

VI Congreso Internacional de Ciencia y tecnología de los Alimentos 2016 – Córdoba, Argentina.

Desarrollo de películas comestibles de metilcelulosa adicionadas con extracto de cáscara de manzana verde (*Granny Smith*) liofilizada

Matta E.¹, Urriza M.¹, Tavera-Quiroz M.J.², Bertola N.¹

(1) Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), CONICET, CIC, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, La Plata, Argentina.

(2) Grupo de investigación en Desarrollo e Innovación de Procesos Alimentarios (DESINPA), Facultad de Ingeniería Agroindustrial. Universidad de Sucre, Sincelejo, Colombia.

e-mail: mattaeliana@gmail.com

RESUMEN

La manzana es una fuente importante de antioxidantes, principalmente compuestos fenólicos, abundantes en la cáscara. En este trabajo se desarrollaron películas a base de metilcelulosa con la incorporación de extracto etanólico de cáscara de manzana verde liofilizada. Para la obtención de las películas, se prepararon soluciones de metilcelulosa al 1,5% (p/v) y diferentes volúmenes de extracto. Se realizaron determinaciones de contenido de polifenoles totales y actividad antioxidante, tanto para el extracto como para las películas obtenidas por casting. Los extractos presentaron un alto contenido de polifenoles y una alta capacidad antioxidante. Además se determinaron propiedades mecánicas y térmicas de las películas. El agregado de extractos de cáscara de manzana verde en las películas de metilcelulosa permitió obtener un material biodegradable activo, el cual puede ser utilizado como recubrimiento sobre alimentos de humedad baja o intermedia.

Palabras claves: películas comestibles, recubrimientos, manzana, polifenoles.

ABSTRACT

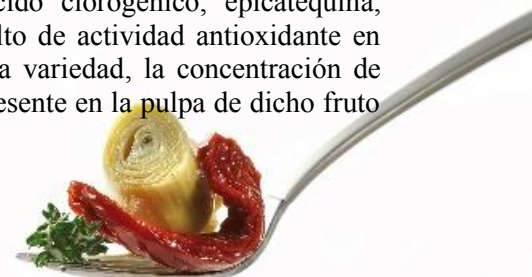
The apple peel is an important antioxidants source mainly phenolics compounds. The aim of this work was to develop methylcellulose edible films with ethanolic extracts of lyophilized green apple peel. To obtain films, methylcellulose solutions 1.5% (w/v) with different volumes of extract were prepared. Determination of total polyphenol content and antioxidant activity in the extract and films were made. The extracts showed a high polyphenol content and high antioxidant capacity. An analysis of thermal and mechanical properties was carried out. The addition of extracts of green apple peel into methylcellulose films allowed to obtain an active biodegradable material, which can be used as coating on low or intermediate moisture foods.

Keywords: edible films, coatings, apple, polyphenols

INTRODUCCIÓN

En los últimos años gran número de investigaciones se han centrado en el desarrollo de nuevos recubrimientos y/o películas comestibles, basados en polímeros biodegradables (Arabestani, 2016; Romano y col., 2014). La tecnología del envasado activo está dirigido a ampliar la vida útil del producto, manteniendo su calidad nutricional y sensorial, así como la seguridad microbiológica (Cha y Chinnan, 2004). Los recubrimientos pueden consumirse con el alimento, extienden su vida útil ya que retardan la migración de humedad y de lípidos, así como el transporte de solutos y aromas, mejoran las características organolépticas, nutricionales y las propiedades mecánicas del alimento. Además, conservan la textura y permiten incorporar nutrientes y/o aditivos (Kester y Fennema, 1986). Actualmente se busca desarrollar recubrimientos y películas biodegradables con componentes bioactivos que permitan alargar la vida útil y mejorar la calidad de los productos retardando el deterioro de alimentos. Cada vez más consumidores optan por productos sin aditivos, por lo tanto estos componentes bioactivos deberán ser preferentemente componentes naturales.

La manzana es una fruta popular en todo el mundo y es una buena fuente de vitamina C como así también de fibra. Además, es una fuente de compuestos fenólicos, tales como ácido clorogénico, epicatequina, procianidina B2 y quercetina que contribuyen a un nivel relativamente alto de actividad antioxidante en comparación con otras frutas (Kim A-N y col., 2017.). Dependiendo de la variedad, la concentración de polifenoles en la cáscara de la manzana es al menos 3 veces superior a la presente en la pulpa de dicho fruto



(Karaman y col., 2012). Por lo tanto la cáscara de manzana, considerada como un desecho agro-industrial, constituye un recurso potencialmente aprovechable para la elaboración de extractos ricos en polifenoles destinados a ser utilizados como ingredientes funcionales.

