



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



INSTITUTO DE INGENIERÍA DE
ALIMENTOS PARA EL DESARROLLO

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para
el Desarrollo

Bolsas monodosis de almidón con extracto activo y
microfibras celulósicas de paja de arroz para la
conservación de aceite de girasol.

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Gestión de la Seguridad y Calidad
Alimentaria

AUTOR/A: Valera Manzanares, Julián

Tutor/a: Chiralt Boix, M^a Amparo

Director/a Experimental: VIEIRA DE FREITAS, PEDRO AUGUSTO

CURSO ACADÉMICO: 2021/2022

BOLSAS MONODOSIS DE ALMIDÓN CON EXTRACTO ACTIVO Y MICROFIBRAS CELULÓSICAS DE PAJA DE ARROZ PARA LA CONSERVACIÓN DE ACEITE DE GIRASOL

Julián Valera Manzanares, M^a Amparo Chiralt Boix¹, Pedro Vieira de Freitas¹.

RESUMEN

Se ha estudiado la capacidad para prevenir la oxidación de aceite de girasol de diferentes materiales biodegradables basados en almidón mediante el envasado en bolsas monodosis. Los materiales fueron obtenidos con almidón de maíz y glicerol como plastificante (30 % en peso respecto almidón), con un extracto antioxidante (0, 4, 6 y 8 %, respecto al peso de almidón), y con fibras celulósicas (0 y 3 % respecto al peso de almidón), ambos obtenidos de la paja de arroz. Se han caracterizado las propiedades de barrera al vapor de agua y al oxígeno y las ópticas (color y transmitancia UV-VIS) de los materiales, encontrando una mejora en la capacidad de barrera al vapor de agua y al oxígeno con la incorporación de las fibras, con y sin extracto activo. Este redujo la permeabilidad al oxígeno de los films, pero aumentó la permeabilidad al vapor de agua. Los films con extracto exhibieron alta capacidad para la absorción de la luz UV, y presentaron coloración. Se obtuvieron bolsas monodosis con los films con 0 y 8 % de extracto y con y sin fibras, que se utilizaron para el envasado de aceite de girasol y el estudio de su estabilidad oxidativa en un test acelerado con luz UV a 30 °C. Se analizó el índice de peróxidos y el índice TBARS en función del tiempo de conservación (hasta 50 días). Los resultados obtenidos se analizaron en base a las propiedades de barrera de los materiales y la capacidad antioxidante del extracto. Los films con extracto, con o sin fibras fueron altamente efectivos para retardar la oxidación del aceite debido a la capacidad antioxidante del extracto y su efecto protector contra la radiación UV.

Palabras clave: Antioxidantes, extracto fenólico, paja de arroz, aceite de girasol, índice de peróxidos, estabilidad oxidativa.

RESUM

S'ha estudiat la capacitat per previndre l'oxidació d'oli de gira-sol de diferents materials biodegradables basats en midó mijantsant l'envasat en bosses monodosis. Els materials van ser obtinguts amb midó de dacsa i glicerol com a plastificant (30% en pes respecte midó), amb un extracte antioxidant (0, 4, 6 i 8 %, respecte al pes de midó), i amb fibres cel·lulòsiques (0 i 3% respecte al pes de midó), tots dos obtinguts de la palla d'arròs. S'han

¹ Universitat Politècnica de València. Camino de Vera, s/n 46022 Valencia Tel. (+34) 96 387 70 00

caracteritzat les propietats de barrera al vapor d'aigua i a l'oxigen i les òptiques (color i transmissió UV-VIS) dels materials, trobant una millora en la capacitat de barrera al vapor d'aigua i a l'oxigen amb la incorporació de les fibres, amb i sense extracte actiu. Aquest va reduir la permeabilitat a l'oxigen dels films, però va augmentar la permeabilitat al vapor d'aigua. Els films amb extracte van exhibir alta capacitat per a l'absorció de la llum UV, i van presentar coloració. Es va obtenir bossa monodosi amb els films amb 0 i 8 % d'extracte i amb i sense fibres, que es van utilitzar per a l'envasament d'oli de gira-sol i l'estudi de la seua estabilitat oxidativa en un test accelerat amb llum UV a 30 °C. Es va analitzar l'índex de peròxids i l'índex TBARS en funció del temps de conservació (fins a 50 dies). Els resultats obtinguts es van analitzar sobre la base de les propietats de barrera dels materials i la capacitat antioxidant de l'extracte. Els films amb extracte, amb o sense fibres van ser altament efectius per a retardar l'oxidació de l'oli degut a la capacitat antioxidant de l'extracte i el seu efecte protector contra la radiació UV.

Paraules clau: Antioxidants, extracte fenòlic, palla d'arròs, oli de gira-sol, índex de peròxids, estabilitat oxidativa.

ABSTRACT

The ability of different starch-based biodegradable materials to prevent sunflower oil oxidation by packaging in single-dose bags has been studied. The materials were obtained with corn starch and glycerol as plasticiser (30 % by weight of starch), with an antioxidant extract (0, 4, 6 and 8 % by weight of starch), and with cellulosic fibres (0 and 3 % by weight of starch), both obtained from rice straw. The water vapour and oxygen barrier and optical properties (colour and UV-VIS transmittance) of the materials have been characterized. Water vapour and oxygen barrier capacity improved with the incorporation of the fibres, with and without active extract. On the contrary, when incorporating the extract, oxygen permeability of the films was reduced, but water vapour permeability increased. The films with extract exhibited high UV light absorption capacity and colouring. Single-dose bags were manufactured with the films with 0 and 8 % extract and with and without fibres, which were used for the packaging of sunflower oil. The study of oxidative stability of the latter was performed by an accelerated test with UV light at 30 °C. The peroxides index and TBARS index were analysed in terms of storage time (up to 50 days). Both barrier properties of the material and antioxidant capacity of the extract were analysed. Films with extract, with or without fibres, were highly effective in retarding oil oxidation due to the antioxidant capacity of the extract and its protective effect against UV radiation.

Keywords: Antioxidants, phenolic extract, rice straw, sunflower oil, peroxide value, oxidative stability.

1. INTRODUCCIÓN

El arroz (*Oryza sativa L.*) es un cereal de primordial importancia para la alimentación humana, a la que se dedica el 95% de la producción, siendo básico en la dieta de más de la mitad de la población mundial, especialmente en países subdesarrollados o en vías de desarrollo (MAPAMA, 2019). Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, la producción anual de arroz en 2020 se estimó en 757 millones de toneladas (FAOSTAT, 2020).

En este sentido, la Comunidad Valenciana juega un papel muy importante en la producción de arroz en España, ocupando la cuarta posición con una producción de 124.734 toneladas (16%) (MAPAMA, 2019).

