones, en todos los casos inferiores a 1. La presencia de la goma de gelano provocó un aumento de la viscosidad aparente a  $100 \text{ s}^{-1}$  en todas las dispersiones, aunque esto fue menos notable en aquellas con presencia de AE, lo cual podría atribuirse a la menor agregación de las cadenas de almidón, ya comentada, o a su adsorción superficial sobre las gotas, reduciendo su concentración efectiva en el medio acuoso.

En cuanto a los valores del ángulo de contacto ( $\Theta$ ) de las DFR sobre la superficie de piel de manzana, en todos los casos se obtuvieron valores superiores a  $80^\circ$ , por lo que puede afirmarse que las DFR no presentan buenas características de extensibilidad/mojabilidad en la superficie del fruto. Los valores más elevados los presentaron las formulaciones S:G y S:G-L.

**TABLA 3.** Parámetros reológicos (índice de comportamiento al flujo  $n$ , índice de consistencia  $K$  y viscosidad aparente a  $100 \text{ s}^{-1}$   $\eta$  (mPa.s)), y ángulo de contacto ( $\theta$ ) de las diferentes DFR. Valores medios y desviación estándar.

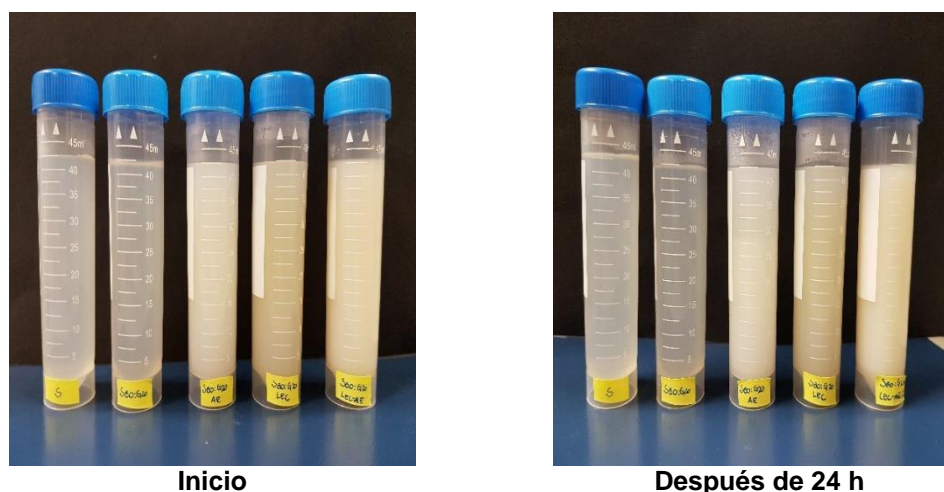
Formulación	$n$	$K$ (mPa.s) <sup>n</sup>	$n_{ap}$ a $100 \text{ s}^{-1}$ (mPa.s)	Ángulo de contacto
S	0,824 (0,001) <sup>b</sup>	34,6 (0,2) <sup>a</sup>	15,38 (0,03) <sup>a</sup>	82 (4) <sup>a</sup>
S:G	0,861 (0,001) <sup>c</sup>	63,3 (0,2) <sup>c</sup>	33,36 (0,03) <sup>c</sup>	99 (2) <sup>c</sup>
S:G-AE	0,87(0,01) <sup>c</sup>	51,48 (13,04) <sup>b</sup>	27,96 (5,98) <sup>b</sup>	81 (2) <sup>a</sup>
S:G-L	0,748 (0,004) <sup>a</sup>	111,8 (2,3) <sup>c</sup>	34,95 (0,17) <sup>c</sup>	96 (3) <sup>b</sup>
S:G-L-AE	0,831 (0,002) <sup>b</sup>	56,15 (0,85) <sup>bc</sup>	25,82 (0,22) <sup>b</sup>	82 (1) <sup>a</sup>

Diferentes letras (a – c) en la misma columna indican diferencias significativas entre las distintas formulaciones, con un intervalo de confianza del 95%.



**FIGURA 2.** Curvas de flujo típicas, a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ , de las diferentes formulaciones.

