

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA**



**APLICACIÓN DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES PARA MANTENER
LA CALIDAD DE FRUTILLAS CONGELADAS**

**Tesis presentada como parte de los requisitos de la Universidad Nacional del
Litoral para la obtención del Grado Académico de Doctor en Química**

Marina del Valle Soazo

**INSTITUTO DE DESARROLLO TECNOLÓGICO
PARA LA INDUSTRIA QUÍMICA**

I N T E C



**Director: Dra. Roxana A. Verdini
Codirector: Dra. Amelia C. Rubiolo**

**Miembros del Jurado: Dra. Noemí Zaritzky
Dra. Lía Gerschenson
Dr. Carlos Carrara**

2012

A mis padres

AGRADECIMIENTOS

A mi directora Roxana Verdini y a mi codirectora Amelia Rubiolo por su dedicación y por permitirme trabajar con total libertad pero con un apoyo constante.

A mis compañeros del Grupo de Ingeniería de Alimentos y Biotecnología por brindarme un espacio donde poder compartir no sólo experiencias laborales sino también personales, y especialmente a mis compañeros de oficina, por las largas charlas y los valiosos consejos que me brindaron.

Al Ingeniero Oscar Taberna por el aporte de la materia prima utilizada para este estudio.

Al INTEC por haberme permitido disponer de los medios necesarios para realizar mi labor. Al CONICET y a la Agencia Nacional de Promoción de Científica y Tecnológica de la Argentina por la beca y los subsidios otorgados a los proyectos que posibilitaron el desarrollo de este trabajo de tesis.

A los miembros del Jurado por su participación y buena predisposición.

A mis amigos de Santa Fe: Belén, Cecilia, Celina, Ricardo, Silvina y Valeria, por compartir conmigo el día a día, y por ser mi soporte permanente durante la duración de la tesis. Sin todos ustedes mi paso por Santa Fe no hubiera sido el mismo.

A mis amigas Noel y Matilde por estar siempre conmigo a pesar de la distancia.

A mis hermanas, cuñados y sobrinos por entender que la distancia hizo que no siempre pudiera estar tan presente como hubiera querido.

A Aníbal, por respetarme y apoyarme en todas mis decisiones. Gracias por tu amor y contención y por ayudarme siempre en todo.

A mi mamá y a mi papá por haberme enseñado a ser perseverante y por darme las herramientas para luchar por lo que quiero.

RESUMEN

La frutilla presenta una vida poscosecha muy corta, que puede extenderse aplicando diversas técnicas de conservación. La congelación, usualmente en combinación con distintos tratamientos previos, es uno de los métodos más efectivos para extender la vida útil de las frutillas. La pérdida de peso y de firmeza luego de la descongelación son las principales desventajas del proceso de congelación. El empleo de recubrimientos comestibles, ampliamente estudiado para extender la vida útil de frutillas refrigeradas constituye una estrategia interesante, aunque escasamente estudiada, como tratamiento previo al proceso de congelación. Así, el objetivo de esta Tesis fue estudiar los aspectos básicos y aplicados para el desarrollo de recubrimientos a base de concentrado de proteínas del suero (WPC) que permitan obtener un producto de alta calidad y valor agregado.

En la búsqueda de un recubrimiento adecuado se estudiaron inicialmente distintas formulaciones de películas autoportadas y posteriormente se aplicaron como recubrimiento a las frutillas antes del proceso de congelación. Se prepararon diferentes formulaciones conteniendo WPC, glicerol, sorbato de potasio y cera de abejas (BW) al 0, 20 o 40%.

Las películas comestibles autoportadas se secaron en moldes a dos temperaturas (5 y 25 °C) y humedad relativa (HR) controlada. Se estudió el efecto de la temperatura de secado y del contenido de BW sobre propiedades fisicoquímicas de las películas como la microestructura, permeabilidad al vapor de agua (WVP), solubilidad, adsorción de agua y respuesta frente a la punción y tracción. Otro grupo de películas fue congelado en freezer, almacenado congelado y descongelado, con la finalidad de

estudiar el efecto de proceso de congelación sobre las propiedades de las películas anteriormente nombradas.

Posteriormente se aplicaron las distintas formulaciones de recubrimientos comestibles a frutillas mediante impregnación al vacío y secado a dos temperaturas (5 y 25 °C) y HR controlada. Luego, se efectuaron dos procedimientos distintos de congelación: en la cámara ambiental a -30 °C (congelación lenta) y empleando N₂ líquido (congelación rápida). Una vez congeladas, las frutillas se almacenaron en freezer durante 30 días y transcurrido dicho período fueron descongeladas en la heladera. Se determinaron pérdida de peso, firmeza, evaluación estructural y color, analizando los efectos de los recubrimientos comestibles y de la velocidad de congelación sobre las propiedades fisicoquímicas de las frutillas congeladas/descongeladas.