No es de extrañar que, de todos los residuos agroindustriales a nivel mundial, el segundo más producido sea la paja de arroz, ya que por cada kg de grano de arroz producido se generan entre 1 y 1.5 kg de residuo (Peanparkdee et al., 2019). Debido a la dificultad de eliminación de este subproducto, el elevado coste de su retirada y su prácticamente nulo aprovechamiento, la práctica más frecuente llevada a cabo por los agricultores es su quema, reincorporando al suelo nutrientes como N, P y K fundamentalmente (Abril et al., 2009). Sin embargo, esta vía de eliminación tiene serias repercusiones a nivel ambiental con la liberación de contaminantes atmosféricos en forma de partículas como el CO₂, metano, compuestos orgánicos volátiles (VOCs), hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs), compuestos policlorados, dioxinas y furanos (Korenaga et al., 2001; Chaudhary et al., 2016).

Por tanto, el uso y la valorización de la paja de arroz es esencial para minimizar los problemas medioambientales y promover la correcta gestión de residuos (Lahr et al., 2015). Una de las formas de revalorización de la paja de arroz es la extracción de compuestos bioactivos. La paja de arroz es de naturaleza lignocelulósica y una excelente fuente de compuestos bioactivos, como compuestos fenólicos con potencial antioxidante y antimicrobiano (Freitas et al., 2020). Recientemente, estos compuestos bioactivos se han aplicado en el desarrollo de materiales de envasado de alimentos (Menzel et al., 2020) y como ingredientes funcionales, colorantes y conservantes en productos alimenticios para mejorar su valor nutricional, el color, la textura y aumentar la vida útil de los productos (Peanparkdee et al., 2019).

La paja de arroz contiene alrededor de 35% de celulosa, 20% de lignina, 18% de hemicelulosa y 15% de cenizas (en base seca), siendo estas últimas principalmente sílice (Barana et al., 2016). A su vez, es una fuente potencial de compuestos activos (Collazo-Bigliardi et al., 2018a) como diferentes tipos de polifenoles activos (lignanós, estilbenos, flavonoides o ácidos fenólicos) que se encuentran unidos a las fracciones de hemicelulosa o lignina, y que pueden usarse para controlar procesos microbianos u oxidativos, dada su actividad antioxidante y antimicrobiana (Aguiar et al., 2016; Balasundram et al., 2006; Wanyo et al., 2014).

El carácter antioxidante de los polifenoles se asocia con su capacidad para actuar como captadores de radicales libres, mediante su capacidad para

donar los hidrógenos hidroxílicos del anillo bencénico, e inhibir la actividad de la enzima lipoxigenasa y quelar metales (Talón et al., 2017). Por otro lado, la naturaleza antimicrobiana de los polifenoles está asociada con su capacidad para inhibir las enzimas microbianas extracelulares, desestabilizar la membrana citoplasmática y provocar un déficit de los sustratos necesarios para el crecimiento microbiano (Guil-Guerrero et al., 2016).

La extracción de los compuestos bioactivos de la paja de arroz se ve dificultada por su complejidad química, haciendo que el método de extracción y los solventes usados sean factores clave en la eficiencia de extracción. Se han estudiado diferentes métodos para la extracción de los compuestos activos de la paja de arroz, diferenciándose en dos grupos: la extracción convencional por solvente y la extracción por nuevas tecnologías (extracción asistida por microondas, extracción asistida por calentamiento óhmico, extracción con dióxido de carbono supercrítico o extracción asistida por ultrasonidos) (Peanparkdee et al., 2019).

Freitas et al. (2020), desarrollaron un nuevo método de extracción acuosa, combinando un pretratamiento de 30 min de ultrasonidos seguido de 60 min de extracción a reflujo (100 °C). El pretratamiento con ultrasonidos aumentaba la superficie expuesta del sustrato, potenciando el efecto del tratamiento térmico con la escisión de un mayor número de enlaces covalentes entre los compuestos fenólicos y la fracción lignocelulósica. Con este método se consiguió un alto rendimiento en contenido fenólico total (486 mg GAE /100 g de paja seca), con un extracto sólido con gran actividad antimicrobiana y antioxidante.

Además de los compuestos activos, la paja de arroz es una fuente potencial de fracciones celulósicas (Freitas et al. 2022) que, entre otros, pueden ser explotadas como agentes de refuerzo en la obtención de materiales de envasado (Collazo-Bigliardi et al., 2018a; Freitas et al. 2021).

En Freitas et al. (2021), se obtuvieron las fibras de celulosa (CF) a partir del residuo insoluble de la extracción acuosa del RS. Tras la caracterización de las propiedades de las películas de almidón (TPS) a las que se les habían incorporado diferentes porcentajes de estas fibras de celulosa, establecieron como contenido óptimo un 3% de CF. Este porcentaje de CF confería a la película de TPS una mayor rigidez y resistencia a la rotura, así como una mejora en la capacidad de barrera contra el oxígeno y el vapor de agua.

Las reacciones oxidativas y la alteración microbiológica son los principales procesos que provocan cambios no deseados en la calidad y seguridad de los alimentos (Talón et al., 2017). Debido al alto contenido de grasa en algunos alimentos, puede producirse rancidez durante el almacenamiento por la oxidación de los lípidos, lo que produce malos sabores y disminuye el valor nutricional y la seguridad de los productos alimenticios (Collazo-Bigliardi et al., 2019). Los antioxidantes sintéticos, como el hidroxianisol butilado (BHA), el hidroxitolueno butilado (BHT), el galato de propilo (PG) y la terc-butilhidroquinona (TBHQ) se han utilizado comúnmente para suprimir la formación de radicales libres y prevenir la oxidación de lípidos y el deterioro de los alimentos (Shih y Daigle, 2003). Sin embargo, el aumento de la

conciencia de los consumidores sobre los beneficios para la salud de los productos naturales y las preocupaciones sobre el uso de antioxidantes sintéticos han llevado a la industria agroalimentaria a considerar su sustitución por extractos de plantas con actividad antioxidante (Min et al., 2009).

Junto a la necesidad de sustituir los antioxidantes sintéticos por extractos naturales, encontramos otro reto apremiante: el desarrollo de materiales biodegradables para el envasado activo de alimentos como forma de reducir el impacto medioambiental que generan los residuos plásticos posconsumo.

El uso del almidón termoplástico (TPS) ha sido ampliamente estudiado debido a su biodegradabilidad, bajo coste, abundancia e idoneidad para el contacto con alimentos. Las películas de TPS cuentan con una alta capacidad de barrera al oxígeno y gases (Collazo-Bigliardi et al., 2018b). Sin embargo, tienen algunos inconvenientes, como su alta sensibilidad al vapor de agua y fenómenos de retrogradación a lo largo del tiempo. Su utilización para productos lipídicos sensibles a la oxidación, como los aceites y grasas, es adecuada ya que no estaría en contacto con fases acuosas para lo cual no sería indicado por su alta solubilidad en agua, y podría prevenir su oxidación por su alta capacidad de barrera al oxígeno. La incorporación de fracciones celulósicas y extractos activos provenientes de subproductos lignocelulósicos podrían mejorar las propiedades de las películas de almidón, mientras que el uso de estos componentes permitiría la revalorización de estos residuos en el contexto de la economía circular (Collazo-Bigliardi et al., 2019).

