

CARACTERIZACIÓN DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES A BASE DE HPMC CON ACEITE ESENCIAL DE BERGAMOTA.

M.Rodríguez-Hernández, L.Sánchez-González, C.González-Martínez, M. Cháfer, M.Vargas¹

RESUMEN

La hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) ha sido ampliamente estudiada como recubrimiento comestible por ser un material biodegradable y presentar buenas propiedades mecánicas y barrera a los gases, sin embargo presenta una alta permeabilidad al vapor de agua (PVA). Para mejorar las propiedades barrera y funcionalidad de estos recubrimientos se pueden incorporar aceites esenciales en las formulaciones. El presente trabajo tiene como objetivo diseñar y caracterizar recubrimientos comestibles a base de HPMC y aceite esencial de bergamota (BO). Se diseñaron formulaciones formadoras de recubrimiento (FFR) a diferentes concentraciones de BO y se determinaron sus propiedades realizando mediciones de pH, densidad, reología, tamaño de partícula y potencial ζ . Además, se obtuvieron los recubrimientos aislados y fueron caracterizados en cuanto a PVA, isoterms de sorción, propiedades mecánicas y ópticas.

Los resultados mostraron que la incorporación de BO supone cambios significativos en las propiedades de las FFR, influyendo en el pH y tamaño de partícula. El incremento de BO afectó significativamente la PVA, propiedades mecánicas, color y brillo de los films secos.

ABSTRACT

Hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) has been used widely like edible coating for been a biodegradable material and present good mechanical properties and gas permeability, however presents the main disadvantage to have high water vapor permeability (PVA). To improve the barrier properties and functionality of these coatings, essential oils can be included in the formulation. The present work has the objective of design and characterizes edible films form HPMC and bergamot essential oil (BO), added by their antimicrobial activity. Were designed film forming dispersions (FFR) a different concentrations of BO and their properties were determinate doing measurements of pH, density, reology, particle size and ζ -potencial. Moreover, were obtained the films and had been characterized in PVA, sorcion isoterms, mechanical and optical properties.

The results showed that the addition of BO led significant changes in the properties of the FFR, included the pH and particle size. The increase of BO

¹ Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera, s/n, 46022, Valencia, España. Tel. +34 963877056, e-mail: iadst@iad.upv.es, www.iad.upv.es

affected significantly the PVA, mechanical properties, color and gloss of the dried films.

RESUM

La hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) ha estat ampliament estudiada com a recobriments menjables per ser un material biodegradable i presentar bones propietats mecàniques i barrera als gasos, tanmateix presenta una alta permeabilitat al vapor d'aigua (PVA). Per a millorar les propietats barrera i funcionalitat d'estos recobriments es poden afegir olis essencials a la formulació. El present treball té com a objectiu dissenyar i caracteritzar recobriments menjables a base de HPMC i oli essencial de bergamota (BO). Es van dissenyar formulacions formadores de recobriments (FFR) a diferents concentracions de BO i es determinaren les seues propietats realitzant mesures de pH, densitat, reologia, tamany de partícula i potencial ζ . A més es van obtenir els recobriments aïllats i es van caracteritzar en quant a permeabilitat al vapor d'aigua (PVA), isoterms de sorció, propietats mecàniques i òptiques.

Els resultats mostraren que la incorporació de BO suposa canvis significatius en les propietats de les FFR, influent en el seu pH i tamany de partícula. El increment de BO va afectar significativament a la PVA, propietats mecàniques, color i lluentor de los films secs.

PALABRAS CLAVE

Hidroxipropilmetilcelulosa, formulación formadora de recubrimiento (FFR), films, propiedades barrera, distribución de tamaño.

INTRODUCCIÓN

Un recubrimiento es una disolución aplicada sobre un producto que forma una película superficial al secarse. En alimentos se trata de una delgada capa de material que cubre la superficie del alimento y separa distintos componentes alimenticios pudiendo ser consumida como parte del producto (Pastor et al., 2005).

Los polisacáridos son los hidrocoloides que más se utilizan como recubrimientos y forman parte de la mayoría de las formulaciones que actualmente existen en el mercado, debido a que presentan buenas propiedades mecánicas, barrera a los gases y adhesión (Krochta y DeMulder, 1997). Entre los polisacáridos de uso más extendido están los derivados de la celulosa debido a la tendencia actual hacia el uso de materiales biodegradables. Los derivados de la celulosa son compuestos interesantes para la formulación de films ya que no aportan sabor ni olor (Krocha y Mulder-Johnston., 1997).

Por lo anteriormente mencionado se seleccionó como matriz para la formulación de recubrimientos hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) donde su elección fue en base a su buena capacidad de formar films, su

biocompatibilidad, ser resistente y presentar buenas propiedades barrera. Sin embargo presenta una baja permeabilidad al vapor de agua la cual puede ser mejorada con la adición de sustancias hidrofóbicas como lípidos, en la formulación del film (Kester y Fennema, 1986)

En los últimos años las investigaciones se dirigen hacia la mejora de las características funcionales de los recubrimientos, en función de las propiedades del alimento que se busque conservar, donde esto se puede conseguir mediante cambios en la formulación del recubrimiento. Para mejorar las propiedades barrera, compuestos lipídicos como ácidos grasos, ceras naturales, surfactantes y resinas han sido incorporados en films a base de hidrocoloides (Fabra et al., 2008; Vargas et al., 2008). Además la incorporación en la formulación de compuestos naturales que actúen como antioxidantes, antipardeantes o antimicrobianos, puede reducir la velocidad de deterioro de los productos y aumentar su vida útil (Cha y Chinnan, 2004).

Una de las tendencias actuales en la industria alimenticia consiste en la sustitución de aditivos químicos por compuestos naturales, especialmente en el área de conservación de alimentos. Recientemente la explotación de compuestos naturales de origen vegetal, como los aceites esenciales, para su uso en alimentos ha recibido una especial atención y buena aceptación por parte de los consumidores.

Dentro de los lípidos añadidos a la formulación de films se encuentran una gran gama de aceites esenciales. Entre ellos, los aceites de cítricos han demostrado ser potentes antimicrobianos. Su uso en alimentos no sólo está permitido, sino que además han sido reconocidos como seguros (GRAS). Investigaciones previas han demostrado que uno de los aceites de cítricos más efectivos como agente antibacteriano es el aceite esencial de bergamota (Fisher K., 2006). Este aceite se ha utilizado tanto en la industria farmacéutica, cosmética y alimenticia por presentar acción inhibitoria frente a patógenos Gram negativos y Gram positivos (Fisher y Phillips, 2008).

