

PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS DE METILCELULOSA CON JUGO DE CÁSCARA DE MANZANA VERDE

Eliana Matta, María José Tavera-Quiroz, Marina Urriza, Nora Bertola

1. RESUMEN

La manzana ha sido identificada como una fuente importante de antioxidantes, principalmente compuestos fenólicos, siendo estos compuestos más abundantes en la cáscara que en la pulpa. En este trabajo se desarrollaron películas comestibles a base de metilcelulosa con la incorporación de jugo de cáscara de manzana verde (JCM) en diferentes concentraciones. Al jugo se le adicionó ácido cítrico en una concentración de 2 % (p/v) para controlar el pardeamiento. Para el desarrollo de las películas se utilizó metilcelulosa como material formador de la matriz en una concentración de 1.5 % (p/v) y se le agregaron distintas concentraciones (10, 20, 25 y 50 % v/v) de JCM para incorporar compuestos antioxidantes a la película comestible. Las películas fueron preparadas por moldeo y secado a 37 °C. Los espectros FTIR de las películas se registraron en un equipo Nicolet IS10 entre 4000 a 400 cm⁻¹. Dos tipos de ensayos de tracción se llevaron a cabo en un equipo DMA Q800, test de barrido de frecuencia entre -100 y 250 °C para la obtención de la temperatura de transición vítrea (Tg) y ensayos tensión-deformación para evaluar las propiedades mecánicas de las películas. Además se determinaron los valores de humedad, permeabilidad al vapor de agua, solubilidad y contenido de polifenoles totales por medio del método Folin-Ciocalteu. Los resultados indicaron que la incorporación de JCM provocó interacciones entre la metilcelulosa y el ácido cítrico contenido en el jugo. El contenido de polifenoles aumentó con la concentración de JCM, sin embargo las películas con 50 % de jugo fueron difíciles de desmoldar ya que resul-

CONTACTO: Nora Bertola bertolanora@gmail.com

Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA), CONICET La Plata, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, 47 y 116, La Plata (1900) Argentina.

taron gomosas. A partir de los ensayos de barrido de frecuencia en el DMA se observaron valores menores de Tg para las películas con JCM respecto a las películas control. Las películas a las cuales se le adicionó el jugo mostraron mayores valores de solubilidad en agua y humedad y una disminución de la permeabilidad al vapor de agua y el módulo elástico. A partir de los resultados obtenidos se seleccionó la formulación que contenía 20% de JCM como la más adecuada para la elaboración de las películas.

2. INTRODUCCIÓN

El concepto tradicional de envasado es preservar la calidad del alimento con un mínimo de interacción entre el producto y el envase. Sin embargo, en los últimos años, se han desarrollado una amplia variedad de envases donde se plantea la interacción con los alimentos para proporcionar efectos deseables (Sayanjali y col., 2011). La tecnología del envasado activo está dirigida a ampliar la vida útil del producto, manteniendo su calidad nutricional y sensorial, así como la seguridad microbiológica (Cha y Chinnan, 2004). La tecnología de los recubrimientos comestibles surge como una alternativa prometedora para mejorar la calidad y conservación de alimentos durante su procesado y/o almacenamiento. Los recubrimientos ofrecen la posibilidad de 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). La tendencia actual se centra en el desarrollo de recubrimientos y películas biodegradables con componentes bioactivos que permitan alargar la vida útil y mejorar la calidad de los productos retardando el deterioro de los alimentos. Teniendo en cuenta las preferencias de los consumidores por productos sin aditivos, estos componentes bioactivos deberán ser preferiblemente componentes naturales.

Las manzanas son una importante fuente de flavonoides diversos como los flavonoles, catequinas y procianidinas. Son una fuente importante de antioxidantes polifenólicos que son responsables de la mayor parte de la actividad antioxidante de la fruta. Dependiendo de la variedad, la concentración de polifenoles en la cáscara de manzana es a lo 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 desarrollar películas comestibles a base de metilcelulosa con la incorporación de jugo de cáscara de manzana verde (JCM) en diferentes concentraciones con el propósito de otorgarle actividad antioxidante a dichas películas.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

PREPARACIÓN DE LAS PELÍCULAS

Se trabajó con manzanas *Granny Smith*, las cuales fueron lavadas y peladas. La cáscara se utilizó para obtener el jugo utilizando un extractor doméstico marca Philips. Al jugo se le adicionó ácido cítrico en una concentración de 2 % (p/v) para controlar el pardeamiento.