El objetivo del presente trabajo fue la utilización de un extracto activo y microfibras celulósicas de la paja de arroz, para la mejora de las propiedades funcionales de films de almidón, evaluando las propiedades de barrera y ópticas de los films y analizando su capacidad para la conservación de aceite de girasol, inhibiendo su oxidación.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materiales

El extracto activo en polvo y las fibras de celulosa de la paja de arroz (*Oryza sativa L.*), procedente de arrozales de La Albufera (Valencia, España), fueron suministrados en el laboratorio, resultado de estudios previos (Freitas et al., 2019 y 2021). El almidón de maíz (27% de amilosa) fue suministrados por Roquette (Roquette Laisa, Benifaió, España).

El glicerol, el ácido acético, el pentóxido de difosforo (P_2O_5), el carbonato de sodio (Na_2CO_3) (99,5% de pureza) y el nitrato de magnesio ($Mg(NO_3)_2$) se adquirieron de PanReac Química S.L.U. (Castellar del Vallés, España). Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EE.UU) suministró el clorito de sodio, el ácido 2-tiobarbitúrico (> 98% de pureza) y el 1,1,3,3-tetrametoxipropano. Por último, el yodo (95.5% de pureza) se obtuvo de Acros Organics® (Geel, Bélgica).

2.2. Preparación de las películas

Se prepararon ocho formulaciones diferentes, con fracciones másicas de cada componente recogidas en la Tabla 1. Las películas control se formularon con almidón de maíz y glicerol como plastificante al 30 % en peso, respecto al polímero. La incorporación del extracto activo a las películas se llevó a cabo adicionando a la mezcla control un porcentaje de 4, 6 y 8% de extracto respecto a la masa total del polímero. Así mismo, se obtuvieron películas de almidón reforzadas con microfibras celulósicas al 3 % respecto a la masa de polímero, y con diferentes porcentajes de extracto (0, 4, 6 y 8% en peso respecto a la masa de polímero). Cada formulación se mezcló en un mezclador interno (HAAKETM PolyLabTM QC, Thermo Fisher Scientific, Alemania) a 130 °C y 50 rpm durante 10 min hasta su plastificación. La mezcla sólida obtenida se molió y acondicionó a 25 °C y 53% de humedad relativa (HR) durante una semana. Las películas se obtuvieron en un proceso de moldeo por compresión utilizando una prensa hidráulica (Modelo LP20, Labtech Engineering, Tailandia). En este proceso, se colocaron 4 g de los pellets en láminas de teflón y se introdujeron en la prensa hidráulica, siguiendo el siguiente ciclo: precalentamiento a 160 °C durante 3 min, compresión a 30 bares y 160 °C durante 2 min, seguido de 6 min a 160 °C y 130 bares y posteriormente un enfriamiento final hasta 80 °C. Todas las películas resultantes se acondicionaron a 25°C y 53% de humedad relativa (HR) durante una semana, previo a su caracterización.

TABLA 1. Fracciones másicas de las diferentes películas estudiadas: TPS (0% extracto), TPS-4 (4% extracto), TPS-6 (6 % extracto), TPS-8 (8 % extracto), TPScf (3% MC, 0% extracto), TPScf-4 (3% MC, 4% extracto), TPScf-6 (3% MC, 6% extracto), TPScf-8 (3% MC, 8% extracto).

Muestra	X _{almidón}	X _{glicerol}	X _{EA}	X _{CF}
TPS	0.770	0.230	-	-
TPS-4	0.746	0.224	0.030	-
TPS-6	0.735	0.220	0.045	-
TPS-8	0.724	0.217	0.059	-
TPScf	0.753	0.225	-	0.022
TPScf-4	0.730	0.218	0.030	0.022
TPScf-6	0.719	0.216	0.044	0.021
TPScf-8	0.709	0.213	0.057	0.021

2.3. Propiedades ópticas de las películas: color y transmitancia UV-VIS

Las propiedades ópticas de los films (transparencia y color) se analizaron empleando un espectrocólorímetro (CM-3600d, Minolta Co., Japan) de acuerdo con la teoría de Kubelka-Munk de dispersión múltiple (Hutchings, 1999) para determinar los espectros de reflexión de las películas (R) entre 400 y 700 nm, sobre fondo negro (R₀) y blanco (R_g). Estas mediciones se tomaron seis veces para cada muestra. Las coordenadas de color L*a*b* de las películas se obtuvieron utilizando el iluminante D65 y el observador de 10°, a

partir de la reflectancia infinita (R_{∞}) obtenida con las ecuaciones (1-3) (Rojas-Lema et al., 2020). Además, se obtuvieron las coordenadas psicométricas Chroma o saturación (C_{ab}^*) y ángulo de tonalidad (h_{ab}^*), mediante las ecuaciones (4) y (5), respectivamente. Por último, se cuantificó la diferencia de color (ΔE^*) de las películas respecto a las películas control de almidón mediante la ecuación (6).

$$R_{\infty} = a - b \quad (1)$$

$$a = \frac{1}{2} \left[R + \left(\frac{R_0 - R + R_g}{R_0 \times R_g} \right) \right] \quad (2)$$

$$b = \sqrt{a^2 - 1} \quad (3)$$

$$C_{a,b}^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (4)$$

$$h_{a,b}^* = \arctg(b^*/a^*) \quad (5)$$

$$\Delta E_{a,b}^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (6)$$

donde: $\Delta E_{a,b}^*$ = diferencia de color de las películas respecto a las películas control de almidón; ΔL^* , Δa^* , Δb^* = diferencias entre los parámetros de color de las películas probadas y los valores de la película control de almidón.

Se obtuvieron también los espectros de transmisión UV-Vis entre 200 y 900 nm mediante un espectrofotómetro UV-visible (Evolution 201, Thermo Scientific) en modo de transmisión de luz para la evaluación de las propiedades de barrera a la luz de las películas.

2.4. Caracterización de las propiedades de barrera de las películas

2.4.1. PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA

La permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las diferentes películas se determinó gravimétricamente, expresándose en $\text{mm.g.kPa}^{-1}.\text{h}^{-1}.\text{m}^{-2}$, siguiendo la norma ASTM E96/E96M (ASTM, 2005) con la modificación propuesta en Mc Hung et al. (1993). Las muestras se cortaron en forma circular ($\varnothing = 3,5$ cm) y se colocaron en copas de permeabilidad Payne que contenían 5 mL de agua destilada (100% HR). Posteriormente, las copas se colocaron en un desecador a 25 °C que contenía una solución sobresaturada de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$

para mantener una humedad relativa del 53%. Los sistemas se pesaron periódicamente en una balanza analítica ($\pm 0,0001$ g) cada 1,5 h durante 24 h. De esta forma, la tasa de transmisión del vapor de agua (WVTR) de cada película se determinó a partir de la pendiente de la curva dada por la pérdida de peso-tiempo, cuando se alcanzó el estado estacionario.