En las películas comestibles autoportadas, la disminución de la temperatura de secado aumentó la proporción de BW en la superficie de la película en contacto con el aire durante el secado, disminuyendo la permeabilidad al vapor de agua. La temperatura de secado además afectó la solubilidad en agua, la capacidad de adsorción de humedad y la respuesta frente a la tracción de las películas, dependiendo el efecto observado de la formulación. El agregado de BW ocasionó la disminución de la WVP, la solubilidad, el contenido de humedad de equilibrio y los parámetros obtenidos en los ensayos mecánicos de las películas a ambas temperaturas de secado estudiadas. El proceso de congelación no produjo fracturas ni perforaciones en las películas, por lo cual, si bien se observaron ciertas variaciones dependiendo de la temperatura de secado y de la formulación, en general las películas conservaron sus propiedades fisicoquímicas.

La aplicación de las distintas formulaciones como tratamiento previo a la congelación de frutillas no fue efectiva para prevenir la pérdida de peso ni de firmeza luego de la descongelación. El aumento de la velocidad de congelación tampoco tuvo efecto significativo sobre dichos parámetros. Sin embargo, a pesar de que la estructura celular de las frutillas congeladas fue dañada, se observó una menor alteración del tamaño y la forma de las células cuando se aumentó la velocidad de congelación.

ÍNDICE

Capítulo 1. Introducción	1
1.1. La frutilla	2
1.1.1. Composición química	3
1.1.2. Producción	4
1.1.3. Comercialización	6
1.1.4. Fisiología poscosecha	7
1.2. Tecnologías poscosecha	7
1.2.1. Refrigeración	8
1.2.2. Tratamientos térmico	9
1.2.3. Atmósferas controladas y modificadas	10
1.2.4. Recubrimientos comestibles	11
1.2.5. Congelación	12
1.2.5.1. Aplicación de recubrimientos comestibles como tratamiento previo a la congelación	14
Capítulo 2. Objetivos	16
Capítulo 3. Fundamentos teóricos	19
3.1. Historia de los recubrimientos y las películas comestibles	20
3.2. Definición y propiedades	21
3.3. Materiales empleados para la formulación de recubrimientos y películas comestibles	22
3.3.1. Polisacáridos	22
3.3.2. Proteínas	23
3.3.3. Lípidos y resinas	24
3.3.4. Mezclas	25
3.3.5. Aditivos	26
3.4. Materiales seleccionados en la presente investigación	28
3.4.1. Proteínas del suero	29
3.4.2. Cera de abejas	30
3.4.3. Otros	31

3.5. Películas comestibles autoportadas	32
3.5.1. Mecanismos de obtención de películas comestibles autoportadas	32
3.5.2. Propiedades fisicoquímicas de las películas comestibles autoportadas	33
3.5.2.1. Características estructurales evaluadas mediante microscopía electrónica de barrido	33
3.5.2.2. Permeabilidad al vapor de agua	34
3.5.2.3. Solubilidad en agua	39
3.5.2.4. Actividad de agua e isothermas de sorción	40
3.5.2.5. Propiedades mecánicas	43
3.5.3. Factores que afectan las propiedades fisicoquímicas de las películas comestibles autoportadas	46
3.5.3.1. Efecto de la incorporación de distintos compuestos	47
3.5.3.2. Efecto de las condiciones de obtención de las películas	49
3.5.3.3. Efecto de las condiciones de almacenamiento de las películas	54
3.6. Empleo de recubrimientos comestibles para prolongar la vida útil de alimentos	55
3.6.1. Aplicación de recubrimientos comestibles a frutillas	56
3.6.2. Método de aplicación de los recubrimientos comestibles	59
3.6.3. Proceso de congelación	61
3.6.4. Propiedades fisicoquímicas de las frutillas	64
3.6.4.1. Pérdida de peso	64
3.6.4.2. Firmeza	65
3.6.4.3. Características estructurales evaluadas mediante microscopía óptica	69
3.6.4.4. Color	70
Capítulo 4. Materiales y métodos	73
4.1. Soluciones formadoras de películas y recubrimientos comestibles	74
4.2. Películas comestibles autoportadas	75
4.2.1. Caracterización de las películas comestibles autoportadas	77
4.2.1.1. Espesor	77
4.2.1.2. Microscopía electrónica de barrido	77

4.2.1.3. Permeabilidad al vapor de agua	78
4.2.1.4. Solubilidad	79
4.2.1.5. Isotermas de sorción de agua	80
4.2.1.6. Propiedades mecánicas	82
4.3. Recubrimientos comestibles para mantener la calidad de frutillas congeladas	83
4.3.1. Frutillas	83
4.3.2. Aplicación de los recubrimientos comestibles	84
4.3.3. Proceso de congelación	86
4.3.4. Determinaciones	87
4.3.4.1. Pérdida de peso	87
4.3.4.2. Ensayo de penetración	88
4.3.4.3. Microscopía óptica	88
4.3.4.4. Determinación de color por análisis de imágenes	89
4.4. Análisis estadístico de los datos	91
Capítulo 5. Resultados y discusión	92
5.1. Películas comestibles autoportadas	93
5.1.1. Efecto de la temperatura de secado y del contenido de cera de abejas sobre las propiedades fisicoquímicas de las películas comestibles	93
5.1.1.1. Características de las películas comestibles	93
5.1.1.2. Microscopía electrónica de barrido	95
5.1.1.3. Permeabilidad al vapor de agua	97
5.1.1.4. Solubilidad en agua	101
5.1.1.5. Sorción de agua	103
5.1.1.6. Propiedades mecánicas	108
5.1.2. Efecto del proceso de congelación sobre las propiedades fisicoquímicas de las películas comestibles	115
5.1.2.1. Características de las películas comestibles	115
5.1.2.2. Microscopía electrónica de barrido	116
5.1.2.3. Permeabilidad al vapor de agua	116
5.1.2.4. Solubilidad en agua	120
5.1.2.5. Sorción de agua	121