En cuanto a la estabilidad de las dispersiones frente al cremado y separación de fases, la Figura 3 muestra el aspecto de las DFR recién preparadas y después de 24 horas de reposo. Puede comprobarse la homogeneidad de las mismas después de 24 h, no observándose cremado ni separación de fases en ningún caso. Esto garantiza su estabilidad en la escala de tiempo ensayada, correspondiente al periodo de aplicación y secado del recubrimiento.



**FIGURA 3.** DFR recién preparadas y después de 24 h de reposo. De izquierda a derecha: S, S:G, S:G-AE, S:G-L, S:G-L-AE.

### Propiedades de los films

En la Tabla 4 se muestran los valores obtenidos para la humedad de las películas equilibradas a 53% de HR. La incorporación de AE y L-AE disminuyó la humedad de equilibrio de los films en coherencia con la mayor proporción de lípidos en la formulación, con menor capacidad de adsorción de agua. La mayor humedad de equilibrio la presentaron los films de S y la menor los que incorporaban liposomas con AE. Los films con AE emulsionado mostraron mayores valores de la permeabilidad al oxígeno (OP), pero en general los valores fueron bajos, como corresponde a las matrices de almidón. Una de las 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 permeabilidad al vapor de agua (WVP) es una propiedad relevante en la aplicabilidad de las películas para frenar los intercambios de agua en aplicaciones alimentarias, y debe ser lo más baja posible (Valencia et al., 2016). Los valores de permeabilidad al vapor de agua a 25 °C, y un gradiente de humedad relativa 53-100 %, se presentan también en la Tabla 3, en donde se observa que la menor WVP se consigue con la incorporación de liposomas sin AE, seguida de las dos formulaciones con AE encapsulado en liposomas y emulsionado. Por lo tanto, la incorporación de L y/o AE disminuyó la permeabilidad al vapor de agua de los films, representando una ventaja para mejorar las propiedades de barrera, como indica (Jiménez et al., 2014), para films de almidón y aceites esenciales encapsulados en lecitina, que incrementan la hidrofobicidad de la película. Similar comportamiento se observó en películas a base de proteína con la incorporación de ácidos grasos (Fabra et al., 2009).

**TABLA 4.** Contenido de humedad y propiedades barrera (OP: permeabilidad al oxígeno y WVP: permeabilidad al vapor de agua) de las diferentes formulaciones. Valores medios y desviación estándar.

Formulación	Xw (g agua/g film seco)	OP (cm <sup>3</sup> /m·s)·Pa)·10 <sup>14</sup>	WVP (g·mm/kPa·h·m <sup>2</sup> )
S	6,8 (0,2) <sup>c</sup>	3,0 (0,2) <sup>a</sup>	7 (1) <sup>d</sup>
S:G	6,8 (0,2) <sup>c</sup>	3,8 (0,1) <sup>ab</sup>	6,2 (0,5) <sup>bc</sup>
S:G-AE	4,8 (0,3) <sup>a</sup>	4,5 (0,9) <sup>b</sup>	6,7 (0,3) <sup>cd</sup>
S:G-L	6,2 (0,4) <sup>b</sup>	2,9 (0,2) <sup>a</sup>	4,8 (0,3) <sup>a</sup>
S:G-L-AE	4,7 (0,5) <sup>a</sup>	3,2 (0,2) <sup>a</sup>	5,6 (0,3) <sup>b</sup>

Diferentes letras (a – d) en la misma columna indican diferencias significativas entre las distintas formulaciones, con un intervalo de confianza del 95%.

### Aplicación de los recubrimientos en manzana

La Tabla 5 muestra los resultados de la densidad superficial de sólidos (DSS) aplicados sobre la superficie de las manzanas con las diferentes DFR. No se observaron grandes diferencias entre las formulaciones en la cantidad final de sólidos adherida, aunque sí se pudo observar un pequeño aumento en la DSS con la incorporación de la goma de gelano en las formulaciones, probablemente asociado a su mayor viscosidad, que limita el drenaje gravitacional de la DFR aplicada durante el periodo de secado del recubrimiento. Las pequeñas diferencias en el ángulo de contacto de las formulaciones no tuvieron impacto en la cantidad de recubrimiento adherido.