A partir de los datos del WVTR, se obtuvieron los valores de la presión de vapor en la superficie interior de la película (p_2) teniendo en cuenta el método propuesto por Mc Hung et al., 1993 (Ecuación 7) para corregir el efecto de los gradientes de concentración establecidos en el espacio de aire estancado dentro de la copa.

$$WVTR = \frac{P \cdot D \cdot \ln\left[\frac{(P-p_2)}{(P-p_1)}\right]}{R \cdot T \cdot \Delta z} \quad (7)$$

donde: P = presión total; D = difusividad del agua a través del aire a 5°C; R = constante de la ley de los gases; T = temperatura absoluta; Δz = altura media de la cámara de aire estancada, considerando el valor inicial y final de z; p_1 = presión de vapor de agua en la superficie de la solución; p_2 = presión de vapor de agua corregida en la superficie interior de la película en la copa.

La permeabilidad al vapor de agua se obtuvo multiplicando la permeabilidad por el espesor medio de la película (Ecuación 8).

$$Permeance = \frac{WVTR}{(P_2 - P_3)} \quad (8)$$

donde: p_2 = presión de vapor en la superficie interior de la película; p_3 = presión de vapor en la superficie exterior de la película.

2.4.2. PERMEABILIDAD AL OXÍGENO

La permeabilidad al oxígeno (OP) de las diferentes películas se determinó utilizando un equipo OX-TRAN (Modelo 8101e, Systech Illinois, Illinois, EE. UU.) siguiendo el método estándar ASTM D3985-05 (ASTM, 2010). Se expuso un área 50 cm² de cada película al flujo de oxígeno, obteniendo la transmisión de oxígeno cada 15 min hasta alcanzar el equilibrio. Los valores OP se obtuvieron dividiendo la transmisión de oxígeno entre la diferencia de la presión parcial de oxígeno a ambos lados de la película y multiplicando, posteriormente, por el espesor promedio de la película. Este análisis se realizó por triplicado para cada formulación.

2.5. Estudio de la capacidad de prevención de la oxidación del aceite de girasol de las películas.

El estudio de las propiedades activas de las películas (con y sin extracto de paja de arroz) que mejores propiedades funcionales habían demostrado (TPS, TPScf, TPS-8 y TPScf-8) se llevó a cabo en aceite de girasol. Para ello, se realizó un ensayo de oxidación acelerada durante 50 días. En este ensayo, se obtuvieron bolsas rectangulares (7 cm x 11 cm) por el

termosellado de las diferentes películas en estudio, por duplicado, empleando una envasadora al vacío (Vacío Press, Saeco). Posteriormente, se colocaron 7 ml de aceite de girasol comercial en cada una de ellas y se termosellaron (Figura 2). Se utilizó una muestra control en placa Petri abierta para verificar la eficacia oxidante del test. Todas las muestras se almacenaron en una cámara a 30 °C y 53 % HR, expuestas a luz fluorescente (intensidad de 1000-1500 lux) a 30 cm de las muestras durante 50 días. Se evaluó la estabilidad oxidativa de las muestras de aceite envasado en las 4 bolsas monodosis diferentes (TPS, TPScf, TPS-8 y TPScf-8) a 0, 10, 20, 35 y 50 días de almacenamiento, en términos del índice de peróxido y el índice de sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS).

2.5.1. ANÁLISIS DEL ÍNDICE DE PERÓXIDOS

El índice de peróxidos se analizó según el método volumétrico de la IUPAC (International Union of Pure & Applied Chemistry) para todas las muestras de aceite de girasol. En primer lugar, se disolvió 1 g de aceite de girasol en 10 mL de un solvente orgánico (ácido acético glacial:decan-1-ol en una proporción 3:2 (v/v)). A continuación, se añadieron 200 µL de una solución saturada de yoduro potásico y se mantuvo 1 min en oscuridad. Transcurrido ese tiempo, se agregaron 50 mL de agua destilada. La valoración de la dispersión se realizó en titulador automático (Titrande, Metrohm Ion Analysis, Suiza) con tiosulfato de sodio 0,01 o 0,001 M, según la concentración de peróxido esperada. Este procedimiento se realizó por duplicado para cada tratamiento.

2.5.2. ANÁLISIS DE SUSTANCIAS REACTIVAS AL ÁCIDO 2-TIOBARBITÚRICO (TBARS)

El índice TBARS se llevó a cabo siguiendo el método descrito por Papastergiadis et al. (2012) para todas las muestras estudiadas, expresándose como mg de malonaldehído (MDA) por kg de aceite de girasol, utilizando 1,1,3,3-tetrametoxipropano como estándar (0,5 - 12 µM). En primer lugar, se mezcló 1 g de muestra con 5 mL de agua destilada, se agitó durante 2 min en vortex y se centrifugó durante 5 min a 5000 g. A continuación, se separó y recogió la fase acuosa. Este procedimiento se repitió dos veces. En segundo lugar, se mezclaron 2 mL de la fase acuosa obtenida previamente con 2 mL de una solución de ácido 2-tiobarbitúrico (46 mM) en un tubo de ensayo. Los tubos de ensayo se calentaron a 100 °C durante 35 min y, una vez transcurrido ese tiempo, se enfriaron a temperatura ambiente. Finalmente, se obtuvo la absorbancia de cada muestra a 532 nm.

2.6. Análisis estadístico

Para determinar la existencia de diferencias significativas entre las muestras analizadas, se empleó la prueba de rango estudentizado de Tukey (HSD), considerando una diferencia mínima significativa (α) del 5 %.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Propiedades ópticas y transmitancia UV-VIS de las películas

La incorporación de extractos activos y fibras celulósicas de la paja de arroz afectó a las propiedades de color de las películas, como se refleja en los espectros de transmitancia interna (Ti) de los diferentes films (Figura 1) y en las coordenadas de color de los mismos, mostradas en la Tabla 2. La transparencia de las películas, cuantificada por la Ti, depende de la microestructura interna de la matriz polimérica y de la distribución de los componentes incorporados en cada caso, produciendo una mayor o menor dispersión de luz (Muller et al., 2017). La Figura 1 muestra las diferencias entre los espectros UV-VIS de las películas con diferentes contenidos de extracto de paja de arroz y fibras de celulosa con respecto al film control TPS (sin extracto ni fibras). Los altos valores de transmitancia del film control TPS son coherentes con la homogeneidad de la película. Se observó una disminución gradual en la transmitancia de las películas con extracto, que fue proporcional a su concentración en la matriz de almidón. Al tratarse de un componente coloreado, este absorbe selectivamente la luz (reduciendo su transmisión) a una longitud de onda menor de 400 nm. Esta disminución fue mayor en las muestras con un 3% de fibras celulósicas. Las fibras redujeron también la transmitancia de los films de almidón (muestra TPScf), pero esta disminución fue menos selectiva para las diferentes longitudes de onda de la banda visible, dado que el efecto de las fibras es la dispersión de luz por cambios en el índice de refracción de la matriz con fibras dispersas.