5.1.2.6. Propiedades mecánicas	125
5.2. Frutillas	127
5.2.1. Aplicación de recubrimientos comestibles como tratamiento previo a la congelación de frutillas en cámara ambiental	127
5.2.1.1. Pérdida de peso	127
5.2.1.2. Firmeza	129
5.2.1.3. Características estructurales evaluadas mediante microscopía óptica	133
5.2.1.4. Color superficial	136
5.2.2. Efecto de la velocidad de congelación sobre las propiedades fisicoquímicas de las frutillas	141
5.2.2.1. Pérdida de peso	141
5.2.2.2. Firmeza	142
5.2.2.3. Características estructurales evaluadas mediante microscopía óptica	147
5.2.2.4. Color superficial	149
5.3. Correlación de las propiedades fisicoquímicas de las películas comestibles preformadas y las características de las frutillas con recubrimientos comestibles sometidas al proceso de congelación	153
Capítulo 6. Conclusiones	157
Referencias bibliográficas	160

Figuras
Capítulo 3. Fundamentos teóricos

3.1.	Diagrama esquemático de la copa empleada en la determinación de WVP	35
3.2.	Parámetros obtenidos a partir de una curva fuerza-deformación registrada en el ensayo de punción	45
3.3.	Parámetros obtenidos a partir de una curva fuerza-deformación registrada en el ensayo de tracción	46
3.4.	Estructuras esquematizadas de películas emulsionadas obtenidas bajo distintas condiciones de secado	53
3.5.	Representación esquemática del ensayo de penetración	67
3.6.	Parámetros obtenidos a partir de una curva fuerza/deformación en el ensayo de penetración	68

Capítulo 4. Materiales y métodos

4.1.	Diagrama de preparación de películas comestibles autoportadas.	76
4.2.	Esquema de la copa empleada para la determinación de WVP	79
4.3.	Esquema de una muestra de película comestible empleada en el ensayo de tracción	83
4.4.	Diagrama general de aplicación de recubrimientos comestibles y de congelación de las frutillas	85
4.5.	Perfiles de temperatura de muestras de frutillas sometidas a congelación lenta y rápida	87
4.6.	Sección transversal de una mitad de frutilla para microscopía óptica	89

Capítulo 5. Resultados y discusión

5.1.	Micrografías electrónicas de barrido de secciones transversales de películas a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW. A: mostrando el lado expuesto al aire y B: mostrando el lado en contacto con el molde, durante la etapa de secado	96
5.2.	WVP de películas a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)	99
5.3.	Solubilidad de películas a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)	102

5.4.	EMC de películas a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW	104
5.5.	Fuerza máxima evaluada mediante el ensayo de punción de películas a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p<0,05$)	109
5.6.	Deformación máxima evaluada mediante el ensayo de punción de películas a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p<0,05$)	110
5.7.	Esfuerzo a ruptura evaluado mediante el ensayo de tracción de películas a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p<0,05$)	111
5.8.	Deformación a ruptura evaluada mediante el ensayo de tracción de películas a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p<0,05$)	111
5.9.	Módulo elástico evaluado mediante el ensayo de tracción de películas a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p<0,05$)	112
5.10.	Micrografías electrónicas de barrido de secciones transversales de películas a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW, sometidas al proceso de congelación. A: mostrando el lado expuesto al aire y B: mostrando el lado en contacto con el molde, durante la etapa de secado	117
5.11.	EMC de películas Congeladas y Controles a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW	122
5.12.	Pérdida de peso de frutillas controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW, congeladas/descongeladas	128
5.13.	Fuerza máxima y deformación máxima de frutillas frescas, controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW, congeladas/descongeladas	130
5.14.	Pendiente y trabajo máximo de frutillas frescas, controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW, congeladas/descongeladas	131
5.15.	Micrografías ópticas de secciones de frutillas frescas, controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW,	134