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 (10, 20 y 50 % v/v) de JCM para incorporar compuestos antioxidantes a la película comestible. Las películas fueron preparadas por moldeo y secado a 37 °C.

CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS

La determinación de los valores de humedad se realizó por el método de secado en estufa a 105 °C.

Los espectros FTIR de las películas se registraron en un equipo Nicolet IS10 entre 4000 a 400 cm^{-1} .

Dos tipos de ensayos de tracción se llevaron a cabo en un equipo DMA TA Instruments Q800. Las películas se cortaron con una geometría rectangular (30 mm de longitud y 6 mm de ancho). Se realizaron ensayos de barrido de frecuencia entre -100 y 250 °C para determinar la temperatura de transición vítrea (T_g) y ensayos de tensión-deformación para determinar las propiedades mecánicas de las diferentes películas. Las curvas tensión-deformación se obtuvieron con una rampa de fuer-

za a velocidad de deformación constante de 0.3 N/min hasta alcanzar una fuerza estática de 18 N.

La permeabilidad al vapor de agua se midió usando el método ASTM E96. Las películas se colocaron en celdas de permeabilidad de área conocida, las cuales contenían sílica gel y posteriormente fueron llevadas a recipientes acondicionados a una humedad relativa del 75 % a 20 °C. Luego de alcanzado el estado estacionario se registraron los cambios de peso. La tasa de transmisión de vapor de agua (WVTR, $\text{g s}^{-1} \text{m}^{-2}$) 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 ($\text{g Pa}^{-1} \text{s}^{-1} \text{m}^{-2}$) 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 $\text{g Pa}^{-1} \text{s}^{-1} \text{m}^{-1}$.

El ensayo de solubilidad se llevó a cabo a través de la inmersión de piezas de igual dimensión de cada una de las películas, pesadas previamente, en agua destilada a 25 °C con agitación constante. Luego de transcurrido un tiempo de hidratación de 60 min, las películas se secaron sobre una superficie absorbente. El porcentaje de material soluble fue determinado por el método de secado en estufa a 105 °C, teniendo en cuenta el peso inicial de las muestras.

CONTENIDO DE AZÚCARES POR HPLC

Se utilizó un equipo HPLC Waters equipado con una columna C18 (Wat 045905, Irlanda). La determinación del contenido de azúcares (glucosa, fructosa, sacarosa) se realizó a partir del método de Dolenc y Stampar (1997). Se inyectaron 20 μl de cada uno de los extractos de las muestras a analizar en el detector de índice de refracción. Los resultados se expresaron en $\text{g}_{\text{gluc}}/100\text{g}_{\text{ss}}$.

DETERMINACIÓN CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL (TAC) Y CONTENIDO DE POLIFENOLES

Para la preparación del extracto se disolvió 1g de película en 50 ml de agua destilada. La capacidad antioxidante de los extractos se analizó por triplicado a través del método de DPPH (Sánchez-Moreno *et al.*, 1998). El contenido de polifenoles se obtuvo por el método de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999) y los resultados se expresaron como $\text{mg}_{\text{ácido clorogenico}}/100\text{g}_{\text{ss}}$.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

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

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las películas con 50 % de jugo de cáscara de manzana fueron difíciles de desmoldar ya que resultaron gomosas por lo que esta formulación fue descartada y no fue analizada. A medida que aumentó la concentración de JCM se observó un aumento en el contenido de azúcares en las películas obtenidas, mayoritariamente fructosa ($0.24\text{g/g}_{\text{película}}$). Las películas a las cuales se le adicionó el jugo mostraron menores valores de solubilidad en agua y mayores de humedad respecto de los valores obtenidos para las películas de MC (Tabla 1).