El objetivo de este trabajo fue obtener películas comestibles activas a base de metilcelulosa con la incorporación de extracto de cáscara de manzana verde liofilizada, con el propósito de otorgarles actividad antioxidante a las mismas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de extractos

Se trabajó con manzanas *Granny Smith*, las cuales fueron lavadas y peladas. Las cáscaras se colocaron en bandejas plásticas y se congelaron a -80°C por 24 hs. Luego se liofilizaron y una vez secas se molieron con molinillo de café obteniéndose un polvillo. Para la preparación del extracto etanólico liofilizado se agitó 1,5 gramos de cáscara liofilizada con 25 ml de etanol al 70% durante 15 minutos a temperatura ambiente y posteriormente se filtró. Siguiendo el procedimiento anterior, también se obtuvieron extractos de cáscara de manzana verde liofilizada en medio acuoso.

Preparación de las películas

Para el desarrollo de las películas se utilizó como material formador de la matriz metilcelulosa A4M (Methocel, Dow Chemical Co, U.S.A) proporcionada por COLORCON S.A (Argentina) en una concentración de 1.5% (p/v) y se le agregaron distintas concentraciones de extractos (10, 20 y 25% v/v). Las películas se prepararon por moldeo y secado a 37°C . Como control se prepararon películas con 1,5% (p/v) de metilcelulosa sin agregado de extracto.

Caracterización del extracto

Determinación del contenido de polifenoles totales

El contenido de polifenoles totales se obtuvo a través del método de Folin-Ciocalteu (Singleton y col., 1999). El ensayo se basa en la reacción de los compuestos fenólicos con el reactivo de Folin-Ciocalteu a pH básico, dando lugar a una coloración azul, que puede ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm. La técnica utilizada fue la de Massolo y col. (2011).

Determinación de actividad antioxidante

El análisis de la actividad antioxidante se llevó a cabo por el método de DPPH (Tavera-Quiroz y col., 2014). 100 μl del extracto obtenido a partir de la cáscara de manzana se mezclaron con 3,9 ml de DPPH disuelto en etanol al 96%. La mezcla se homogeneizó cuidadosamente y se dejó reaccionar durante 60 min en la oscuridad y se midió la absorbancia a 515 nm. Se midió además la absorbancia del reactivo sin muestra. Los resultados obtenidos se expresaron como % de inhibición del radical DPPH (I%) (**Ecuación 1**). Por diferencia de absorbancia (antes y después de la reacción) se determinó el porcentaje de captación de radical libre DPPH a una concentración de 25 mg/L.

$$I(\text{DPPH}) = ((\text{Abs reactivo} - \text{Abs reacción}) / (\text{Abs reactivo})) * 100 \quad \text{Ec. 1}$$

Caracterización de las películas obtenidas

Determinación de la capacidad antioxidante total (TAC) y contenido de polifenoles de las películas

Para la determinación de la capacidad antioxidante total y contenido de polifenoles de la película se disolvió 1g de la misma en 50 ml de agua destilada. Una alícuota de 100 μl de la solución obtenida se utilizó para determinar la capacidad antioxidante. La capacidad antioxidante se determinó por triplicado a través del método de DPPH. El contenido de polifenoles se obtuvo por el método de Folin-Ciocalteu y los resultados se expresaron como $\text{mg ácido clorogénico}/100\text{g}_{\text{ss}}$.

Determinación del contenido de humedad

Se determinó el contenido de humedad de las películas mediante el método de secado en estufa a 105°C hasta peso constante.

Determinación del porcentaje de material soluble

Se llevó a cabo el ensayo de solubilidad mediante la técnica propuesta por Rivero y col., (2010). De cada formulación de película se cortaron cuadrados de 4 cm^2 , los cuales se pesaron y se agitaron con 80 ml de agua destilada durante 1 hora. Luego las películas se secaron en estufa a $105^{\circ}\text{C} \pm 1$, y el porcentaje de material soluble se calculó teniendo en cuenta el peso seco inicial de la película.