	congeladas/descongeladas	
5.16.	Fotografías digitales de frutillas frescas, controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW, congeladas/descongeladas	137
5.17.	Parámetro de color L* de frutillas frescas, controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW, congeladas/descongeladas	138
5.18.	Parámetros de color a* de frutillas frescas, controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW, congeladas/descongeladas	138
5.19.	Parámetros de color b* de frutillas frescas, controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW, congeladas/descongeladas	139
5.20.	Pérdida de peso de frutillas controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW, sometidas a congelación lenta y rápida	142
5.21.	Fuerza máxima y deformación máxima de frutillas controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW y sometidas a congelación lenta y rápida	143
5.22.	Pendiente y trabajo máximo de frutillas controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW sometidas a congelación lenta y rápida	144
5.23.	Micrografías ópticas de secciones de frutillas frescas, controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW y sometidas a congelación rápida	148
5.24.	Fotografías digitales de frutillas frescas, controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW y sometidas al proceso de congelación rápida	150
5.25.	Parámetro de color L* de frutillas controles y recubiertas con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW a 5 y 25 °C sometidas a congelación lenta y rápida	151
5.26.	Parámetros de color a* de frutillas controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW sometidas a	152

	congelación lenta y rápida	
5.27.	Parámetros de color b* de frutillas controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW sometidas a congelación lenta y rápida	152

Tablas**Capítulo 1. Introducción**

1.1	Composición química de la frutilla	3
1.2.	Veinte mayores productores mundiales de frutilla	5
1.3.	Zonas de procedencia de la oferta de frutilla en el mercado central de Buenos Aires	5

Capítulo 4. Materiales y métodos

4.1.	Composición de las soluciones formadoras de películas y recubrimientos comestibles	75
-------------	--	----

Capítulo 5. Resultados y discusión

5.1.	Parámetros, coeficientes de determinación y error de ajuste obtenidos mediante el ajuste de los datos experimentales de EMC de películas a base de proteínas del suero al modelo de BET	107
5.2.	Parámetros, coeficientes de determinación y error de ajuste obtenidos mediante el ajuste de los datos experimentales de EMC de películas a base de proteínas del suero al modelo de GAB	107
5.3.	Parámetros, coeficientes de determinación y error de ajuste obtenidos mediante el ajuste de los datos experimentales de EMC de películas a base de proteínas del suero al modelo de Peleg	107
5.4.	WVP y solubilidad de películas a base de proteínas del suero Congeladas y Controles	120
5.5.	Parámetros calculados, coeficiente de determinación y error de ajuste para el modelo de BET	123
5.6.	Parámetros calculados, coeficiente de determinación y error de ajuste para el modelo de GAB	123
5.7.	Parámetros calculados, coeficiente de determinación y error de ajuste para el modelo de Peleg	124
5.8.	Efecto del proceso de congelación sobre los parámetros derivados del ensayo de punción	125
5.9.	Efecto del proceso de congelación sobre los parámetros derivados del ensayo de tracción	126

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN

1.1. La frutilla

La frutilla es un fruto pequeño de textura delicada y color rojo que junto a otros frutos como las grosellas, frambuesas, arándanos y zarzamoras presentan características culinarias similares pero están poco relacionados botánicamente (Civello, 1995).

Las variedades de frutilla cultivadas actualmente se han desarrollado a partir de la especie híbrida *Fragaria x ananassa Duch.*, la cual pertenece al género *Fragaria* de la familia *Rosaceae* y representa el cruce accidental de *Fragaria virginiana* del este de Estados Unidos, notable por su sabor fino, y *Fragaria chiloensis* de Chile, conocida por su gran tamaño. Los cultivos de *Fragaria x ananassa Duch.* han reemplazado en la producción comercial a la frutilla salvaje, *Fragaria vesca*, que era la primera especie cultivada en el siglo XVII (Darrow, 1966).

La frutilla propiamente dicha es un falso fruto formado por un receptáculo convexo que crece y se vuelve carnosos después de la fecundación de los óvulos y donde los carpelos se transforman en aquenios, los verdaderos frutos (Valla, 1995).

Desde el punto de vista fisiológico, la frutilla es una fruta no climatérica que alcanza la madurez comercial solamente en la planta (López Camelo, 2004). Además, esta fruta se caracteriza por presentar una vida poscosecha muy corta debido mayormente a que posee una actividad metabólica relativamente alta, a que es particularmente sensible a la descomposición por hongos, y a su susceptibilidad a la pérdida de agua, golpes, y daños mecánicos debido a su textura suave y a la falta de una corteza protectora (Hernández-Muñoz y col., 2006).

1.1.1. Composición química

La frutilla no sólo es una fruta atractiva por su apariencia física y sus rasgos fisiológicos (color brillante, sabor delicioso, textura fina y aroma fresco) sino también por constituir una buena fuente dietaria de vitaminas y minerales esenciales (Tabla 1.1), cuyas concentraciones pueden variar ampliamente entre cultivares y con las condiciones de manipulación y almacenamiento poscosecha (Talcott, 2007; Qin y col., 2008). Además, las frutillas son ricas en fitonutrientes, compuestos fenólicos tales como flavonoides y ácido elágico, los cuales constituyen un foco intenso de estudio debido a sus propiedades antioxidantes, anticancerígenas y antimutagénicas. La mayoría de los flavonoides presentes en las frutillas son antocianinas, los compuestos responsables de los colores azul, rojo y púrpura de *berries*, uvas y otras frutas (Tulipani y col., 2008).