**TABLA 5.** Densidad superficial de sólidos DSS (g/m<sup>2</sup>), velocidad de pérdida de masa relativa al peso inicial (días<sup>-1</sup>), velocidad de consumo de O<sub>2</sub> y de producción de CO<sub>2</sub> (mL/kg·h), cociente de respiración (RQ), y valores de la fuerza máxima (F<sub>máx</sub>) de punción (N) y deformación (d<sub>máx</sub>) en el punto del máximo (mm) tras dos semanas de almacenamiento, de las manzanas recubiertas con diferentes dispersiones y sin recubrir (control). Los valores de los parámetros mecánicos a tiempo cero en las manzanas control fueron F<sub>máx</sub>: 39,6 (1,9) N, d<sub>máx</sub>: 2,8 (0,2) mm.

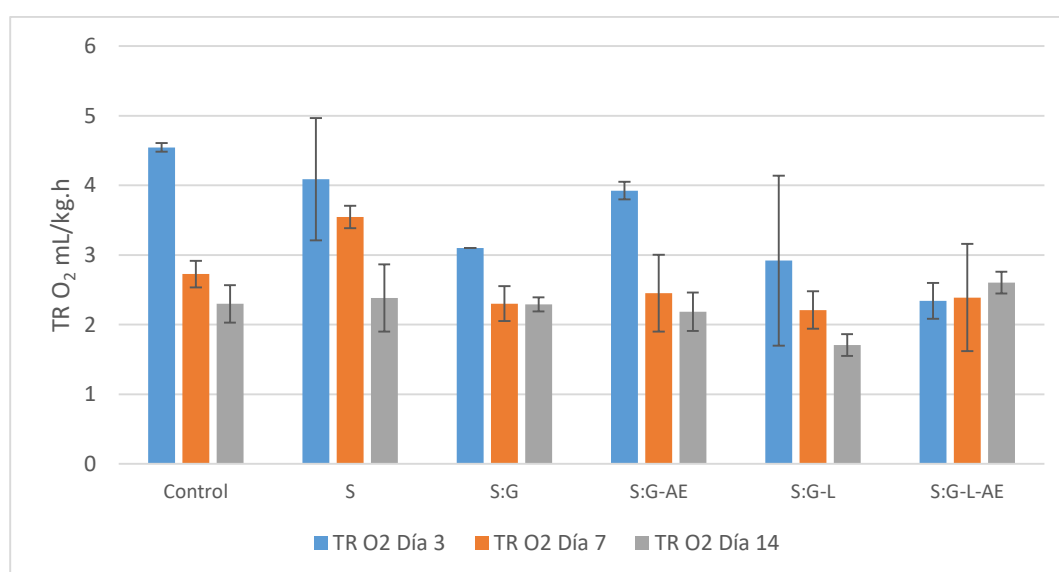
	Control	S	S:G	S:G-AE	S:G-L	S:G-L-AE
DSS	-	0,8 (0,1) <sup>a</sup>	1,2 (0,2) <sup>b</sup>	1,1 (0,2) <sup>ab</sup>	1,1 (0,3) <sup>ab</sup>	1,2 (0,2) <sup>b</sup>
V. pérdida de masa	-0,2997	-0,2642	-0,3025	-0,3277	-0,2922	-0,2634
*TR O <sub>2</sub>	2,7 (0,2) <sup>ab</sup>	3,6 (0,2) <sup>b</sup>	2,3 (0,3) <sup>a</sup>	2,5 (0,6) <sup>a</sup>	2,2 (0,3) <sup>a</sup>	2,4 (0,8) <sup>a</sup>
*TR CO <sub>2</sub>	3,2 (0,4) <sup>ab</sup>	3,8 (0,1) <sup>b</sup>	3,0 (0,2) <sup>ab</sup>	3,2 (0,7) <sup>ab</sup>	2,7 (0,2) <sup>a</sup>	2,7 (0,6) <sup>a</sup>
*RQ	1,16 (0,06) <sup>ab</sup>	1,08 (0,08) <sup>a</sup>	1,32 (0,08) <sup>b</sup>	1,29 (0,03) <sup>b</sup>	1,21 (0,05) <sup>ab</sup>	1,2 (0,1) <sup>ab</sup>
F <sub>máx</sub>	33,9 (1,6) <sup>ab</sup>	33,1 (1,6) <sup>a</sup>	34,3 (1,6) <sup>ab</sup>	33,8 (1,9) <sup>ab</sup>	34,7 (1,5) <sup>ab</sup>	35,4 (0,5) <sup>b</sup>
d <sub>máx</sub>	3,9 (0,5) <sup>c</sup>	3,3 (0,4) <sup>ab</sup>	3,6 (0,3) <sup>bc</sup>	3,1 (0,1) <sup>ab</sup>	3,2 (0,2) <sup>ab</sup>	3 (0,4) <sup>a</sup>