En conjunto, tanto la absorción selectiva de los compuestos coloreados del extracto, como la dispersión de la luz por las partículas fibrosas incorporadas en la matriz, contribuyen a aumentar la capacidad de barrera a la luz de las películas, protegiendo así a los alimentos envasados frente a los procesos oxidativos inducidos por la luz.

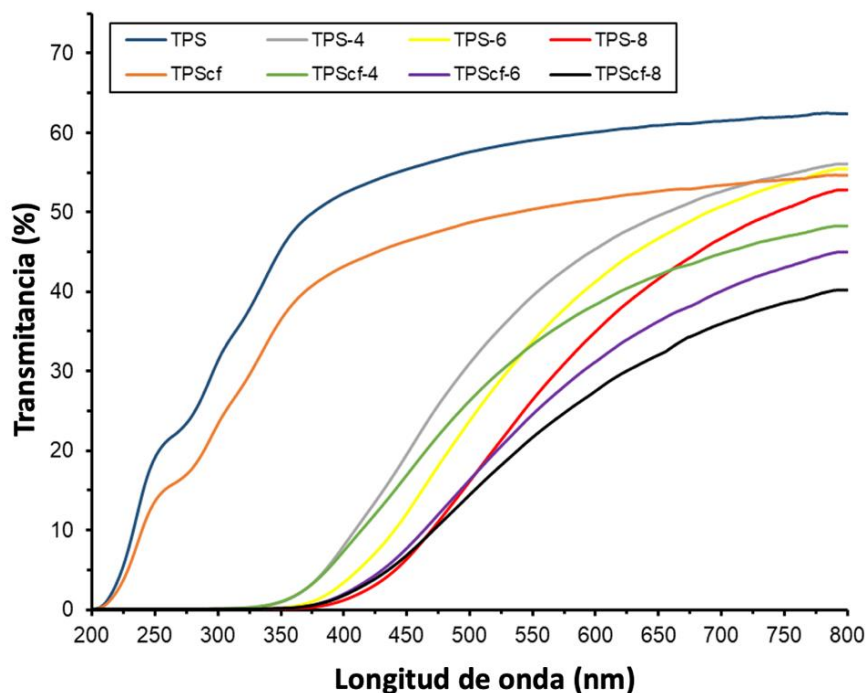


FIGURA 1. Espectros UV-Vis de películas de almidón con diferentes contenidos de extracto de paja de arroz (0%, 4%, 6% y 8% en peso) y de fibras celulósicas (0% y 3% en peso).

La Tabla 2 muestra los valores de las coordenadas de color (Luminosidad: L^* , croma o saturación: C_{ab}^* y tono: h_{ab}^*) de las diferentes formulaciones de los films, así como la diferencia de color (ΔE^*) de las películas respecto a la película control de almidón (TPS). Se observó una reducción progresiva, estadísticamente significativa ($p < 0.05$), de la luminosidad de las películas conforme aumentaba el porcentaje de extracto activo incorporado. De la misma forma, la saturación de color (C_{ab}^*) aumentó significativamente, mientras que los valores de la tonalidad (h_{ab}^*) disminuyeron (viraje al rojo) con la incorporación de los extractos a las películas. Por otra parte, aunque la incorporación de fracciones celulósicas (CF) no supuso una diferencia de color relevante en las películas, sí que favoreció un color más vivo (valores C_{ab}^* ligeramente más altos) con respecto al film control TPS, promovido por la dispersión de la luz de las fibras contenidas en la matriz. Sin embargo, este efecto en la saturación no se observó en las muestras que incorporaron extracto, además de las fibras.

Los valores de la diferencia de color (ΔE^*) para cada una de las películas (utilizando la película control de PLA como referencia), se vieron afectados por la concentración de extracto (aumentaron a medida que lo hacía el porcentaje de extracto incorporado a la matriz polimérica), mientras que la película TPScf no presentó una diferencia de color apreciable ($\Delta E^* < 1$) para un observador (Rojas-Lema et al., 2020). La mayor diferencia se obtuvo en las películas con un 8% de extracto, con y sin CF.

TABLA 2. Coordenadas de color (Luminosidad: L^* , croma: C_{ab}^* y tono: h_{ab}^*) y diferencia total de color (ΔE^*) con respecto a la película TPS, de las películas TPS con diferentes proporciones de extracto (0%, 4%, 6% y 8 % en peso) con y sin fibras de celulosa (CF).

Formulación	L^*	C_{ab}^*	h_{ab}^*	ΔE^*
TPS	$88.5 \pm 0.1^{a,1}$	$7.57 \pm 0.10^{a,2}$	$92.5 \pm 0.1^{a,1}$	-
TPS-4	$68.9 \pm 1.4^{b,1}$	$43.23 \pm 1.38^{c,1}$	$80.6 \pm 0.1^{b,1}$	40.4 ± 2.0^d
TPS-6	$60.4 \pm 0.7^{c,1}$	$48.68 \pm 0.50^{d,1}$	$74.3 \pm 1.2^{c,1}$	50.1 ± 0.7^{bc}
TPS-8	$55.5 \pm 2.0^{d,1}$	$47.66 \pm 0.94^{d,1}$	$70.0 \pm 1.8^{e,1}$	52.5 ± 0.6^a
TPScf	$88.1 \pm 0.2^{a,1}$	$8.26 \pm 0.50^{b,1}$	$92.6 \pm 0.3^{a,1}$	0.8 ± 0.4^e
TPScf-4	$67.9 \pm 1.2^{b,1}$	$42.75 \pm 0.76^{d,1}$	$80.1 \pm 0.8^{b,1}$	40.8 ± 1.2^d
TPScf-6	$60.5 \pm 0.8^{c,1}$	$47.74 \pm 0.23^{d,1}$	$74.3 \pm 0.7^{c,1}$	49.2 ± 0.6^c
TPScf-8	$59.3 \pm 0.7^{c,1}$	$49.37 \pm 0.62^{d,1}$	$72.9 \pm 0.8^{c,1}$	51.4 ± 0.3^{ab}

Las diferentes letras de superíndice indican diferencias significativas entre las muestras del mismo grupo (TPS o TPScf), mientras que los diferentes números indican diferencias significativas entre las muestras de TPS y TPScf con la misma proporción de extracto (Tukey test, $p < 0.05$).