Ensayo de permeabilidad al vapor de agua

La permeabilidad al vapor de agua se midió utilizando el método ASTM E96 con algunas modificaciones. Las películas una vez secas se acondicionaron en ambiente de humedad relativa del 65% y 20°C, durante 48 hs antes de las determinaciones de permeabilidad. Las muestras se colocaron en celdas de área conocida, las cuales contenían gel de sílice y posteriormente fueron llevadas a recipientes acondicionados a una humedad relativa del 75% a 20°C. Se registraron los cambios de peso en función del tiempo. La tasa de transmisión de vapor de agua (WVTR, g s⁻¹ m⁻²) se calculó a partir de la pendiente de la recta obtenida de los cambios de peso en función del tiempo por regresión lineal; la permeancia (g Pa⁻¹ s⁻¹ m⁻²) se determinó como la WVTR dividida por el gradiente de presión parcial del vapor a través de la película. La permeabilidad al vapor de agua (WVP) se calculó como el producto de los valores de permeancia y espesor de la película y se expresó como g Pa⁻¹ s⁻¹ m⁻¹.

Determinación de las propiedades microestructurales mediante FTIR

La espectroscopia de infrarrojo (IR) es una de las técnicas analíticas más importantes y utilizadas debido a que puede emplearse para establecer la identidad de un compuesto. Esta técnica se fundamenta en la absorción de la radiación infrarroja por las moléculas en vibración. Una molécula absorberá la energía de un haz de luz infrarroja cuando ésta sea igual a la necesaria para que la molécula comience a vibrar. Cada grupo funcional tiene un modo de absorción característico que se presenta en el espectro como un pico o banda, debido a que todas las moléculas tienen algunas vibraciones que, al activarse, provocan la absorción de una determinada longitud de onda en la zona del espectro infrarrojo. Los espectros FTIR de las películas se registraron en un equipo Nicolet IS10 entre 4000 a 400 cm⁻¹.

Determinación de las propiedades mecánicas de las películas

Se realizaron ensayos de tracción en un equipo DMA TA Instruments Q800 (TA Instruments, New Castle, EE.UU.). Las películas se cortaron con una geometría rectangular (30 mm de longitud y 6 mm de ancho). Se realizaron ensayos para determinar las propiedades mecánicas de las diferentes películas. Las curvas de tensión-deformación se obtuvieron con una rampa de fuerza a velocidad de deformación constante de 0,3 N/min hasta alcanzar una fuerza estática de 18N o hasta la ruptura de la muestra.

Determinación de las propiedades térmicas de las películas

Las propiedades térmicas de las películas se determinaron mediante el uso de un equipo de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) Q100 (TA Instruments, New Castle, EE.UU.). El equipo es controlado por un módulo TA 5000 con un sistema de enfriamiento a base de N₂, con un caudal de 20 ml/min. Se pesaron aproximadamente 5-6 mg de muestra en una balanza electrónica de precisión en cápsulas de aluminio y luego estas se sellaron herméticamente. Se hicieron corridas por duplicado de las muestras de las películas con diferentes concentraciones de extractos, utilizando una cápsula de aluminio vacía como referencia.

El ensayo se realizó como se describe en Tavera-Quiroz y col. (2012). El primer barrido se realizó desde -70 hasta 200°C. Seguidamente la muestra se enfrió a una velocidad de 20°C/min hasta -70°C y se realizó un segundo barrido entre -70 y 250°C. Se utilizó calorimetría diferencial de barrido modulada para obtener los termogramas a partir de los cuales se obtuvo la temperatura de transición vítrea (T_g) utilizando el software Universal Analysis 2000 V1.7 F (TA Instruments, New Castle, EE.UU.).

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANAVA) para evaluar el efecto de los factores analizados utilizando el programa Infostat v2009 (Córdoba, Argentina). Para los ensayos de comparación de medias se empleó el test de menor diferencia significativa (LSD) con $P > 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización del extracto etanólico de cáscara de manzana verde liofilizada

El extracto etanólico de cáscara de manzana verde liofilizada (EE) mostró un contenido de polifenoles de 850 mg_{ac clorogénico}/100g_{ms}; en cambio el extracto acuoso (EA) exhibió una cantidad menor de compuestos polifenólicos (510,2 mg_{ac clorogénico}/100g_{ms}). Por este motivo se trabajó con el extracto etanólico para la formación de películas y se descartó el uso de extractos acuosos, ya que la extracción en etanol 70% fue mayor debido a su menor polaridad respecto al agua.

Con los mismos extractos elaborados para determinar el contenido de compuestos fenólicos, se determinó la capacidad antioxidante. El porcentaje de inhibición del extracto fue del 83%.



Caracterización de las películas

Los espectros obtenidos por FTIR para las películas con EE (**Figura 1**) muestran la aparición de una banda alrededor de 1724 cm⁻¹. Esta banda es característica de los grupos carbonilos como los ácidos carboxílicos y ésteres, como el caso del ácido cítrico presente en la manzana.