Tabla 1.1. Composición química de la frutilla (Adaptada de Talcott, 2007)

Componentes principales		Vitaminas		Minerales	
Energía (Kcal)	32,0	Acido arcórbico (mg)	58,8	Calcio (mg)	16,0
Agua (g)	90,9	Tiamina (mg)	0,02	Hierro (mg)	0,4
Proteínas (g)	0,7	Riboflavina (mg)	0,02	Magnesio (mg)	13,0
Lípidos totales (g)	0,3	Niacina (mg)	0,4	Fósforo (mg)	24,0
Cenizas (g)	0,4	Acido pantoténico (mg)	0,1	Potasio (mg)	153,0
Carbohidratos (g)	7,7	Vitamina B6 (mg)	0,05	Sodio (mg)	1,0
Fibras totales (g)	2,0	Folato (µg)	24,0	Zinc (mg)	0,1
Azúcares totales (g)	4,7	Vitamina B12 (µg)	ND ^a	Cobre (mg)	0,05
Sacarosa (g)	0,1	Vitamina A (UI)	12,0	Manganeso (mg)	0,4
Glucosa (g)	2,0	α-Tocoferol (mg)	0,3	Selenio (mg)	0,4
Fructosa (g)	2,5	β-Tocoferol (mg)	0,01		
Maltosa (g)	ND ^a	γ-Tocoferol (mg)	0,10		
Galactosa (g)	ND ^a	δ-Tocoferol (mg)	0,01		
Almidón (g)	0,04	Vitamina K (µg)	2,20		

^a No detectado

1.1.2. Producción

Al analizar los datos brindados por la FAO (FAOSTAT, 2009) con respecto a la producción mundial de frutillas puede observarse que Estados Unidos es el país que registra la mayor producción mientras que otros países del continente americano como México, Chile y Colombia figuran en las posiciones 6, 17 y 18, respectivamente. También resulta evidente que el cultivo de frutilla se ha extendido ampliamente en Europa, abarcando países como España, Polonia, Alemania, Reino Unido, Italia, Francia y Países Bajos. En el caso de Asia, los principales representantes son Turquía, Rusia y Corea (Tabla 1.2).

En Argentina, Santa Fe fue la principal provincia productora de frutillas hasta el año 2006 y a partir del año 2007 ocupa el segundo lugar, precedida por Tucumán (Tabla 1.3). La zona productora de frutillas en nuestra provincia está integrada por Arocena, Desvío Arijón y Coronda (departamento San Jerónimo); San José del Rincón y Arroyo Leyes (departamento La Capital) y Santa Rosa de Calchines (departamento Garay). Tradicionalmente la principal variedad de frutilla cultivada fue Camarosa pero actualmente, como una alternativa para dar una solución a la escasez de mano de obra que existe al momento de realizar la recolección, está siendo reemplazada por otras variedades como Festival, Camino Real, Winter Down, Elyana, Fortuna, Albion y otras en experimentación, que cuentan con una mayor precocidad y son más fáciles de cosechar (Zilli, 2010).

Tabla 1.2. Veinte mayores productores mundiales de frutilla (Adaptada de FAOSTAT, 2009)

Posición	Región	Producción (Tn)
1	Estados Unidos	1270640
2	Marruecos	355020
3	Turquía	291996
4	España	263700
5	Egipto	242776
6	México	233041
7	República de Corea	203772
8	Polonia	198907
9	Federación de Rusia	185000
10	Japón	184700
11	Italia	163044
12	Alemania	158563
13	Reino Unido	109900
14	Ucrania	57900
15	Belarús	57200
16	Francia	46682
17	Chile	43736
18	Colombia	43101
19	Países Bajos	43000
20	Serbia	35799

Tabla 1.3. Zonas de procedencia de la oferta de frutilla en el mercado central de Buenos Aires (Adaptada de Barón, 2010)

	2005	2006	2007	2008	2009	Promedio	Porcentaje
Santa Fe	2876	2219	1229	2154	2034	2102	30,3
Tucumán	1669	1583	1644	3099	2975	2194	31,6
Buenos Aires	1982	1965	1769	2033	2550	2060	29,7
Corrientes	389	485	414	725	559	514	7,4
Mendoza	71	30	97	22	15	47	0,7
Importadas ^a	28	0	30	2,7	19	16	0,2
Otras ^b	17	28	2	0,6	1,5	10	0,1
Total	7032	6310	5185	8036,3	8153,5	6943,36	100

^a Brasil, Estados Unidos.

^b Jujuy, Entre Ríos, Río Negro, Salta, San Juan, Córdoba.

En la provincia de Santa Fe en el año 2010 se ocuparon 389 hectáreas con frutillas. El departamento San Jerónimo lideró la producción de la provincia con el 79,95%; seguido por La Capital y Garay, donde hubo un 14,65% y un 5,40%, de superficie ocupada, respectivamente (Zilli, 2010).