3.2. Propiedades de barrera al oxígeno y al vapor de agua de las películas

El extracto y fibras celulósicas de la paja de arroz, incorporados en las películas de TPS, afectaron a la capacidad de barrera al oxígeno (OP) y al vapor de agua (WVP) de las diferentes películas estudiadas, como muestran los valores reflejados en la Tabla 3. La incorporación de extracto supuso una mejora en la capacidad de barrera al oxígeno de las películas, con una reducción estadísticamente significativa de los valores de OP con respecto al film control TPS. Este comportamiento puede ser explicado por la capacidad de captación de oxígeno de los compuestos fenólicos del extracto (Muller et al., 2017), lo que dificulta su difusión dentro de la matriz.

Sin embargo, en las películas con extracto se vio favorecida la permeabilidad del vapor de agua (con un aumento estadísticamente significativo de los valores WVP con respecto al control TPS). Esto podría explicarse por un aumento en la movilidad molecular de las moléculas de agua tras la plastificación de la matriz promovida por la incorporación del extracto (Freitas et al., 2022). Los cambios en las propiedades de barrera, en términos de WVP y OP, fueron independientes de la concentración del extracto incorporada en el film.

Por otro lado, las películas que contenían fibras celulósicas mostraron una mejora estadísticamente significativa, tanto en la permeabilidad al oxígeno como en la permeabilidad al vapor de agua (menores valores de OP y WVP, respectivamente), para los films con o sin extracto. Este comportamiento de los films con fibras, con mayor capacidad de barrera al oxígeno y al vapor de agua, concuerda con la reducción esperada del coeficiente de difusión al

aumentar el factor de tortuosidad para la transferencia de masa en la matriz polimérica.

TABLA 3. Permeabilidad al oxígeno (OP) y permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas de almidón termoplástico con diferentes contenidos de extracto (0%, 4%, 6% y 8% en peso) y de fibras celulósicas (0% y 3% en peso).

Formulación	OP ($\times 10^{14}$) ($\text{cm}^3 \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$)	WVP ($\text{mm} \cdot \text{g} \cdot \text{kPa}^{-1} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$)
TPS	$8.6 \pm 0.2^{a,1}$	$6.3 \pm 0.2^{b,1}$
TPS-4	$7.8 \pm 0.1^{b,1}$	$7.9 \pm 0.3^{a,1}$
TPS-6	$7.4 \pm 0.1^{c,1}$	$7.8 \pm 0.3^{a,1}$
TPS-8	$7.7 \pm 0.2^{bc,1}$	$7.6 \pm 0.1^{a,1}$
TPScf	$6.3 \pm 0.1^{a,2}$	$5.9 \pm 0.2^{b,2}$
TPScf-4	$6.9 \pm 0.1^{a,2}$	$7.2 \pm 0.2^{a,2}$
TPScf-6	$6.8 \pm 0.5^{a,2}$	$7.1 \pm 0.2^{a,2}$
TPScf-8	$6.7 \pm 0.2^{a,2}$	$6.8 \pm 0.1^{a,2}$

Las diferentes letras de superíndice indican diferencias significativas entre las muestras del mismo grupo (TPS o TPScf), mientras que los diferentes números indican diferencias significativas entre las muestras de TPS y TPScf con la misma proporción de extracto (Tukey test, $p < 0.05$).

3.3. Capacidad antioxidante de las películas y prevención de la oxidación del aceite de girasol

Para evaluar la capacidad antioxidante de las películas con extracto y la capacidad para prevenir la oxidación de alimentos reales, se llevó a cabo un ensayo de oxidación acelerada con aceite de girasol. Para ello, se obtuvieron bolsas monodosis a partir de las películas de TPS que incorporaban un 8% de extracto activo con y sin fibras (TPS-8 y TPScf-8), al ser las formulaciones que habían mostrado una menor permeabilidad al oxígeno y una mayor capacidad de barrera a la luz. Además, con fines comparativos, se incluyeron en el análisis bolsas monodosis formadas a partir de las formulaciones correspondientes sin extracto (TPS y TPScf).

La oxidación lipídica que tuvo lugar en el aceite de girasol (rico en ácidos grasos insaturados) durante su almacenamiento puede ser cuantificada mediante el índice de peróxidos (Figura 2) y el índice TBARS (Figura 3). El índice de peróxidos está asociado con la presencia de hidroperóxidos derivados de una etapa de oxidación primaria de los ácidos grasos poliinsaturados presentes en la muestra (Sadeghi et al., 2017). El ensayo TBARS mide la cantidad de malondialdehído (MDA) producido por los productos secundarios de la oxidación de ácidos grasos insaturados (Song et al., 2014).

La Figura 2 refleja el índice de peróxidos de las diferentes muestras evaluadas en función del tiempo de almacenamiento en condiciones de

oxidación acelerada con luz UV. La muestra control (muestra de aceite en placa Petri abierta) confirmó la eficacia oxidante del ensayo al observarse un rápido aumento del índice de peróxidos en esta muestra. El índice de peróxidos tuvo valores mucho menores en las muestras de aceite envasado (películas con valores de OP relativamente bajos). Destacan las muestras contenidas en las bolsas monodosis preparadas a partir de películas de TPS con un 8% de extracto activo (con y sin fibras), ya que retrasaron con mayor eficacia la formación de peróxidos. Este efecto puede atribuirse a la acción antioxidante de los compuestos fenólicos del extracto activo, así como al efecto protector frente a la radiación UV.