La actividad antimicrobiana del aceite esencial de bergamota se debe a la presencia de flavonoides, como O-flavonas y C-glucosidos, que no han sido encontrados en naranjas ni en limones y sí, en la corteza de bergamota (Mandalari et al, 2007).

Por lo mencionado anteriormente resulta interesante la incorporación del aceite esencial de bergamota en films, sin embargo afectará a las propiedades tanto de las formulaciones formadoras de recubrimiento (FFR) como de los films secos (barrera, sorción de agua, propiedades ópticas, mecánicas, viscosidad). La caracterización de algunas propiedades de la FFR contribuye a la comprensión de las propiedades de los films secos. En particular, la carga superficial y distribución de tamaño de las partículas afectará grandemente al sistema durante el proceso del secado del film, donde el fenómeno de desestabilización de la emulsión está ampliamente ligado a estos factores (Morillo et al., 2002). Las propiedades del film, las cuales son relevantes para definir su disponibilidad para una aplicación en específico son las propiedades barrera, mecánicas y ópticas (Sánchez-González et al., 2009).

Por esta razón el objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de la incorporación de aceite esencial de bergamota en las propiedades de las formulaciones formadoras de recubrimiento y de los films secos de HPMC.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Preparación de formulaciones formadoras de recubrimiento

1.1. Formulaciones de HPMC

Para la obtención de las FFR se utilizó hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC, E464, Methocel Food grade, Dow Chemical Company, Midland, EUA) y aceite esencial de bergamota (BO, Herbes del moli, Alicante, España).

El HPMC (1%p/p) fue dispersado en una disolución acuosa, se calentó hasta 80°C y se mantuvo en agitación hasta disolución completa, donde una vez enfriado se le agregó BO para obtener las concentraciones mostradas en la Tabla 1. Las FFR fueron homogenizadas con un Ultra-Turrax T25 (Janke and Kunkel, Alemania) a 13500 rpm durante 4 minutos y desgasificadas con una bomba de vacío (Diaphragm vacuum, Wertheim, Alemania) a temperatura ambiente.

TABLA 1. Composición de las formulaciones a base de HPMC

<i>FFR</i>	<i>HPMC</i> (%p/p)	<i>Aceite de Bergamota</i> (%p/p)
H	1	0
H-0.5B	1	0.5
H-B	1	1
H-2B	1	2

2. Propiedades fisicoquímicas de las formulaciones

2.1. Tamaño de partícula

El tamaño de partícula de las formulaciones se determinó usando un difractómetro láser Mastersizer 2000 (Malvern Instruments, Reino Unido). Las muestras fueron dispersadas en agua destilada a 2000 rpm hasta un nivel de obscuración entre 5-10%. Para aplicar la teoría de Mie se consideró un índice de refracción de 1.46 y una absorción de 0 para las partículas dispersas.

Se determinó el tamaño de partícula por triplicado de cada una de las FFR. El tamaño medio de las partículas fue expresado en términos de los parámetros d_{43} y d_{32} según las ecuaciones 1 y 2.

$$d_{32} = \frac{\sum n_i d_i^3}{\sum n_i d_i^2} \quad (1)$$

$$d_{43} = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3} \quad (2)$$

2.2. Caracterización reológica

El comportamiento reológico de las FFR se determinó por un reómetro rotatorio (HAAKE Rheostress 1, Thermo Electric Corporation, Alemania) donde se midió el esfuerzo cortante (σ) en función del gradiente de velocidad (γ) desde 0 a 300 s⁻¹. Las curvas de flujo obtenidas se ajustaron a la ley de la potencia para determinar el índice de comportamiento al flujo (n) y el índice de consistencia (K) mostrado en la siguiente ecuación.

$$\sigma = K \cdot \gamma^n \quad (3)$$

2.3. Potencial ζ

El potencial ζ de las formulaciones fue obtenido a partir de la determinación de la movilidad electroforética de las partículas de las FFR realizada en un equipo Zetasizer Nano-Z (Malvern Instruments, Reino Unido). Para transformar las medidas de movilidad electroforética en valores de potencial ζ se utilizó el modelo de Smoluchowsky.

Las FFR fueron diluidas antes de realizar las mediciones hasta una concentración de aceite de 0.2%

2.4. Densidad y pH

La densidad de las diferentes formulaciones fue determinada mediante un densímetro DA-110M (Mettler Toledo, España) a 25°C.

El pH de las formulaciones fue medido con un pH-metro GLP 21 (Crison, Barcelona, España) a 25°C

3. Obtención de los films secos

Cada FFR fue vertida en placas de politetrafluoretileno de 15cm de diámetro y fueron puestas en niveles donde se secaron a una temperatura de 25°C y una humedad relativa de 60% durante 48 horas. El espesor de los films se controló ajustando una misma densidad de sólidos superficiales a 56g/m².

4. Propiedades fisicoquímicas de los films secos

4.1. Determinación del espesor

El espesor de los films se midió con un micrómetro digital (Palmer-Comecta, España). Se midieron 3 puntos diferentes en cada film para las muestras utilizadas en los ensayos propiedades mecánicas y permeabilidad al vapor de agua.

4.2. Propiedades mecánicas

Las muestras utilizadas fueron almacenadas en desecadores a 54.4% HR y 20°C durante 15 días. Los ensayos mecánicos se realizaron mediante el analizador de textura Texture Analyser TA-XT-plus (Stable Micro Systems, Surrey, Reino Unido), con una célula de carga de 50N y pinzas de tensión (A/TG).

Las muestras con dimensiones de 25.4 x 100mm fueron colocadas dejando una separación entre las pinzas de 50mm y el ensayo se realizó a una velocidad de 50 mm/min (ASTM, 2001). El esfuerzo de fractura (σ_F), el porcentaje de deformación en el momento de la rotura (%E) así como el modulo de elasticidad (ME) de los films fueron evaluados en 8 muestras para cada formulación. El esfuerzo de fractura fue calculado dividiendo la fuerza máxima necesaria para la ruptura del film por la sección transversal del film. %E fue calculado dividiendo la deformación del film en el momento de la ruptura por la longitud inicial (50mm). El módulo de elasticidad corresponde con la pendiente de la curva esfuerzo de tracción frente a la deformación en el tramo inicial.