1.1.3. Comercialización

Aproximadamente el 60% de la producción anual de frutillas de Coronda se comercializa como fruta fresca, distribuyéndose el 40% al Mercado Central de Buenos Aires y el 20% restante a otros mercados (Avellaneda, Beccar, 3 de Febrero, Rosario, Córdoba y Santa Fe). La frutilla que se comercializa en los citados mercados se presenta en bandejas de 2 kg, con la fruta ubicada en ocho cubetas de plástico transparente de 250 g cada una y a granel en bandejas de 2 y 5 kg (Saccone, 2004). El resto de la producción se reparte entre la industria local (para la elaboración de productos tales como mermeladas, jaleas, pulpas, jugos, postres, helados y yogurt y la exportación). Los países destinatarios de las frutillas de Coronda son Canadá, Estados Unidos y países de la Comunidad Económica Europea (Municipalidad de Coronda, 2006).

Si bien las industrias dedicadas a la producción de dulces, mermeladas y pulpas son las más características de la zona, las empresas que congelan frutillas están adquiriendo una importancia cada vez mayor. En Coronda y zona de influencia, las industrias dedicadas a la congelación de frutillas ofrecen las siguientes variedades de frutillas congeladas: en bloque (frutilla despallada sin azúcar en bolsas colocadas dentro de envases de cartón), fileteada (5 - 6 mm), cubeteada (6 x 6 x 6 mm), congelada con sistema IQF (*Individually Quick Frozen*) (Saccone, 2004).

1.1.4. Fisiología poscosecha

Las frutas son tejidos vivos que después de ser recolectadas continúan respirando y por lo tanto consumiendo nutrientes para obtener la energía necesaria para su metabolismo. Se sabe que existe una relación directa entre la velocidad de respiración y la velocidad de deterioro del fruto. Además, las frutas transpiran y al disminuir la presión de turgencia se ven afectadas la estructura y la textura y como resultado se produce el marchitamiento del producto (Aked, 2002).

Otros procesos metabólicos de naturaleza enzimática, como la síntesis de pigmentos y la degradación de las paredes celulares, también producen un deterioro en el fruto en la etapa poscosecha (Louda y col., 1998; Pombo y col., 2009).

Además, los hongos y las bacterias son responsables de pérdidas poscosecha elevadas en frutos y vegetales frescos. Algunas fuentes estiman que dichas pérdidas son del orden del 5-25% en países desarrollados y del 20-50% en países en desarrollo. La diferencia en la magnitud del daño en ambos escenarios estriba en que en los países desarrollados usualmente prevalecen condiciones ambientales (temperatura, humedad) menos favorables para la ocurrencia de daños debido a que se dispone de recursos tecnológicos y económicos para prevenir las pérdidas poscosecha y las mayores exigencias de mercado obligan a un manejo usualmente más eficiente (Rivera, 2008).

1.2. Tecnologías poscosecha

La calidad de un producto no puede mejorarse después de la recolección, por lo tanto, es importante que las frutas y verduras sean cosechadas en la etapa apropiada,

tamaño y calidad óptimos. Sin embargo, la vida poscosecha puede mantenerse y extenderse optimizando la manipulación y reduciendo el daño a través de la aplicación de técnicas poscosecha (Berruto y Busato, 2009).

En el caso de la frutilla, el método más utilizado para mantener la calidad y controlar el deterioro de la fruta fresca es efectuar un enfriamiento rápido luego de la recolección de la misma y un posterior almacenamiento a bajos valores de temperatura (El Ghaouth y col., 1991). Otros tratamientos destinados a aumentar la vida post cosecha de frutillas son tratamiento térmico (García y col. 1995; Vicente y col., 2005), inmersión en soluciones de cloruro de calcio (García y col., 1996), tratamiento con enzimas que actúan específicamente sobre la pared celular (Duvetter y col., 2005; Galetto y col., 2005; Galetto, 2006), almacenamiento en envases de atmósfera modificada (Kader, 1980; Kader y col., 1989; Caner y Aday, 2009), aplicación de recubrimientos comestibles (Han y col., 2004; Park y col., 2005; Del-Valle y col., 2005; Vargas y col., 2006; Ribeiro y col., 2007), congelación (Ali Sahari y col., 2004; Galetto y col., 2010), etc.

1.2.1. Refrigeración

El enfriamiento del producto inmediatamente después de la cosecha y su almacenamiento refrigerado es el método más efectivo para retardar el deterioro de la mayoría de las frutas y hortalizas, ya que retrasa el envejecimiento natural, la producción de etileno y de calor resultante de la respiración, la pérdida de agua y la descomposición debida a la invasión por microorganismos (Rivera, 2008).