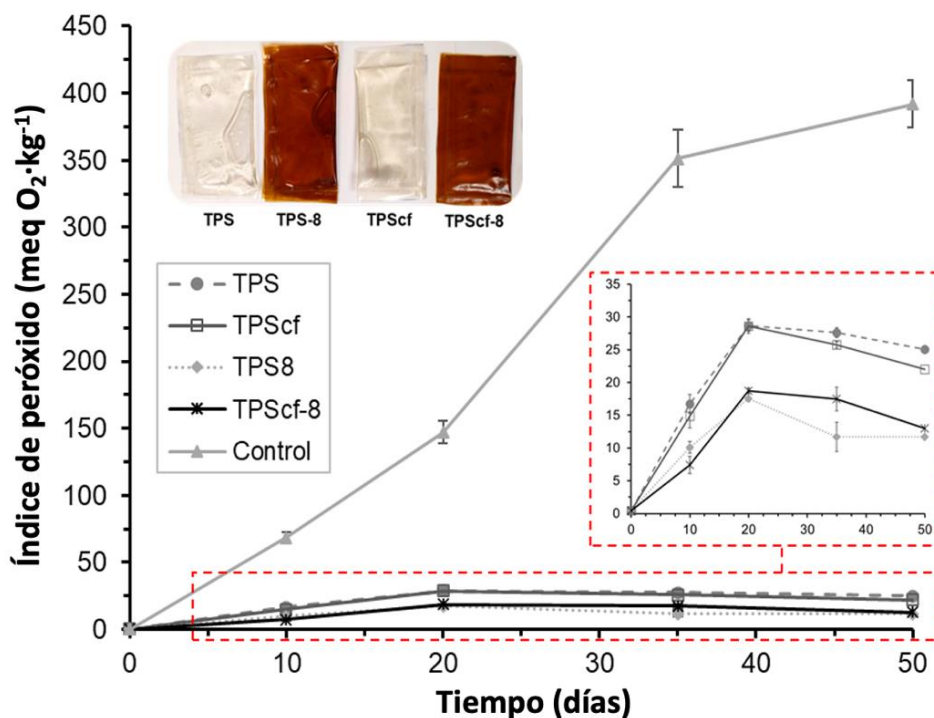


FIGURA 2. Índice de peróxidos del aceite de girasol envasado en películas de almidón con y sin extracto de paja de arroz (8% en peso) y fibras de celulosa, en comparación con las muestras control abiertas, a lo largo de 50 días de almacenamiento.

La fase de oxidación lipídica secundaria aparece reflejada en los valores del índice TBARS de las diferentes muestras en la Figura 3. Al igual que en el ensayo del índice de peróxidos, se observa una clara diferencia entre el índice TBARS de las muestras de aceite envasado y la muestra control abierta debido al efecto protector de los envases. Las muestras envasadas en las películas con extracto, con y sin fibras celulósicas, no reflejaron una diferencia significativa en los valores del índice TBARS, a pesar de que las muestras envasadas en las películas con fibras sí que mostraron un menor índice de oxidación lipídica secundaria con respecto a la película TPS sin fibras. Este comportamiento puede atribuirse a la elevada capacidad del extracto para ralentizar la oxidación del aceite de girasol inducida por la luz, de forma que se enmascaran las diferencias entre las películas TPS-8 y TPScf-8 debidas al efecto de las fibras (reducción de la permeabilidad al oxígeno y de la transmitancia).

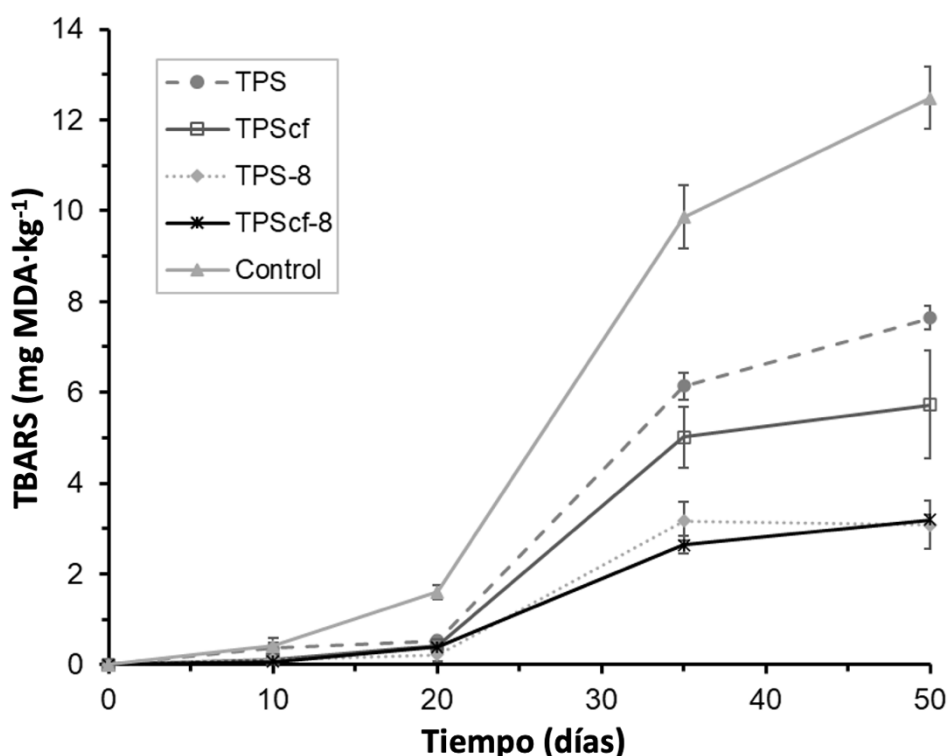


FIGURA 3. Valores TBARS del aceite de girasol envasado en películas de almidón con y sin extracto de paja de arroz (8% en peso) y fibras celulósicas, en comparación con las muestras control abiertas, a lo largo de 50 días de almacenamiento.

En términos de oxidación de lípidos, los resultados reflejan la efectividad de las bolsas monodosis de almidón para retrasar la oxidación del aceite de girasol al incorporar tanto el extracto activo como las fibras celulósicas de la paja de arroz, siendo el primero muy efectivo para inhibir la oxidación.

4. CONCLUSIÓN

Mientras que las fibras celulósicas mostraron una mejora significativa en la permeabilidad al oxígeno y al vapor de agua de los films de almidón (con y sin extracto activo), la incorporación del extracto activo redujo la transmitancia UV y proporcionó una elevada capacidad antioxidante a las películas de almidón, siendo muy efectivas para prevenir la oxidación del aceite de girasol durante su almacenamiento

Por tanto, la sinergia generada con la incorporación de extractos activos y fibras celulósicas de la paja de arroz en películas termoplásticas de almidón (TPS) condujo a una mejora de sus propiedades para el envasado activo de alimentos, consolidándose como una buena estrategia para la revalorización de este residuo agroalimentario y contribuyendo en la reducción del impacto medioambiental causado por el uso del tradicional envase de plástico de un solo uso.

5. AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer al laboratorio de la Dra. Chiralt por haberme acogido y acompañado en el desarrollo de este proyecto. Especialmente, me gustaría mencionar a mi tutor experimental, Pedro Freitas, por haber hecho mi estancia en el laboratorio tanto didáctica como autónoma.

Por último, me gustaría dar las gracias a mi familia y a mis compañeras de laboratorio, Nuria y Laia, por escucharme y apoyarme siempre a lo largo de este año.