Las curvas Fuerza vs Distancia obtenidas fueron transformadas en curvas Esfuerzo vs Deformación de Henky (Peleg, 1979), según las ecuaciones 4 y 5.

$$\sigma = \frac{F(L_0 + L(t))}{A_0 L_0} \quad (4)$$

$$\varepsilon_H = L_n \frac{L_0 + L(t)}{L_0} \quad (5)$$

Donde:

σ = esfuerzo (Pa);

F= fuerza (N);

L(t)= longitud del film a tiempo t (m);

L₀= longitud inicial del film (m);

A₀= área transversal inicial del film (m²);

ε_H = deformación de Hencky.

4.3. Isotermas de sorción

Los films fueron depositados en placas de 3cm de diámetro donde una vez secos se colocaron en desecadores con P₂O₅. Las muestras de cada formulación fueron puestas por triplicado en desecadores que contenían diferentes sales saturadas: LiCl, CH₃COOK, MgCl₂, K₂CO₃, Mg(NO₃)₂, NaBr, KI, NaCl, KCl, las cuales se mantuvieron a 20°C para mantener unos

porcentajes de humedad relativa de 11.3, 23.1, 33.6, 43.1, 58.9, 63.5, 73.3, 75.6, 87.7, respectivamente.

Los films fueron pesados periódicamente hasta asumir que se ha alcanzado el equilibrio con un peso constante (Spiess y Wolf, 1983). La humedad de equilibrio de las muestras (W_e) se determinó utilizando una estufa de vacío (0.8bar) a 70°C por 24 horas. Se obtuvieron las curvas de humedad de equilibrio (b.s) vs actividad de agua y los datos experimentales fueron ajustados al modelo de GAP mostrados en la ecuación 6.

$$GAP : \frac{a_w}{W_e} = \frac{1}{W_o \cdot C \cdot K} + \frac{C-2}{W_o C} a_w + \frac{K(1-C)}{W_o C} a_w^2 \quad (6)$$

Donde:

W_e = humedad de equilibrio (g agua/g film seco);

W_o = humedad de la monocapa (g agua/g film seco);

C= Constante relacionada con el calor de porción de la monocapa;

K= factor relacionado con el calor de sorción de la multicapa;

a_w = actividad de agua.

4.4. Permeabilidad al vapor de agua (PVA)

Las muestras utilizadas fueron almacenadas en desecadores a 54.4% HR y 20°C durante 15 días. La PVA fue medida según el método de la ASTM E-96-95 (ASTM, 1995), las muestras fueron montadas entre la base y la tapa de una copa de aluminio de 35mm de diámetro (Payne, elcomerter SPRL, Hermelles Argenteau, Bélgica) donde en el interior de la copa se colocó agua destilada para conseguir una humedad relativa del 100% (Pw_o) en una cara del film, mientras que se empleó una disolución saturada de nitrato de magnesio (HR 54.4%) para controlar la humedad relativa en la otra cara del film (Pw_2). Las determinaciones se realizaron a 20°C utilizando un ventilador en la parte superior de la copa para eliminar el vapor de agua que atraviesa el film.

Las medidas de la velocidad de transmisión de vapor de agua (VTVA) se realizaron pesando las copas en intervalos de 1.5 horas durante un periodo de 10 horas. La pendiente de la curva peso vs tiempo (J) fue determinada para calcular la velocidad de transmisión de vapor de agua (Ec. 7). Para cada tipo de film las medidas de PVA (Ec. 8) se realizaron en 3 muestras para cada formulación.

$$VTVA = \frac{J}{t \cdot A} \quad (7)$$

$$PVA = \frac{VTVA}{Pw_1 - Pw_2} L \quad (8)$$

Donde:

VTVA=velocidad de transmisión de vapor de agua ($gs^{-1}m^{-2}$);

J=pendiente de la curva de pérdida de peso en el tramo lineal (gs^{-1});

A= área efectiva para la transmisión de vapor de agua (m^2);

Pw_1 = presión parcial de vapor de agua en la superficie del film en la cara interior de la celda (Pa);
 Pw_2 = presión parcial de vapor de agua en la superficie del film en la cara exterior de la celda (Pa);
 L = espesor del film (m)

En films hidrofílicos para considerar el efecto de la capa estanca de aire en las medidas de PVA, los valores de Pw_1 fueron calculados aplicando las ecuaciones siguientes (Gennadios et al., 1994)

$$Pw_1 = Pt - (Pt - Pw_o) \cdot e^{-\frac{N_w h_i}{cD}} \quad (9)$$

$$Nw = (6.43E^{-11})VTVA \quad (10)$$

$$c = \frac{Pt}{R \cdot T} \quad (11)$$

$$D = 0.26 \left(\frac{T}{298} \right)^{1.8} \quad (12)$$

Donde:

P_i = presión total del sistema (Pa);

Pw_o = presión de vapor saturado del agua a la temperatura de trabajo (Pa);

Nw = flujo de agua en el film ($g \cdot mol \cdot cm^2 \cdot s^{-1}$);

h_i = distancia entre el agua desionizada y el film (m);

C = concentración molar total de aire y vapor de agua ($g \cdot mol \cdot cm^{-3}$);

D = difusividad del vapor de agua en el aire ($cm^2 \cdot s^{-1}$);

T = temperatura de trabajo (K);

R = Constante universal de los gases ($Pa \cdot cm^3 \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$)

4.5. Transparencia y color

Los films fueron equilibrados a 54.4% de HR antes de las determinaciones que se realizaron a través del espectro de reflexión de las muestras obtenidas con un espectro colorímetro CM-3600d (Minolta Co, Tokio, Japón). Las mediciones se efectuaron por triplicado en 5 muestras de cada tipo de film sobre un fondo blanco y uno negro.