La técnica de FTIR se utilizó para observar las interacciones entre la metilcelulosa y los compuestos presentes en el jugo una vez obtenidas las películas. Cuando se mezclan dos componentes, las interacciones químicas se ven reflejadas por los cambios en los picos de los espectros característicos (Xu y col., 2005). En la Figura 1a se observan los espectros obtenidos en el rango de $1800\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ para las muestras con distintos contenidos de JCM. Se observó la aparición de una banda alrededor de 1724 cm^{-1} . Esta banda es característica de los grupos carbonilos presentes en los ácidos carboxílicos y ésteres, como el caso del ácido cítrico (Tavera Quiroz y col., 2012). Este compuesto es agregado al jugo de cáscara de manzana para inhibir reacciones de pardeamiento y una vez en presencia del polímero puede actuar como un agente entrecruzante (Reddy, 2010). En la Figura 1b se observan los espectros de FTIR en el rango de menores longitudes de onda. La región de $1500\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$, se caracteriza porque absorben mayoritariamente los grupos CH y de $1200\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ predominan las vibraciones de los grupos COC y OH. Las películas de metilcelulosa absorben fuertemente en esta región debido a la presencia del enlace glicosídico (COC). En los espectros obtenidos se observa la aparición de bandas en la zona de $800\text{-}700\text{ cm}^{-1}$ en las películas obtenidas a partir de metilcelulosa y jugo lo cual podría deberse a la presencia de azúcares en las muestras.

Como puede observarse en la Tabla 2, el contenido de polifenoles de las películas aumentó con la concentración de JCM al igual que la capacidad antioxidante. Si

bien resulta beneficiosa la incorporación de distintos aditivos en la formulación de los recubrimientos y películas, debe tenerse en cuenta que éstos pueden afectar sus propiedades funcionales, dependiendo de su concentración, estructura química, grado de interacción y de difusión en la película.

Después del proceso de secado, las curvas de $\tan \delta$ para películas de MC mostraron dos relajaciones, β y α (Figura 2). La relajación β en torno $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ es característica de la presencia de polisacáridos. Otros autores consideran esta relajación β en materiales hidrofílicos como una relajación de agua típica favorecida por la presencia de grupos hidroxilo (Fernández-Carretero *et al.*, 2010). El segundo pico o el máximo de la curva de $\tan \delta$ corresponde a la relajación α , a la cual se le atribuye la temperatura de transición vítrea (T_g). La incorporación de jugo en las muestras tuvo un efecto predominantemente plastificante. Esto se observa debido al corrimiento de la T_g hacia valores menores. Esto además se pudo correlacionar con el aumento del contenido de humedad en las muestras que tenían mayor contenido de jugo. A medida que aumentó el contenido de jugo la relajación β sufrió un desplazamiento hacia temperaturas más altas y también una mejor definición. Otros autores han encontrado comportamientos similares en películas de MC con agregado de azúcares como plastificantes (Tavera Quiroz y col., 2013; Romano y col., 2014).

Un papel importante de las películas 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). En el presente estudio se observó una disminución en los valores de permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas a las que se le adicionó una concentración de JCM de 10 y 20 % respecto a las películas sin JCM, mientras que las muestras con 25 % de JCM presentaron valores semejantes a las películas de metilcelulosa sin ningún agregado (Tabla 1). La permeabilidad de una película depende de su estructura química y la morfología, la naturaleza del permeante, y la temperatura del medio ambiente. La transferencia de vapor de agua se produce generalmente a través de la porción hidrófila de la película y depende de la relación hidrófilo-hidrófobo de los componentes de la película (Du y col., 2011). Diversas tipos de modificaciones químicas como el entrecruzamiento con ácidos orgánicos pueden reducir la hidrofiliidad. Por otra parte los azúcares presentes en el JCM

actúan como agentes plastificantes disminuyendo las fuerzas intermoleculares en las cadenas del polímero produciendo un descenso en las fuerzas de cohesión y por tanto, imparten movilidad molecular a la matriz, plastificándola. Como consecuencia, aumenta el volumen libre y disminuye la temperatura de transición vítrea, afectando significativamente sus propiedades mecánicas y de barrera al vapor de agua. La relación entre las concentraciones de ácido cítrico y plastificante (azúcares) resultaron ser, por lo tanto, un parámetro clave para determinar las propiedades funcionales de las películas analizadas.