6. REFERENCIAS

- Abril, D. & Navarro, E. & Abril, A. (2009). La paja de arroz. Consecuencias de su manejo y alternativas de aprovechamiento. *Revista de la Facultad de Agronomía*. Vol. 17. 69-79.
- Aguar, J., Estevinho, B. N., & Santos, L. (2016). Microencapsulation of natural antioxidants for food application – The specific case of coffee antioxidants – A review. *Trends in Food Science & Technology*, 58, 21–39.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential use. *Food Chemistry*, 99, 191–203.
- Barana, D.; Salanti, A.; Orlandi, M.; Ali, D.S.; Zoia, L. Biorefinery process for the simultaneous recovery of lignin, hemicelluloses, cellulose nanocrystals and silica from rice husk and *Arundo donax*. *Ind. Crop. Prod.* 2016, 86, 31–39.
- Chaudhary, A. K., Singh, V., & Tewari, M. (2016). Utilization of waste agriculture byproduct to enhance the economy of farmers. *Indian Research Journal of Extension Education*, 12(2), 89–92.
- Collazo-Bigliardi, S., Ortega-Toro, R., & Chiralt, A. (2018a). Isolation and characterization of microcrystalline cellulose and cellulose nanocrystals from coffee husk and comparative study with rice husk. *Carbohydrate Polymers*, 191, 205–215.
- Collazo-Bigliardi, S., Ortega-Toro, R., & Chiralt, A. (2018b). Reinforcement of thermoplastic starch films with cellulose fibres obtained from rice and coffee husks. *Journal of Renewable Materials*, 6(6), 599–610
- Collazo-Bigliardi, S., Ortega-Toro, R., & Chiralt, A. (2019). Improving properties of thermoplastic starch films by incorporating active extracts and cellulose fibres isolated from rice or coffee husk. *Food Packaging and Shelf Life*, 22, 100383.
- FAOSTAT. Disponible online: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize> (consultado el 16 de Mayo de 2022).
- Freitas, P. A., Arias, C. I. L. F., Torres-Giner, S., González-Martínez, C., & Chiralt, A. (2021). Valorization of rice straw into cellulose microfibrils for the reinforcement of thermoplastic corn starch films. *Applied Sciences*, 11(18), 8433.
- Freitas, P. A., González-Martínez, C., & Chiralt, A. (2020). Application of ultrasound pre-treatment for enhancing extraction of bioactive compounds from rice straw. *Foods*, 9(11), 1657.
- Freitas, P. A. V., Gil, N. J. B., González-Martínez, C., & Chiralt, A. Antioxidant Poly (Lactic Acid) Films with Rice Straw Extract for Food Packaging Applications. Available at SSRN 4093730.
- Guil-Guerrero, J. L., Ramos, L., Moreno, C., Zúñiga-Paredes, J. C., Carsama-Yepey, M., & Ruales, P. (2016). Antimicrobial activity of plant-food by-products: A review focusing on the tropics. *Livestock Science*, 189, 32–49.
- Hutchings, J. B. (1999). *Food color and appearance* (2nd ed.). Gaithersburg, Maryland, USA: Aspen Publishers, Inc.
- Korenaga, T., Liu, X. & Huang, Z. (2001). "The influence of moisture content on polycyclic aromatic hydrocarbons emission during rice straw burning". In: *Chemosphere-Global Change Science*, No. 3. pp.117-122.
- Lahr, F., Junior, H. S. & Fiorelli, J. (2015). Non-conventional building materials based on agro-industrial wastes. *Environmental science*.

- MAPAMA, (2019). Secretaria general de agricultura y alimentación. Distribución de la superficie y producción de arroz en España por Comunidades Autónomas. [Página Web] Recuperado el 06 Junio de 2022 de:
https://www.mapa.gob.es/estadistica/pags/anuario/2020/TABLAS%20PDF/CAPITULO07/pdf/c07_7.1.7.3.pdf
- Mc Hung, T. H., Avena-Bustillos, R., & Krochta, J. M. (1993). Hydrophobic edible films: Modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *Journal of Food Science*, 58(4), 899-903.
- Menzel, C., González-Martínez, C., Vilaplana, F., Diretto, G., & Chiralt, A. (2020). Incorporation of natural antioxidants from rice straw into renewable starch films. *International journal of biological macromolecules*, 146, 976-986.
- Min, B., Chen, M. H., & Green, B. (2009). Antioxidant activities of purple rice bran extract and its effect on the quality of low-NaCl, phosphate-free patties made from channel catfish (*Ictalurus punctatus*) belly flap meat. *Journal of Food Science*, 74(3), C268–C277.
- Muller, J., González-Martínez, C., & Chiralt, A. (2017). Poly(lactic) acid (PLA) and starch bilayer films, containing cinnamaldehyde, obtained by compression moulding. *European Polymer Journal*, 95, 56–70. doi:10.1016/j.eurpolymj.2017.07.019
- Othman, S.H.; Majid, N.A.; Tawakkal, I.S.M.A.; Basha, R.K.; Nordin, N.; Shapi'I, R.A. Tapioca Starch Films Reinforced with Microcrystalline Cellulose for Potential Food Packaging Application. *Food Sci. Technol.* 2019, 39, 605–612.
- Papastergiadis, A., Mubiru, E., Van Langenhove, H., & De Meulenaer, B. (2012). Malondialdehyde measurement in oxidized foods: evaluation of the spectrophotometric thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) test in various foods. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(38), 9589-9594.
- Peanparkdee, M., & Iwamoto, S. (2019). Bioactive compounds from by-products of rice cultivation and rice processing: Extraction and application in the food and pharmaceutical industries. *Trends in Food Science & Technology*. doi:10.1016/j.tifs.2019.02.041
- Rojas-Lema, S., Quiles-Carrillo, L., Garcia-Garcia, D., Melendez-Rodriguez, B., Balart, R., & Torres-Giner, S. (2020). Tailoring the Properties of Thermo-Compressed Polylactide Films for Food Packaging Applications by Individual and Combined Additions of Lactic Acid Oligomer and Halloysite Nanotubes. *Molecules*, 25(8), 1976. doi:10.3390/molecules25081976
- Sadeghi, E., Karami, F., & Etmnan, A. (2017). The effect of *Ferulago angulata* (Schlecht) Boiss essential oil on stabilization of sunflower oil during accelerated storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(1).
- Shih, F. S., & Daigle, K. (2003). Antioxidant properties of milled-rice Co-products and their effects on lipid oxidation in ground beef. *Journal of Food Science*, 68(9), 2672-2675.
- Song, N., Lee, J., Mijan, M. A., & Song, K. B. (2014). LWT - Food Science and Technology Development of a chicken feather protein film containing clove oil and its application in smoked salmon packaging. *LWT - Food Science and Technology*, 57(2), 453–460. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.009>
- Syafri, E.; Wahono, S.; Irwan, A.; Asrofi, M.; Sari, N.H.; Fudholi, A. Characterization and Properties of Cellulose Microfibers from Water Hyacinth Filled Sago Starch Biocomposites. *Int. J. Biol. Macromol.* 2019, 137, 119–125.
- Talón, E., Trifkovic, K. T., Vargas, M., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2017). Release of polyphenols from starch-chitosan based films containing thyme extract. *Carbohydrate Polymers*, 175, 122–130.
- Wanyo, P., Meeso, N., & Siriamornpun, S. (2014). Effects of different treatments on the antioxidant properties and phenolic compounds of rice bran and rice husk. *Food Chemistry*, 157, 457–463.