La transparencia fue determinada aplicando la teoría de Kubelka-Munk (Hutchings, 1999) a los espectros de reflexión de las muestras. La luz que pasa a través de las muestras se ve afectada por el coeficiente de absorción (K) y el coeficiente de dispersión (S) visto en la Ec. 13.

$$\frac{K}{S} = \frac{(1 - R_\infty)^2}{2R_\infty} \quad (13)$$

$$R_\infty = a - (a^2 - 1)^{1/2} \quad (14)$$

$$a = \frac{1}{2} \left(R + \frac{R_0 - R + Rg}{R_0 + Rg} \right) \quad (15)$$

Donde:

R_{∞} = reflectancia de la muestra con un espesor infinito;

R = reflectancia de la muestra;

R_g = reflectancia de la muestra sobre fondo negro de reflectancia conocida;

R_0 = reflectancia de la muestra sobre un negro ideal

El color de las muestras fue expresado en términos de coordenadas L^* , a^* , b^* del espacio CIE $L^*a^*b^*$, calculadas aplicando la teoría de Kubelka-Munk considerando un espesor infinito para los films y utilizando como referencia el observador 10° y el iluminante D65 (Ec. 16,17,18), y a partir de los valores de las coordenadas triestímulo X , Y , Z (Ec. 19, 20,21).

$$L^* = 116 \left(\frac{Y}{Y_n} \right)^{1/3} - 16 \quad (16)$$

$$a^* = 500 \left[\left(\frac{X}{X_n} \right)^{1/3} - \left(\frac{Y}{Y_n} \right)^{1/3} \right] \quad (17)$$

$$b^* = 200 \left[\left(\frac{Y}{Y_n} \right)^{1/3} - \left(\frac{Z}{Z_n} \right)^{1/3} \right] \quad (18)$$

$$X = \sum (S_{(\lambda)} R_{(\lambda)} \bar{x}(\lambda)) \quad (19)$$

$$Y = \sum (S_{(\lambda)} R_{(\lambda)} \bar{y}(\lambda)) \quad (20)$$

$$Z = \sum (S_{(\lambda)} R_{(\lambda)} \bar{z}(\lambda)) \quad (21)$$

Donde:

X_n , Y_n , Z_n = coordenadas triestímulo de la fuente de la luz estándar

$S(\lambda)$ = distribución espectral relativa del iluminante a cada longitud de onda

$R(\lambda)$ = reflectancia de una muestra de espesor infinito a cada longitud de onda R_{∞}

$\bar{x}(\lambda)$, $\bar{y}(\lambda)$, $\bar{z}(\lambda)$ = valores triestímulo espectrales del observador 10° a cada longitud de onda

A partir de las coordenadas L^* , a^* , b^* se calculo el tono (Ec. 22), croma (Ec. 23) e índice de blancura (IB) de los films.

$$h^*_{ab} = \tan^{-1} \left(\frac{a^*}{b^*} \right) \quad (22)$$

$$C^*_{ab} = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (23)$$

$$IB = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}} \quad (24)$$

Donde:

h^*_{ab} = tono;

C^*_{ab} = croma;

IB= índice de blancura

4.6. Brillo

Los films fueron acondicionados a 54.4% de HR a 20°C durante 15 días. El brillo de las muestras fue determinado en 5 muestras de cada tipo de film usando un brillómetro plano (Multi-Gloss 268, Minolta, Alemania) a ángulos de incidencia de 60° perpendicularmente a la superficie de los films, de acuerdo con el estándar D523 de ASTM (ASTM, 1999). Los films fueron colocados sobre un estándar mate y los resultados fueron expresados en unidades de brillo, relativas a una superficie estándar negra altamente pulida con un valor de brillo cercano a 100.

5. Análisis estadístico

Los resultados fueron analizados mediante un análisis de la varianza (ANOVA) mediante el software Statgraphics plus® versión 5.1, utilizando un nivel de significación del 95%

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Propiedades fisicoquímicas de las formulaciones

1.1. Densidad y pH

Los valores de densidad así como los de pH para las distintas FFR se muestran en la Tabla 2.

TABLA 2. Valores de pH para cada formulación

<i>FFR</i>	<i>Densidad (Kg/m³)</i>	<i>pH</i>
H	1002.5(0.4) ^a	7.87(0.06) ^a
H-0.5B	1001.6(0.9) ^a	6.05(0.02) ^b
H-B	1002.6(0.4) ^a	5.39(0.05) ^c
H-2B	999.1(0.2) ^a	4.71(0.02) ^d

^{a,b,c,d} Superíndices diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

La incorporación de BO supuso una disminución significativa del pH de las FFD. El descenso del pH puede estar relacionada con la disociación de ciertos componentes del BO como ácidos naturales presentes en disolución acuosa (Sánchez et al., 2009). Con respecto a la densidad, se observa un ligero descenso aunque no fue significativo ($p > 0.05$).

1.2. Tamaño de Partícula

La distribución de tamaño de partícula para las distintas FFR se muestra en la Figura 1.

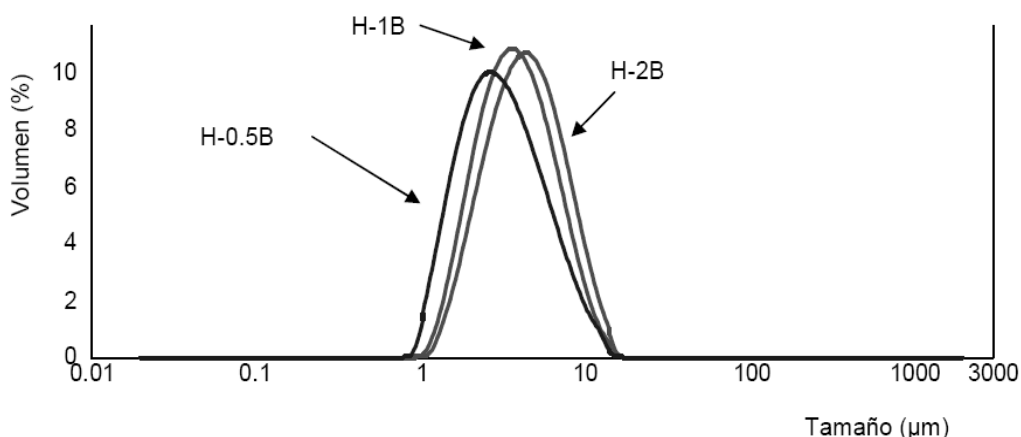


FIGURA 1. Distribución del tamaño de partícula

Se puede observar distribuciones de tamaño de partícula monomodales y polidispersas, con tamaños medios entre 1 y 10 μm para todas las formulaciones. Las FFR con mayores concentraciones de BO dieron lugar a tamaños de partículas mayores.