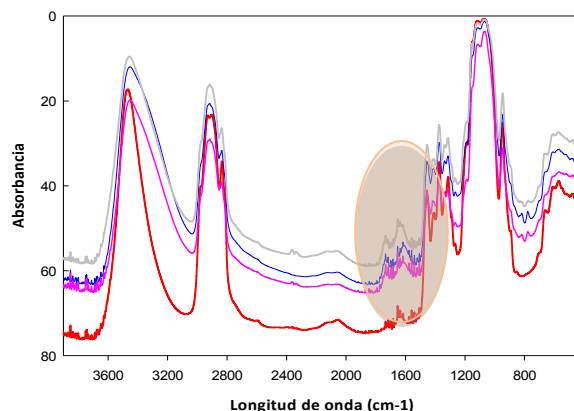


Figura 1. Espectros de FTIR de las películas formuladas con 10, 20 y 25% EEL.

La incorporación del extracto etanólico de cáscara de manzana en las películas tuvo un efecto significativo sobre la humedad y la solubilidad (**Tabla 1**). Se observó que al aumentar la concentración de EE de 10 a 20% en la elaboración de las películas aumentó la humedad y disminuyó la solubilidad de las mismas. Sin embargo, un aumento de la concentración de EE al 25% no produjo variaciones significativas sobre sus valores.

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de las películas preparadas con distintas concentraciones de polvo liofilizado de cáscara de manzana.

EE (%)	Humedad (%)	WVP x10 ¹¹ (g Pa ⁻¹ m ⁻¹ s ⁻¹)	Solubilidad (%)
0	10,3 ^a	8,7 ^c	93,8 ^c
10	22,9 ^b	7,6 ^b	36,3 ^b
20	26,4 ^c	6,3 ^a	25,9 ^a
25	27,7 ^c	6,5 ^a	29,4 ^a

158

^{a,b,c} Letras diferentes indican diferencias significativas

Un papel importante de los recubrimientos comestibles es reducir el intercambio de agua entre el producto y el medio ambiente o entre ingredientes de un sistema alimenticio heterogéneo que por ejemplo tengan distintos contenidos de humedad que se quieran mantener inalterados durante el almacenamiento (Talens y col., 2012). La permeabilidad al vapor de agua de una película depende de la estructura química y la naturaleza del permeante, y la temperatura del medio ambiente. A partir de los resultados obtenidos se observó que la permeabilidad al vapor de agua (WVP) disminuyó con la incorporación del EE, alcanzando los menores valores con una concentración de 20% de EE, un aumento de la concentración del extracto a 25% no produjo efecto significativo sobre la WVP.

Según Mancini et al, (1999) y Del Nobile y col. (2007) un modelo matemático capaz de describir toda la curva de tensión-deformación es el presentado en la **ecuación 2**. Donde ϵ_T es la deformación verdadera, σ_T es el esfuerzo verdadero, E_C (MPa) es el módulo elástico (tangente a la curva tensión-deformación en el origen) y K es una constante que permite ajustar el modelo.

$$\sigma_T(\epsilon_T) = E_C \epsilon_T \exp(\epsilon_T K) \quad \text{Ec. 2}$$



En la **Tabla 2** se presentan los valores del módulo elástico, obtenido a partir de la ecuación anterior, y la elongación máxima obtenida para todas las muestras ensayadas. El agregado de EE disminuyó los valores de modulo elástico y la elongación máxima de las películas de metilcelulosa (MC), sin embargo no hubo efecto de la concentración de EE utilizada.

Así mismo se observó un corrimiento a valores menores de la temperatura de transición vítrea obtenida por DSC, respecto de las películas de MC sin extracto.

Tabla 2. Propiedades mecánicas y térmicas de las películas con EEL

EE (%)	Módulo Elástico (Ec, MPa)	Elongación (%)	Tg (°C)
0	3751 ^b	9,3 ^c	190 ^b
10	1674 ^a	2,9 ^b	171 ^a
20	2036 ^a	2,8 ^b	172 ^a
25	1917 ^a	2.0 ^a	165 ^a

^{a,b,c} *Letras diferentes indican diferencias significativas*

De acuerdo a los resultados obtenidos se seleccionó una formulación con una concentración de 20% de extracto etanólico de cáscara de manzana verde liofilizada ya que esta concentración presentó bajos valores de la permeabilidad al vapor de agua.