Según Mancini *et al*, (1999) y Del Nobile y col. (2007) un modelo matemático capaz de describir toda la curva de tensión-deformación es:

$$\sigma_T (\varepsilon_T) = E_C \varepsilon_T \exp (\varepsilon_T K) \quad (1)$$

donde ε_T es la tensión verdadera y σ_T el esfuerzo verdadero, respectivamente, la E_c (MPa) es el módulo elástico (tangente a la curva tensión-deformación en el origen), K es una constante que permite ajustar el modelo. En la Tabla 1 se presentan los valores del módulo elástico y la elongación máxima obtenidos para todas las muestras ensayadas. Se observó que el valor de E_c disminuye significativamente con el aumento de la concentración de JCM mientras la elongación aumenta.

5. CONCLUSIONES

El agregado de 20 % de JCM permitió obtener una película de MC con buenas propiedades de barrera y actividad antioxidante. 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.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHA, D. S., y Chinnan, M. S. (2004). Biopolymer based antimicrobial packaging. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44: 223-237.
- DOLENC, K.; Stampar, F. (1997). An investigation of the application and conditions of analyses of HPLC methods for determining sugars and organic acids in fruits. *Research Reports of Bio-*

- technical Faculty, University of Ljubljana, 69: 99–106.
- DU, W.-X.; Olsen, C.W.; Avena-Bustillos, R.J.; Friedman, M.; McHugh, T.H. (2011). Physical and antibacterial properties of edible films formulated with apple skin polyphenols. *Journal of Food Science*, 76 (2): 149-155.
- FERNANDEZ-CARRETERO, F. J.; Riande, E.; del Río, C.; Sanchez, F.; Acosta, J. L.; Compan, V. (2010). Preparation and characterization of hybrid membranes based on Nafion® using partially sulfonated inorganic fillers. *Journal of New Materials for Electrochemical Systems*, 13: 83–93.
- 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.
- KESTER, J.J., Fennema, O.R. (1986). Edible films and coatings: A review. *Food Technology*, 40: 47-59.
- DEL NOBILE, M.A.; Chill, S.; Mentana, A.; Baiano, A. (2007). Use of the generalized Maxwell model for describing the stress relaxation behavior of solid-like foods. *J. Food Eng.*, 78: 978–983.
- MANCINI, M.; Moresi, M.; Rancini, R. (1999). Mechanical properties of alginate gels: Empirical characterization. *J. Food Eng.*, 39: 369–378.
- REDDY, N. y, Yang, Y. (2010). Citric acid cross-linking of starch films. *Food Chemistry*, 118: 9
- ROMANO, N.; Tavera-Quiroz M.J.; Bertola, N.; Mobili, P.; Pinotti, A.; Gómez-Zavaglia. (2014). Edible methylcellulose-based films containing fructo-oligosaccharides as vehicles for lactic acid bacteria. *Food Research International*, 64: 560–566.
- SAYANJALI, S; Ghanbarzadeh, B; Ghiassifar, S. (2011). Evaluation of antimicrobial and physical properties of edible film based on carboxymethyl cellulose containing potassium sorbate on some mycotoxigenic *Aspergillus* species in fresh pistachios. *LWT - Food Science and Technology*, 44: 1133-1138.
- TAVERA QUIROZ, M.J.; Bertola, N.; Pinotti, A. (2012). Efecto del agregado de ácido cítrico como agente entrecruzante en películas a base de metilcelulosa. Actas de las 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.
- 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
- XU, X. Y.; Kim, K. M.; Hanna, M. A.; Nag, D. (2005). Chitosan-starch composite film: prepara-

tion and characterization. *Industrial Crops and Products*, 21(2): 185-192.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Variación de la humedad, solubilidad y permeabilidad al vapor de agua (WVP) de películas de Metilcelulosa (MC) con el agregado de jugo de cáscara de manzana verde (JCM)