Entre los métodos más comúnmente empleados para efectuar el enfriamiento del producto se pueden citar las cámaras de enfriado, el enfriamiento por aire forzado, el hidro-enfriamiento, el empaquetamiento con hielo, el enfriamiento al vacío, el enfriamiento evaporativo, entre otros. La elección del método apropiado se basa en los siguientes factores: naturaleza del producto a ser enfriado (por ejemplo si se trata de un producto sensible al frío), temperatura del producto al momento de la cosecha, tiempo de enfriamiento requerido, rendimiento del producto, tipo de envase usado, vida de almacenamiento deseada, y otras consideraciones tales como eficiencia energética, disponibilidad y costos operativo y de capital asociados (Mishra y Gamage, 2007). En el caso de productos que tienen una elevada actividad metabólica como las frutillas, efectuar un enfriamiento rápido resulta crítico (Ferreira y col., 1994). Se recomienda almacenarlas entre 0 y 1 °C a una humedad relativa entre 90 y 95% durante no más de 5 a 7 días (Galletto, 2006).

1.2.2. Tratamiento térmico

Los vegetales son sometidos a calentamiento por varias razones, siendo la principal destruir microorganismos patógenos. Sin embargo, el calor también puede ser importante para inactivar enzimas, evitando así el pardeamiento enzimático y minimizando los cambios de aromas resultantes de la actividad de lipasas y enzimas proteolíticas. El proceso de calentamiento además induce cambios físicos y reacciones químicas como por ejemplo la gelatinización del almidón y la desnaturalización de proteínas, los cuales a su vez afectan, beneficiosamente o perjudicialmente, las características sensoriales tales como color, aroma y textura (Lewis, 2006).

La aplicación del tratamiento térmico puede realizarse empleando agua caliente, aire o vapor caliente, o técnicas más avanzadas como calentamiento infrarrojo o radiación electromagnética (Geysen y col., 2005; Lewis, 2006). El tratamiento con agua caliente tiene las ventajas de que requiere costos bajos y un equipo de aplicación relativamente simple. El empleo de vapor caliente es relativamente caro debido a los costos asociados con la inversión inicial en equipamiento ya que requiere una habitación hermética equipada con controles de temperatura y humedad automáticos y una caldera para la generación de vapor. En general, los tratamientos con agua y vapor caliente causan mayor daño a los tejidos que el aire caliente forzado (Mishra y Gamage, 2007). Por ejemplo, el tratamiento térmico de frutillas en estufa a 45 °C favoreció el mantenimiento de la firmeza de las mismas durante una semana de almacenamiento refrigerado (Vicente y col., 2002).

1.2.3. Atmosferas controladas y modificadas

La calidad y vida útil de las frutas y vegetales también puede extenderse modificando la atmósfera que rodea al producto. Una atmósfera modificada puede definirse como aquella que ha sido creada alterando la composición normal del aire (21% de O₂ y 0,03% de CO₂) con el objetivo de proveer una atmósfera óptima para incrementar el período de almacenamiento y la calidad del producto. Las atmósferas modificadas pueden alcanzarse usando almacenamiento en atmósfera controlada (CA) o envases con atmósfera modificada (MAP). La aplicación de CA requiere el control preciso de las concentraciones de O₂ y CO₂ entorno al producto fresco e involucra una infraestructura de almacenamiento especializada y un equipo de operación sofisticado.

El empleo de MAP involucra el control o modificación activo o pasivo de la atmósfera que rodea el producto dentro de un envase (Zhang y Chen, 2010).

El éxito de la aplicación del proceso de envasado en atmósferas modificadas a productos frescos depende del uso de envases con la permeabilidad correcta que permita establecer condiciones de equilibrio de 3-10% de O₂ y 3-10% de CO₂. Las atmósferas de equilibrio alcanzadas son influenciadas por factores como la velocidad de respiración del producto (la cual es afectada por la temperatura, tipo de producto, variedad, tamaño, madurez y severidad de preparación); la permeabilidad del envase; el volumen, área superficial y peso del envase; y el grado de iluminación. En muchas situaciones comerciales el producto es sellado en envases de permeabilidad insuficiente resultando en el desarrollo de condiciones anaeróbicas indeseables (por ejemplo menor de 2% de O₂ y mayor a 20% CO₂). Actualmente se emplean *films* microperforados (con velocidades de transmisión de gases muy altas) para mantener atmósferas modificadas de equilibrio aeróbicas (5–15% de O₂ y 5–15% de CO₂) en productos con altas tasas de respiración tales como brócoli, hongos, espinaca, etc. Sin embargo, estos materiales son relativamente costosos, ocasionan pérdidas de humedad y aromas y pueden permitir el ingreso de microorganismos al interior del envase durante situaciones de manipulación húmeda. En consecuencia, el establecimiento de una atmósfera modificada de equilibrio óptima para un producto determinado es un proceso muy complejo (Day, 2005).