Esto mismo se muestra en la Tabla 3, a partir del tamaño medio de partícula calculado en términos de d_{32} y d_{43} . La media del tamaño de la distribución de partículas en superficie ($d_{3,2}$) representa el tamaño medio basado en la superficie específica por unidad de volumen, y permite caracterizar las partículas pequeñas y de forma esférica. La media de tamaño de la distribución de partículas en volumen ($d_{4,3}$) representa el tamaño medio basado en la unidad de peso de las partículas, y representa las partículas de mayor tamaño y formas irregulares, tales como los agregados. Además, se calculó el área media superficial de gotas expuestas a la fase continua por unidad de volumen de dispersión (A_N) relacionado con el parámetro d_{32} y el número de partículas por m^3 de FFR (N) estimado a partir del parámetro A_N y d_{43} .

TABLA 3. Valores de tamaño medio de partícula $d_{3,2}$ y $d_{4,3}$, área superficial y número de partículas. Valores medios y (desviación estándar)

FFR	d_{32} (μm)	d_{43} (μm)	$A_N \times 10^{-3}$ (m^2)	$N \times 10^{-13}$ (partículas/m^3)
H-0.5B	2.72(0.02) ^a	3.69(0.02) ^a	0.73(0.01) ^a	1.27(1.7E ⁻²) ^a
H-B	3.32(0.04) ^b	4.39(0.08) ^b	1.20(0.02) ^b	1.50(8.5E ⁻²) ^b
H-2B	3.74(0.15) ^c	4.91(0.28) ^c	2.14(0.09) ^c	2.19(39.0E ⁻²) ^c

^{a,b,c} Superíndices diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

El aumento en la concentración de BO refleja un incremento en el tamaño medio de las partículas obteniendo valores mayores de d_{32} y d_{43} y un aumento del área interfacial (A_N), como consecuencia de la existencia de fenómenos de coalescencia entre las gotas de aceite para un aumento de concentración.

1.3. Caracterización reologica

Las curvas de flujo para cada FFR se muestran en la figura 2, donde se puede observar un comportamiento prácticamente newtoniano ($n \approx 1$). Este comportamiento es habitual tanto en disoluciones diluidas donde la orientación de las moléculas no se ven afectadas aún por el gradiente de velocidad y en disoluciones concentradas, en las que el gradiente de velocidad no es suficiente para afectar a las interacciones intercadena (Mitchel, 1979).

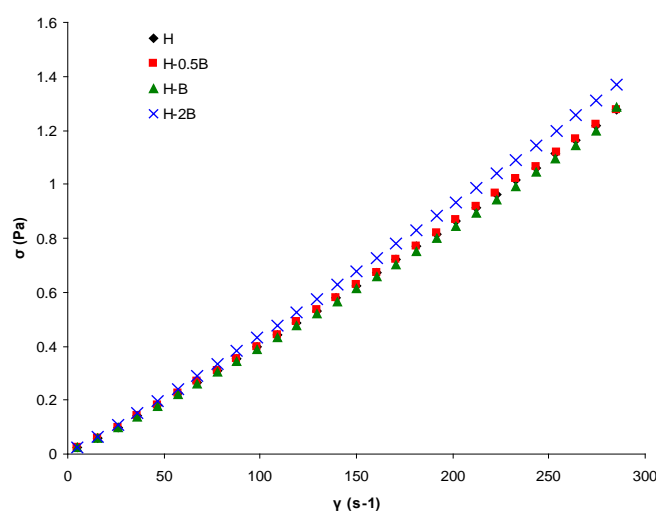


FIGURA 2. Curvas de flujo obtenidas en las distintas FFR a 25°C

La adición de BO no supuso cambios importantes en el comportamiento reológico de las FFR. Las curvas de flujo fueron ajustadas al modelo de Ostwald de Waale y los resultados se muestran en la Tabla 4, junto con la viscosidad aparente (μ_{ap}) calculada a 100 s^{-1} .

TABLA 4. Parámetros del modelo de Ostwald de Waale en cada FFR. Valores medios y (desviación estándar)

	n	k	$\mu_{ap} (100 \text{ s}^{-1})$
H	1.036(0.002) ^a	0.0035(0.0006) ^a	0.0042(0.0005) ^a
H-0.5B	1.035(0.002) ^a	0.0035(0.0009) ^a	0.0042(0.0005) ^a
H-B	1.037(0.005) ^a	0.0035(0.0019) ^a	0.0041(0.0012) ^a
H-2B	1.036(0.001) ^a	0.0037(0.0030) ^a	0.0044(0.0033) ^a

^{a,b,c} Superíndices diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Los valores de viscosidad no se vieron afectados por el contenido en BO a los gradientes de velocidad estudiados. Esto puede ser atribuible a que por lo anteriormente mencionado no se presentan cambios importantes en el número, tamaño y distribución de partículas entre las formulaciones estudiadas. Por esta razón podrían no verse afectadas las propiedades de flujo.

1.4. Potencial ζ

La medida de potencial ζ de las partículas nos describe la estabilidad del sistema coloidal, ya que nos aporta información sobre la carga superficial de las partículas, dando una idea sobre fenómenos de coalescencia y estabilidad. En general sistemas con valores de potencial ζ mayores (en valor absoluto) a 30mV se consideran estables termodinámicamente frente a la floculación y coalescencia (Rolan et al., 2003).

La Tabla 5 muestra los valores de potencial ζ obtenidos para cada una de FFR.

TABLA 5. Potencial ζ en cada FFR. Valores medios y (desviación estándar)

FFR	Potencial ζ
BO	-61.05(3.55)
H	---
H-0.5B	-2.54(0.48) ^a
H-B	-5.17(0.25) ^b
H-2B	-5.65(0.26) ^b

^{a,b,c} Superíndices diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Los valores negativos nos indican que las partículas están cargadas negativamente. Las gotas de aceite de todas las formulaciones muestran valores de potencial bastante bajos (del orden de -2.5 a -5 mV). Teniendo en cuenta que el potencial de una solución acuosa de BO fue de -61 mV (sin hidrocóide), el descenso en la carga superficial de las gotas de aceite de las FFR puede explicarse por la presencia de interacciones y por el apantallamiento de las cargas producido por el HPMC al recubrir las gotas de BO, lo que se traduce en una disminución de la carga neta superficial de las partículas. Vargas (2008) encontró comportamientos similares en dispersiones a base de quitosano (partícula cargada) y metilcelulosa.

2. Caracterización de los film aislados

Se obtuvieron los films secos ajustando a una misma densidad superficial de sólidos, para cada FFR, en el vertido de las formulaciones. En la Figura 2 se observa el aspecto de los films secos a cada FFR, donde se observa que presentan un aspecto similar.