Se determinó el contenido de polifenoles totales de las películas con agregado de 20% de EE ya que a altas concentraciones de EE se obtuvieron menores valores de permeabilidad al vapor de agua y una concentración mayor produciría un detrimento en las propiedades mecánicas por la mayor disminución de la elongación máxima. Se obtuvo un contenido de polifenoles de 11,62 mg ácido clorogénico/g película, y en cuanto a la capacidad antioxidante se obtuvo un porcentaje de inhibición del 20%.

CONCLUSIONES

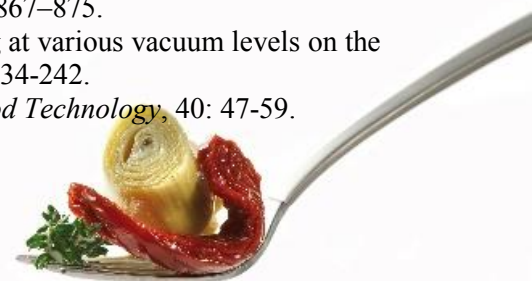
Se logró obtener un ingrediente activo y funcional a partir de los desechos de la cáscara de manzana verde con propiedades antioxidantes y como fuente de polifenoles. Este ingrediente puede ser agregado en matrices de hidrocoloides y utilizarlo en posibles aplicaciones en alimentos.

La formulación de películas comestibles con extractos etanólicos de cáscara liofilizada es una buena alternativa para obtener un material activo, con buenas propiedades de barrera y mecánicas, sin aportar plastificantes a la matriz que generen corrimientos importantes de la temperatura de transición vítrea del material.

La formulación de películas comestibles con ingredientes no convencionales se convierte en una estrategia para utilizar subproductos agroindustriales que aporten nutrientes y permitan desarrollar nuevos tipos de coberturas para ser utilizadas en alimentos funcionales.

BIBLIOGRAFÍA

- Arabestani, A.; Kadivar, M.; Shahedi, M.; Hossein Goli, S.A.; Porta R. (2016). Characterization and antioxidant activity of bitter vetch protein-based films containing pomegranate juice. *Food Science and Technology*, 74: 77-83
- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technology*. 28: 25-30.
- Cha, D. S. y Chinnan, M. S. (2004). Biopolymer based antimicrobial packaging. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44: 223-237.
- Karaman, S.; Tütem, E.; Baskan, K.S.; Apak, R. (2012). Comparison of antioxidant capacity and phenolic composition of peel and flesh of some apple varieties. *J Sci. Food Agric.*, 93: 867–875.
- Kim, A.N.; Kim, H-J.; Kerr, W.L.; Choi, S-G. (2017). The effect of grinding at various vacuum levels on the color, phenolics, and antioxidant properties of apple. *Food Chemistry*. 216: 234-242.
- Kester, J.J., Fennema, O.R. (1986). Edible films and coatings: A review. *Food Technology*, 40: 47-59.



Massolo, J.F.; Concellón, A.; Chavez, A.R.; Vicente, Ariel R. (2011). 1-Methylcyclopropene (1-MCP) delays senescence, maintains quality and reduces browning of non-climacteric eggplant (*Solanum melongena* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology* 59 10–15

Rivero, S.; García, M.A.; Pinotti, A. (2010). Crosslinking capacity of tannic acid in plasticized chitosan films. *Carbohydrate Polymers* 82: 270–276

Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology. Oxidants and Antioxidants Part A*, 299, 152–178.

Talens, P.; Pérez-Masía, R.; Fabra, M.J.; Vargas, M.; Chiralt, A. (2012). Application of edible coatings to partially dehydrated pineapple for use in fruit–cereal products. *Journal of Food Engineering*, 112: 86–93

Tavera Quiroz, M.J.; N. Bertola, A. Pinotti. (2012). Efecto del agregado de ácido cítrico como agente entrecruzante en películas a base de metilcelulosa. IV Jornadas Internacionales sobre avances en la tecnología de películas y coberturas funcionales en alimentos. *Agrobioenvases 2012*.

Tavera-Quiroz, M. J., Lecot, J., Bertola, N., & Pinotti, A. (2013). Stability of methylcellulose based films after being subjected to different conservation and processing temperatures. *Materials Science and Engineering: C*, 33: 2918–2925.

Tavera-Quiroz, M.J.; Urriza M; Pinotti, A.; Bertola, N. (2014). Development and Characterization of a Baked Snack from Rings of Green Apples. *Food Bioprocess Technol* DOI 10.1007/s11947-014-1310-