Diferentes letras (a – c) en la misma fila indican diferencias significativas entre las distintas formulaciones, con un intervalo de confianza del 95%.

\*Los valores de TR O<sub>2</sub>, TR CO<sub>2</sub>, y el RQ corresponden a las muestras con 7 días de almacenamiento.

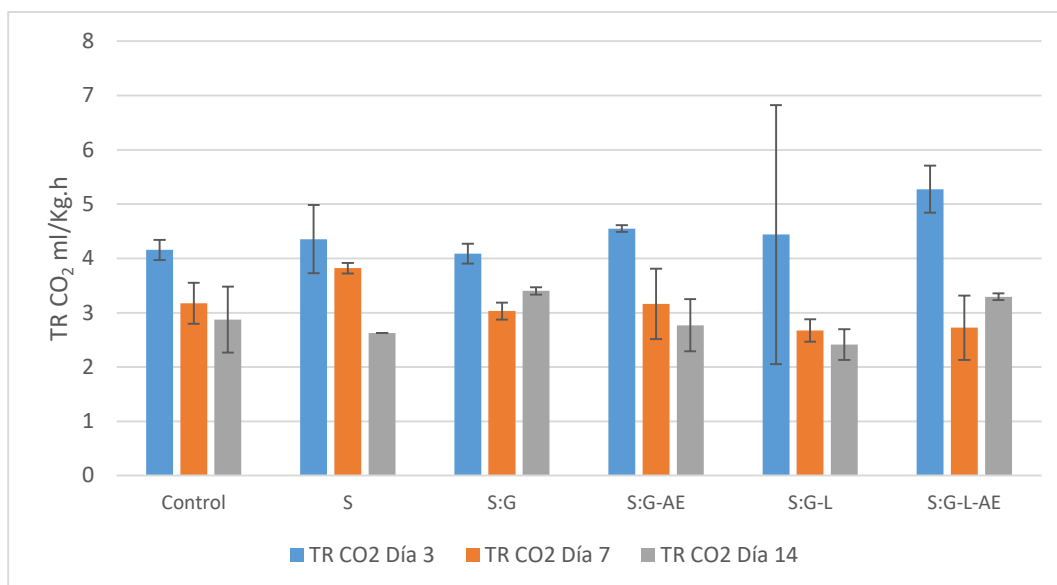
En la Tabla 5 se dan también los valores de la velocidad de pérdida relativa de peso (días<sup>-1</sup>) obtenidos con cada una de las formulaciones, tanto en las manzanas recubiertas como en las no recubiertas (control), durante los 14 días de almacenamiento. Se observó un ligero efecto de la presencia de algunos de los recubrimientos en el mantenimiento de la masa de los frutos. Sin embargo, en general no se observa un efecto notable de los mismos probablemente debido a que la baja extensibilidad de los mismos (alto ángulo de contacto) deja al descubierto una gran superficie del fruto, limitando su efectividad. De hecho los valores de velocidad de transferencia de agua (pérdida de peso) no fueron coherentes con los valores de WVP determinados en los films. De hecho, con la formulación S: G-AE, con bajos valores de WPV, se obtienen las mayores pérdidas de peso en las manzanas.