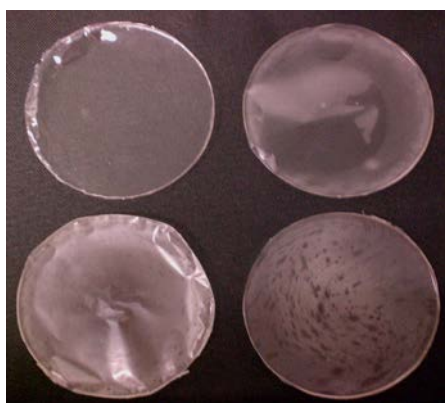


FIGURA 3. Films secos para cada FFR.

2.1. Propiedades Mecánicas

En la Figura 4 se muestra curvas típicas de esfuerzo frente a deformación de Henky obtenidos de los datos de Fuerza-Distancia de los ensayos mecánicos para los diferentes films.

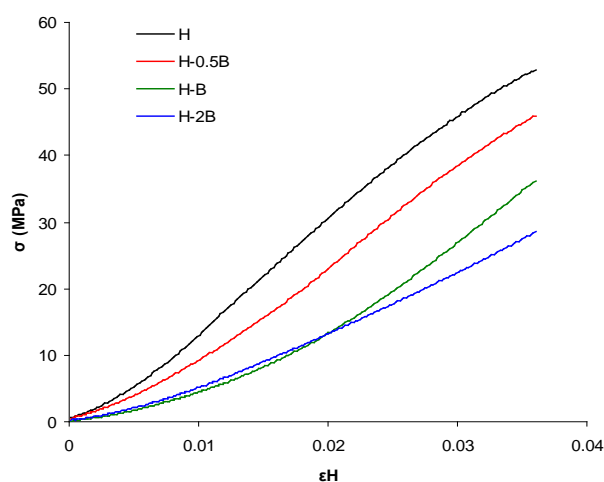


FIGURA 4. Curvas típicas de esfuerzo vs deformación de Henky para cada FFR.

Por lo observado en la figura, los films puros de HPMC son más resistentes a la fractura (mayor σ) y más rígidos (mayor pendiente) que los films compuestos.

Los valores medidos para los parámetros mecánicos obtenidos a partir de las curvas se presentan en la tabla 6. De los resultados obtenidos, el ME nos da una idea de la rigidez del film, el parámetro σ_F es la máxima tensión que puede aplicarse al film antes de provocar su ruptura y ϵ_F es la medida de la capacidad para alargar o estirar el film.

TABLA 6. Módulo de elasticidad (ME), esfuerzo de tracción (σ_F) y porcentaje de deformación en el momento de fractura (ϵ_F). Valores medios y (desviación estándar)

<i>Film</i>	<i>ME (MPa)</i>	<i>σ_F (MPa)</i>	<i>ϵ_F</i>
H	675(31) ^a	56(7) ^a	0.080(0.007) ^a
H-0.5B	519(172) ^a	54(5) ^{ab}	0.053(0.007) ^b
H-B	498(73) ^a	47(15) ^{ab}	0.052(0.011) ^b
H-2B	523(61) ^a	40(13) ^b	0.030(0.010) ^c

^{a,b,c} Superíndices diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

La incorporación de BO supuso un descenso en el módulo de elasticidad y esfuerzo de tracción en el momento de la ruptura debido a que la incorporación de aceite supone una debilitación de la estructura por la aparición de interrupciones en la red de HPMC. Además el porcentaje de elongación también disminuyó, por lo que se obtuvieron films menos rígidos y menos deformables al incorporar mayor concentración de aceite.

Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores para films base de HPMC y aceite esencial de árbol de té (Sánchez et al., 2009)

2.2. Isotermas de sorción

Las isotermas de sorción medidas a 20°C se muestra en la Figura 5.

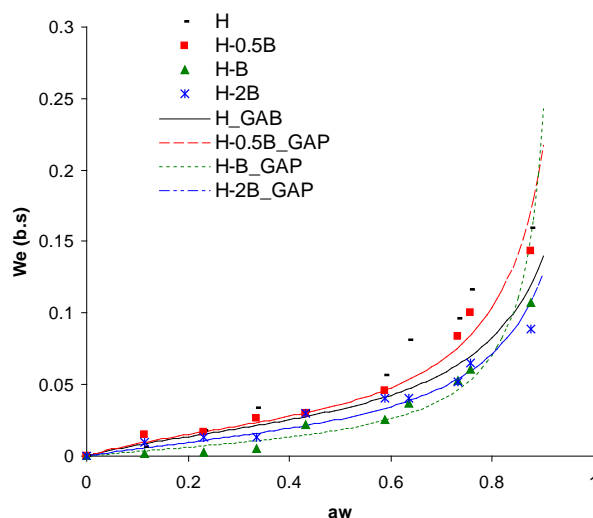


FIGURA 5. Isoterma de sorción de los films a 20°C junto a los parámetros del modelo de GAB.

Se obtuvieron para todos los films isotermas de forma sigmoideal, típica de una isoterma tipo II, y similar a la obtenida por otros autores en films a base de hidrocoloides (Villalobos et al., 2006; Vargas et al., 2008)

La incorporación de BO provoca una disminución en la capacidad de adsorción de agua de los films al aumentar su carácter hidrófobo. Además, se observa como en todos los films se produce un aumento brusco en la humedad de equilibrio a partir de una actividad de agua cercana a 0.6, lo

que nos puede condicionar la aplicación de estos recubrimientos a productos con bajos niveles de humedad.

El modelo de GAB fue utilizado para el ajuste de los datos de adsorción de agua de los films. Las constantes de la ecuación de GAB fueron obtenidas considerando todo el intervalo de actividad de agua, donde los valores obtenidos se muestran en la Tabla 7.

TABLA 7. Parámetros del modelo de GAB estimados para las isotermas de sorción de los diferentes films

	<i>W₀</i>	<i>K</i>	<i>C</i>	<i>R</i> ²
H	0.022	0.947	4.524	0.662
H-0.5B	0.022	1.004	5.153	0.823
H-B	0.014	1.06	2.791	0.748
H-2B	0.018	0.963	3.185	0.773

Se tiene un ligero descenso en la humedad de la monocapa a concentraciones mayores al 1% de BO, esto puede deberse al menor número de sitios disponibles para la adsorción de agua por el aumento de fase lipídica en la matriz. El parámetro C, relacionado con la interacción entre el agua y el film, no mostró ninguna tendencia clara por el efecto de la incorporación de aceite en el film.