Muestra	Humedad (%bs)	WVP ($\text{gPa}^{-1}\text{m}^{-1}\text{s}^{-1}$)	Solubilidad a 25 °C (%)	Módulo Elástico (E_c , MPa)	Elongación (%)
MC 1.5	10.19 (0.57)	8.67×10^{-11} (3.33×10^{-12})	93.81 (3.69)	3751.1 (37.63)	9.3 (3.83)
MC 1.5 + 10 % JCM	21.34 (1.84)	5.97×10^{-11} (1.04×10^{-11})	54.79 (13.18)	350.6 (20.06)	21.9 (6.04)
MC 1.5 + 20 % JCM	37.24 (1.57)	6.57×10^{-11} (2.16×10^{-13})	73.16 (8.21)	148.3 (9.13)	23.1 (7.23)
MC 1.5 + 25 % JCM	30.94 (3.09)	7.88×10^{-11} (2.38×10^{-12})	77.91 (3.50)	97.42 (19.60)	41.6 (7.87)

Entre paréntesis se presentan los valores de la desviación estándar.

TABLA 2. Actividad antioxidante de películas de metilcelulosa con agregado de jugo de cáscara de manzana

Película	DPPH (%I)	Contenido de polifenoles (mg ácido clorogénico/g película)
MC 1.5 % + 10 % JCM	17.32 (0.81)	3.96 (0.16)
MC 1.5 % + 20 % JCM	15.16 (1.62)	4.68 (0.81)
MC 1.5 % + 25 % JCM	22.30 (1.74)	5.88 (0.97)

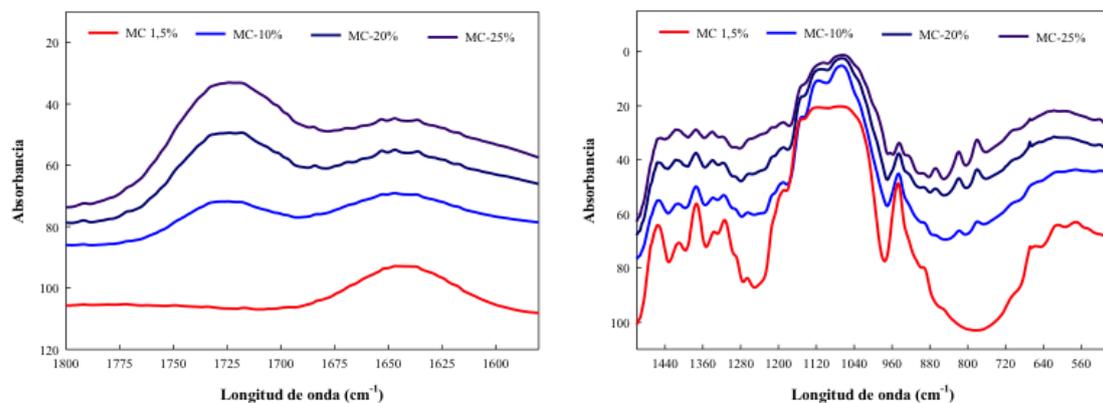


FIGURA 1. Espectros de FTIR de películas de Metilcelulosa al 1.5 % adicionadas con distintas concentraciones de jugo de cáscara de manzana verde

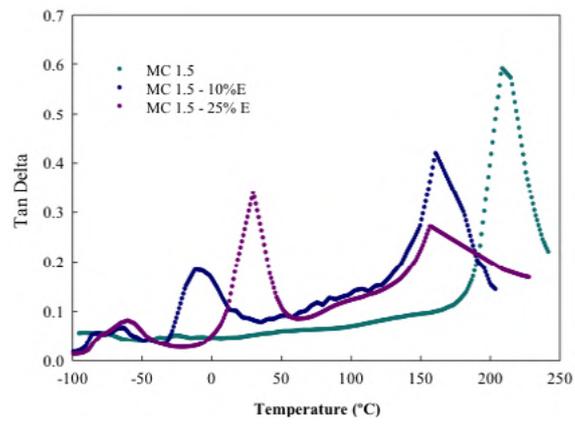


FIGURA 2. Tangente de delta en función de la temperatura para películas de Metilcelulosa con agregado de jugo de cáscara de manzana