Las Figuras 4, 5 y 6 muestran los valores de las tasas de consumo de O<sub>2</sub>, producción de CO<sub>2</sub> y el cociente de respiración, a 3, 7 y 14 días de la aplicación del recubrimiento. Puede observarse una tendencia a la disminución del consumo de O<sub>2</sub> a lo largo del tiempo, incluida la muestra control sin recubrimiento, excepto para la muestra con L-AE, en donde los valores se mantuvieron bastantes estables (Figura 4). En el caso de la producción de CO<sub>2</sub> se observa un comportamiento similar, aunque al final del tiempo de almacenamiento, algunas de las muestras mostraron un ligero aumento en este parámetro. Estos resultados indican un efecto poco notable de los recubrimientos en la tasa de respiración de las frutas, lo que tal como se ha comentado para la pérdida de peso, puede estar asociado a la baja extensibilidad de las DFR y la presencia de una parte importante de la superficie de la fruta no recubierta.

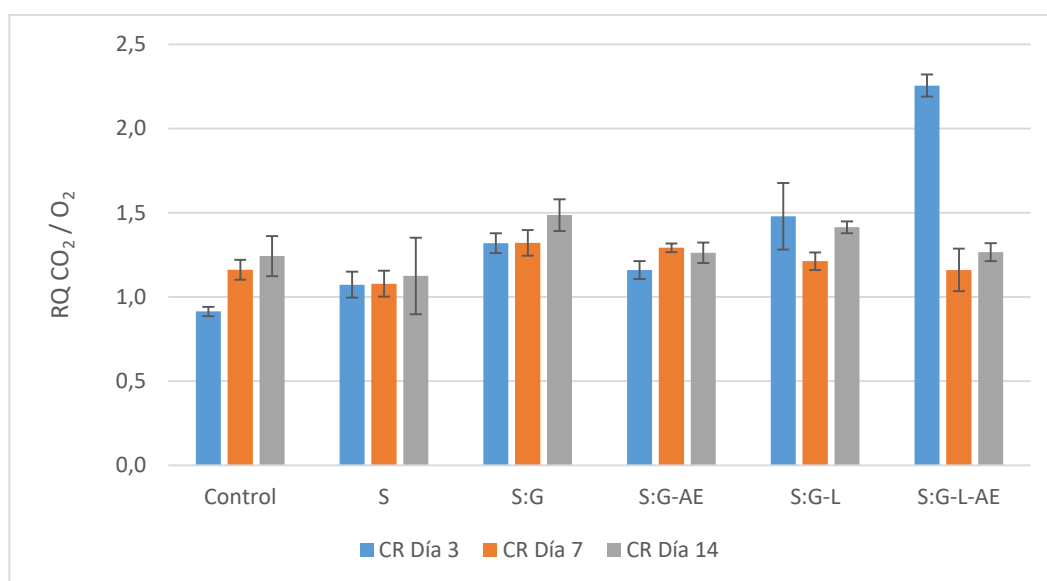


**FIGURA 4.** Tasa respiratoria, en términos de consumo de O<sub>2</sub>, de las frutas recubiertas con las diferentes DFR, en comparación con las frutas control (no recubiertas).





**FIGURA 5.** Tasa respiratoria, en términos de producción de CO<sub>2</sub>, de las frutas recubiertas con las diferentes DFR, en comparación con las frutas control (no recubiertas).



**FIGURA 6.** Coeficiente respiratorio de las frutas recubiertas con las diferentes DFR, en comparación con las frutas control (no recubiertas).

En lo relativo al mantenimiento de la firmeza, la Tabla 5 muestra los valores de la  $F_{m\acute{a}x}$  y  $d_{m\acute{a}x}$  para las diferentes frutas recubiertas y el control sin recubrir a los 14 días de almacenamiento. Los recubrimientos no tuvieron un efecto significativo sobre la fuerza máxima de punción, observándose una reducción de la firmeza respecto al valor inicial de las manzanas control, similar en todos los casos (5-7 N). Respecto a la distancia a la que se alcanzó la fuerza máxima de punción (punto de fractura), se obtuvieron valores muy similares para las diferentes muestras recubiertas, siendo un poco inferior al valor de la muestra control. En todos los casos,  $d_{m\acute{a}x}$  aumentó respecto al valor inicial, indicando el aumento en la deformabilidad del tejido con el tiempo, asociado a la pérdida de turgor celular por