2.3. Permeabilidad al vapor de agua

Los valores de permeabilidad al vapor de agua (PVA) a 20°C para un gradiente de humedad relativa de 100/54 se muestran en la tabla 8.

La PVA de los films descendió con la incorporación de BO, efecto esperado por la incorporación de lípidos en la matriz. Esto es debido a que en films más hidrofílicos la PVA aumenta por la plastificación de la red polimérica debida a la sorción de agua que da lugar a una estructura menos densa, con una mayor movilidad molecular permitiendo una mayor permeación y difusión de agua (Morillon et al.,2002).

TABLA 8. Valores de PVA para cada film

Film	PVA x 10 ¹¹ (g Pa ⁻¹ m ⁻¹ s ⁻¹)
H	71.2(7.5) ^a
H-0.5B	65.4(5.7) ^a
H-B	52.3(6.0) ^b
H-2B	31.7(4.1) ^c

^{a,b,c} Superíndices diferentes indican diferencias significativas (p<0.05).

En la tabla 8 se muestra que el descenso en la PVA fue significativo ($p < 0.05$) cuando la concentración de BO fue mayor a 1% obteniendo menores valores al aumentar la concentración de lípidos, donde se encontraron grandes diferencias en formulaciones extremas.

2.4. Translucidez

El espectro de reflexión de las muestras considerando un espesor infinito y las curvas de distribución espectral de K/S se muestran en la figura 6.

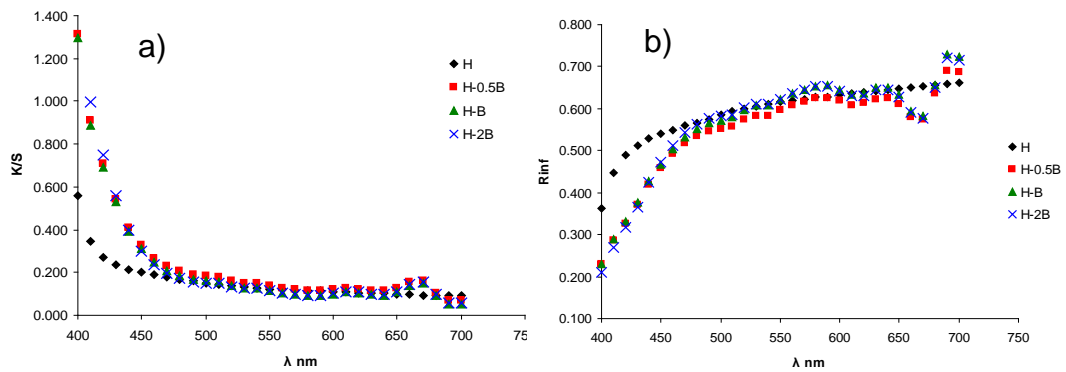


FIGURA 6. (a) Curvas de distribución espectral K/S y (b) espectro de reflexión de los films

Como puede observarse en los espectros de reflexión, los films reflejan la mayor parte de la luz en el intervalo de λ de 500 a 650 nm, donde perciben tonos de color verde-amarillentos. La incorporación de BO disminuye la luz total reflejada, al absorber preferentemente entre las longitudes de onda de 400 a 500 nm.

Las diferentes transparencias en los films están relacionadas con el desarrollo de la estructura interna durante el secado del film, la cual está relacionada con la estructura inicial de las emulsiones (Villalobos et al., 2005).

Los valores de K/S a las longitudes de onda seleccionadas (450nm y 600nm) teniendo en cuenta el espectro de reflexión de las muestras se muestra en la Tabla 9.

TABLA 9. Valores de transparencia (K/S) a 450 y 600nm

	K/S	
	450 nm	600 nm
H	0.20(0.04)a	0.11(0.03)a
H-0.5B	0.31(0.05)b	0.11(0.01)a
H-B	0.31(0.06)b	0.10(0.01)a
H-2B	0.35(0.09)b	0.10(0.02)a

^{a,b} Superíndices diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Se puede observar como la translucidez presenta un ligero aumento con el incremento de concentración de BO. Estos resultados no coinciden con lo encontrado por otros autores cuando se incorporan lípidos a una matriz (Sánchez et al., 2009). Sin embargo las diferentes encontradas son pequeñas y los valores de K/S tienden a igualarse con el aumento en la longitud de onda, donde para 600nm no se observan diferencias significativas entre films.

2.5. Color

Los espectros obtenidos se calcularon para una muestra de espesor infinito para evitar la influencia del fondo de medida (Hutchings, 1999). Se calcularon las coordenadas CIE $L^*a^*b^*$ y a partir de estas se obtuvieron los parámetros cromáticos tono (h^*_{ab}) y croma (C^*_{ab}) así como el índice de blancura (IB) de las muestras los cuales se muestran en la Figura 7.

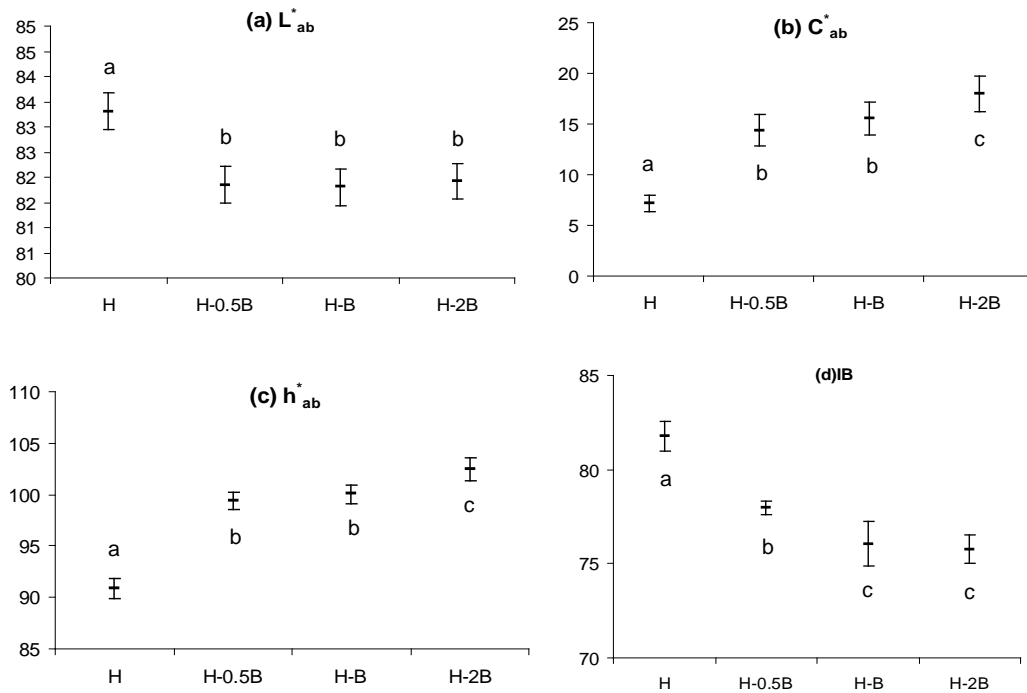


FIGURA 7. (a)Luminosidad,(b)Croma,(c)Tono y (d)Índice de blancura. Medias y desviación estándar. ^{a,b,c} Superíndice diferentes indican diferencias significativas