la deshidratación superficial de las muestras. Este parámetro reflejó un cierto efecto protector de los recubrimientos, especialmente para las muestras que presentaron menores valores del ángulo de contacto y más baja permeabilidad al vapor de agua. La deformabilidad del tejido de manzana, más que la fuerza máxima, reveló un cierto efecto positivo sobre el mantenimiento de la textura de la manzana, cuando las DFR fueron más extensibles (menor generación de superficie no recubierta) y cuando los films fueron menos permeables al vapor de agua. El recubrimiento S:G presentó menor WVP que el S, pero menor extensibilidad, lo que conllevó una disminución de  $d_{max}$  similar al de la muestra control.

## CONCLUSIONES

Las dispersiones almidón-gelano (80:20) con aceite esencial de tomillo, emulsificado o encapsulado en liposomas de lecitina, mostraron buena estabilidad física, con un comportamiento pseudoplástico, con buena capacidad como agente filmogéno, pero con baja “mojabilidad” sobre la superficie de manzanas (ángulos de contacto muy elevados). Aunque los films aislados presentaron buenas propiedades mecánicas y de barrera al oxígeno y al vapor de agua, no fueron muy efectivos en el control de la pérdida de peso y la tasa de respiración de las frutas, debido al recubrimiento parcial asociado a su baja extensibilidad. El aceite esencial, emulsionado, y sobre todo encapsulado en lecitina, redujo la permeabilidad al vapor de los films, que presentaron muy baja permeabilidad al oxígeno, pero estos efectos no se reflejaron de forma notable en su aplicación en manzanas. No obstante, se observó una ligeramente mejor preservación de la firmeza en las frutas recubiertas con las formulaciones con menor ángulo de contacto y menor permeabilidad al vapor de agua, como la mezcla almidón-gelano y aceite esencial encapsulado en lecitina. Sería necesaria la incorporación de algún compuesto tensoactivo que modificara su interacción superficial con la piel del fruto para potenciar su efecto protector y el incremento de la vida útil de la fruta.

## REFERENCIAS

- ASTM. 2010. Standard test method for oxygen gas transmission rate through plastic film and sheeting using a coulometric sensor: D3985-05, Annual book of ASTM, ASTM, Philadelphia.
- Atarés, L., Chiralt, A. 2016. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. *Trends in Food Science and Technology*. 48(12):51–62.
- 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.
- Cano, A.; Jimenez, A.; Chafer, M.; Gonzalez, C.; Chiralt, A. 2014. Effect of amylose: amylopectin ratio and rice bran addition on starch films properties. *Carbohydrate polymers*, 111:543-555.
- Castillo, S., Navarro, D., Zapata, P. J., Guillen, F., Valero, D., Serrano, et al. (2010). Antifungal efficacy of Aloe vera in vitro and its use as a preharvest treatment to maintain postharvest table grape quality. *Postharvest Biology and Technology*, 57,183-188
- Chen, C. H.; Kuo, W. S.; Lai, L. S. 2009. Effect of surfactants on water barrier and physical properties of tapioca starch/decolorized hsian-tsao leaf gum films. *Food Hydrocolloids*, 23(3):714-721.
- Fabra, M., Hambleton, A., Talens, P., Debeaufort, F., Chiralt, A., Voilley, A. 2009. Influence of interactions on water and aroma permeabilities of ι-carrageenan-oleic acid-beeswax films used for flavour encapsulation. *Carbohydrate Polymers*.76 (2):325–32.