Se observa que la incorporación de BO supone una mayor saturación del color (croma) así como un aumento en el tono, teniendo cada vez tonalidades más verdes. Esto es coherente con la disminución del índice de blancura de los films, lo cual se debe a la absorción selectiva del BO. Los cambios cuantificados entre los films que contenían BO no fueron apreciados visualmente.

2.6. Brillo

Para superficies semi-brillantes se utilizó el ángulo de 60°, donde los valores obtenidos se presentan en la Tabla 10.

TABLA 10. Valores de brillo a 60°C para cada film

FFR	Brillo 60°
H	50.1(5.7) ^a
H-0.5B	11.1(2.1) ^b
H-B	11.4(2.6) ^b
H-2B	11.5(2.7) ^b

^{a,b} Superíndices diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Por la Tabla 10 se observa que la incorporación de BO supone una disminución significativa en los valores de brillo. El descenso del brillo se relaciona con el aumento de la rugosidad superficial que genera una menor reflectancia de la luz incidente, por lo que se obtiene menor brillo. Esta rugosidad es debida a la morfología superficial desarrolla durante el secado, donde tiene lugar fenómenos de agregación que favorecen la presencia de lípidos en la interfase film-aire, la cual contribuye a la formación de una superficie heterogénea (Ward y Nussinovitch, 1996).

Resultados similares han sido obtenidos por diversos autores (Trezza y Krochta, 2000; Villalobos et al., 2005) en films en cuya composición presentan lípidos.

CONCLUSIONES

La incorporación de aceite esencial de bergamota en la matriz de HPMC tuvo un efecto significativo en las propiedades de las FFR así como cambios importantes en las propiedades de los films secos.

La distribución de tamaño de partícula se vió afectada por el contenido en BO, dando lugar a partículas de mayor tamaño con la mayor concentración de BO. Esto podría presentar problemas de estabilidad en las FFR con el tiempo.

El incremento en BO en los films secos supuso una mejora de las propiedades barrera de films al tener una disminución de la capacidad de sorción y permeabilidad al vapor de agua, pero no de las propiedades mecánicas de los mismos, que se vieron debilitadas (menor resistencia mecánica y menos deformables) ni del brillo, que también disminuyó.

REFERENCIAS

- Cha, D.S., Chinnan, M.S., (2004) Biopolymer-based antimicrobial packaging. A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(4), 223-237.
- 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.
- Fisher, K., Phillips, C., (2008) Potential antimicrobial uses of essential oils in food. *Trends in Food Science & Technology*, 19, 156-164.
- Gennadios et al., (1984) Measurement errors in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. *Journal of Food Engineering*, 21(4), 395-409.
- Hutchings, J.B., (1999) Food color and appearance. 2nd. Ed. Chapman and Hall Food Science Book. Aspen Publisher, Inc. Gaithersburg, Maryland.
- Kester, J. J., Fennema, O. R., (1986) Edible films and coatings: a review. *Food Technology*, 40(12), 47-49.
- Krochta, J.M., De-Mulder-Johnston, C., (1997) Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. *Food Technology*, 51(2), 61-74.
- Li et al. (2002). Evaluation of the film-coating properties of a hydroxyethyl cellulose/hydroxypropyl methylcellulose polymer system. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 28(4), 389–401.
- Mandalari et al., (2007) Antimicrobial activity of flavonoids extracted from bergamot (*Citrus bergamia* Risso) peel, a byproduct of the essential oil industry. *Journal of Applied Microbiology* ISSN 1364-5072
- Mitchel, J.R., (1979) Rheology of polysaccharide solutions and gels. En: *Polysaccharides in Food*. Blanshard, J.M.V., Mitchel J.R. (Eds), Butterworths, London, 51.
- Morillon et al., (2002) Factors affecting the moisture permeability of lipid-based edible films: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42(1), 67-89.
- Pastor et al., (2007) Water vapour permeability and optical properties of hydroxypropyl methylcellulose-oleic acid edible films. *Practical Applications of Research Results EFFoST/EHEDG Conference*.
- Peleg, M., (1979) Characterization of stress relaxation curve of solid foods. *Journal of Food Science*, 44, 277-281.
- Roland et al., (2003) Systematic characterization of oil-in-water emulsions for formulation design. *International Journal of Pharmaceutics*, 263, 85-94.
- 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*, 20, 1–8
- Spiess, W.E.L., Wolf, W.R., (1983) The results of the cost 90 Project on water activity. En: *Physical Properties of Foods*. Jowitt, R., Escher, F., Hallstrom, B., Meffert, H.F.Th., Spiess, W.E.L., Vos, G. (Eds.), London, NY: Applied Science Publishers, 65-91.
- Trezza, T. A., & Krochta, J. M. (2000). The gloss of edible coatings as affected by surfactants, lipids, relative humidity and time. *Journal of Food Science*, 65(4), 658–662.
- Vargas, M., Albors, A., Chiralt, A., González-Martínez, C. (2009). Characterization of chitosan-oleic acid composite films. *Food Hydrocolloids*, 23, 536–547.
- Vargas, M., González-Martínez, C. (2008) Recubrimientos comestibles a base de quitosano: Caracterización y aplicación. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- Villalobos et al., (2005) Gloss and transparency of hydroxypropyl methylcellulose films containing surfactants as affected by their microstructure, *Food Hydrocolloids*, 19, 53-61.
- 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.
- Ward, G., Nussinovich, A., (1996) Gloss properties and surface morphology relationships of fruits. *Journal of Food Science*, 61(5), 973-977.