- 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., Sánchez-González, L., Desobry, S., Chiralt, A., & Tehrany, E. A. 2014. Influence of nanoliposomes incorporation on properties of film forming dispersions and films based on corn starch and sodium caseinate. *Food Hydrocolloids*, 35, 159–169.
- Kim, S., Choi, Y., Kim, J., Lim, S. 2015. Improvement of water solubility and humidity stability of tapioca starch film by incorporating various gums. *LWT- Food Science Technology*. 64(1):475–482.
- Lee, K., Shim, J., Lee, H. 2004. Mechanical properties of gellan and gelatin composite films. *Carbohydrate Polymers*. 56(2):251–254.
- Mali, S.; Grossmann, M.V.E.; García, M.A.; Martino, M.M.; Zaritzky, N E. 2002. Microstructural characterization of yam starch films. *Carbohydrate Polymers* 50 (4), 379-386.
- Marchese, A., Orhan, I., Daglia, M., Barbieri, R., Di Lorenzo, A., Nabavi, S., Gortzi, O., Izadi, M., Mohammad, S. 2016. Antibacterial and antifungal activities of thymol. A brief review of the literature. *Food Chemistry*. 210(4):402–414.
- Marin, A.; Chafer, M.; Atares, L.; Chiralt, A.; Torres, R.; Usall, J.; Teixido, 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.
- Marín, A., Atarés, L., Cháfer, M., & Chiralt, A. 2017. Properties of biopolymer dispersions and films used as carriers of the biocontrol agent *Candida sake* CPA-1. *LWT - Food Science and Technology*, 79, 60–69.
- Marqués, M., Sanz, I., Santamarina, P., Roselló, J. 2015. Composición química de los aceites de lavanda y tomillo. Determinación de la actividad antifúngica. Trabajo de fin de grado. Universidad Politécnica de Valencia.
- Martínez-Romero, D., Alburquerque, N., Valverde, J. M., Guillén, F., Castillo, S., Valero, D., & Serrano, M. (2006). Postharvest sweet cherry quality and safety maintenance by *Aloe vera* treatment: A new edible coating. *Postharvest Biology and Technology*, 39(1), 93–100.
- McHUGH, T. H., AVENA-BUSTILLOS, R., & KROCHTA, J. M. (1993). Hydrophilic Edible Films: Modified Procedure for Water Vapor Permeability and Explanation of Thickness Effects. *Journal of Food Science*.
- Ortega-Toro, R., Morey, I., Talens, P., & Chiralt, A. 2015. Active bilayer films of thermoplastic starch and polycaprolactone obtained by compression molding. *Carbohydrate Polymers*, 127, 282-290.
- Rojas-Graü, M. A., Tapia, M. S., Rodríguez, F. J., Carmona, A. J., & Martin-Belloso, O. 2007. Alginate and gellan-based edible coatings as carriers of antibrowning agents applied on fresh-cut Fuji apples. *Food Hydrocolloids*, 21(1), 118–127.
- Saei, A., Tustin, D. S., Zamani, Z., Talaie, A., & Hall, A. J. (2011). Cropping effects on the loss of apple fruit firmness during storage: The relationship between texture retention and fruit dry matter concentration. *Scientia Horticulturae*, 130(1), 256–265.
- Tapia, M. S., Rojas-Graü, M. A., Carmona, A., Rodríguez, F. J., Soliva-Fortuny, R., & Martin-Belloso, O. 2008. Use of alginate- and gellan-based coatings for improving barrier, texture and nutritional properties of fresh-cut papaya. *Food Hydrocolloids*, 22(8), 1493–1503.
- Teixeira, E. M.; Pasquini, D.; Curvelo, A.A.S.; Corradini, E.; Belgacem, M. N.; Dufresne, A. 2009. Cassava bagasses cellulose nanofibrils reinforced thermoplastic cassava starch. *Carbohydrate Polymers*, 78 (3), 422-431.
- Valencia-Sullca, C., Jiménez, M., Jiménez, A., Atares, L., Vargas, M., Chiralt A. 2016. Influence of liposome encapsulated essential oils on properties of chitosan films. *Polymer International*. 65(5):979-987.
- 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.

- Vasconez, 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.
- Wokadala, O. C., Ray, S. S., & Emmambux, M. N. (2012). Occurrence of amylose-lipid complexes in teff and maize starch biphasic pastes. *Carbohydrate Polymers*, 90(1), 616–622.
- 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.
- Xiao, G., Zhu, Y., Wang, L., You, Q., Huo, P., You, Y. 2011. Production and storage of edible film using gellan gum. *Procedia Environmental Sciences*. 8(11): 756–763
- Zia, K. M., Tabasum, S., Khan, M. F., Akram, N., Akhter, N., Noreen, A., & Zuber, M. 2017. Recent trends on Gellan Gum blends with natural and synthetic polymers: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*.