1.2.4. Recubrimientos comestibles

Los recubrimientos comestibles pueden definirse como una o varias capas delgadas y continuas compuestas por materiales que pueden ser ingeridos por el

consumidor (Wu y col., 2002) y que pueden actuar como una barrera selectiva frente a la transmisión de gases, vapores y solutos; brindar protección mecánica y actuar como portadores de aditivos funcionales tales como antioxidantes, agentes antimicrobianos, enzimas y nutrientes (Cagri y col., 2001; Mei y col., 2002; Sebti y Coma, 2002; Han y col., 2004; Park y col 2004, Park y Zhao, 2004; Zivanovic y col, 2005; Raybaudi-Massilia y col., 2008). Los recubrimientos comestibles se pueden aplicar directamente sobre el producto por inmersión, rociado o pincelado y formarse sobre el mismo durante una etapa de secado (Guilbert y col., 1996; McHugh y Senesi, 2000).

Los recubrimientos comestibles aplicados a frutas permiten controlar la respiración y senescencia de forma similar a las atmósferas modificadas y además al actuar como una barrera frente a la migración de vapor de agua pueden reducir la transpiración del fruto y el deterioro asociado a éste proceso fisiológico (Baldwin y col., 1999).

1.2.5. Congelación

El proceso de congelación (congelación, almacenamiento congelado y descongelación) es uno de los tratamientos más efectivos para extender la vida útil y proveer productos alimenticios de alta calidad (Rahman y Velez-Ruiz, 2007).

Durante la congelación la mayoría del agua líquida se convierte en hielo, reduciéndose ampliamente las actividades microbianas y enzimáticas. La oxidación y respiración también son efectivamente disminuidas por las bajas temperaturas. Sin embargo, la congelación produce cambios físicos y químicos en el alimento como por ejemplo, la alteración del volumen celular, el daño mecánico, la fractura por

congelación y la dislocación de agua que determinan la subsiguiente pérdida de calidad (Chassagne-Berces y col., 2010). La disminución de la calidad por pérdida de peso se debe al hecho de que al someterse a descongelación el tejido puede no reabsorber la humedad de los cristales de hielo fundidos hasta alcanzar el contenido de agua que tenía con anterioridad a la congelación. Dicho fenómeno conduce a la pérdida indeseable de nutrientes, afecta la textura y modifica la apariencia del producto (Zaritzky, 2000).

La calidad de un producto congelado está fuertemente relacionada con las condiciones de los procesos de congelación y descongelación. Se sabe que velocidades de congelación elevadas inducen la producción de un número grande de cristales de hielo pequeños y así produce una mejor retención de la calidad que velocidades de congelación bajas (Delgado y Rubiolo, 2005). Diversos métodos han sido propuestos para aumentar la velocidad de la congelación como la congelación con circulación de aire forzada, la congelación por inmersión, la congelación criogénica entre otros (Galeto, 2006).

Distintas investigaciones se han centrado en aumentar la calidad de frutas congeladas/descongeladas a través de la aplicación de distintos tratamientos previos a la congelación tales como el agregado de diferentes azúcares, la incorporación de calcio o pectina de bajo metoxilo (Main y col., 1986; García y col., 1996; Suutarinen y col., 2000a-b, 2002a-b; Galetto y col., 2005, 2006, 2007). Por otra parte, aunque escasamente estudiado, el empleo de recubrimientos comestibles constituye una nueva estrategia como tratamiento previo para preservar la calidad de frutas sometidas al proceso de congelación (Han y col., 2004).

1.2.5.1. Aplicación de recubrimientos comestibles como tratamiento previo a la congelación

Entre los principales problemas asociados con el proceso de congelación se pueden citar los daños en la estructura delicada de la fruta con la consiguiente alteración de sus atributos texturales y la pérdida de agua del producto durante la descongelación (Galletto, 2006). Se ha propuesto que un recubrimiento comestible, aplicado como tratamiento previo a la congelación, podría actuar como barrera disminuyendo la pérdida de agua del producto (George, 2006). Sin embargo, que la aplicación de un recubrimiento comestible tenga un impacto positivo sobre la vida útil de la fruta o vegetal dependerá fundamentalmente de las características del producto, de las condiciones de almacenamiento y de las propiedades de barrera frente a la humedad del recubrimiento, las cuales están directamente relacionadas con la composición química y la estructura de los polímeros formadores de recubrimiento (Lin y Zhao, 2007). La aplicación de recubrimientos comestibles para prolongar la vida útil de frutillas almacenadas congeladas, aunque escasamente estudiada, mostró ser efectiva. Han y col. (2004) aplicaron tres tipos de recubrimientos: quitosano, quitosano con el agregado de calcio y quitosano con agregado de vitamina E y observaron que los recubrimientos disminuyeron significativamente la incidencia del decaimiento y pérdida de peso; retrasaron los cambios de color, pH y acidez titulable.

Entre los diversos materiales formadores de recubrimientos comestibles aquellos compuestos por proteínas del suero merecen una consideración especial dado que estas proteínas poseen propiedades nutricionales y funcionales excelentes; presentan la capacidad de formación de películas transparentes y flexibles (Shellhammer y Krochta,

1997; Pérez-Gago y col., 1999; Le Tien y col., 2001). Por tal motivo resulta interesante evaluar el efecto de la aplicación de recubrimientos comestibles a base de proteínas del suero como tratamiento previo a la congelación de frutillas.

Capítulo 2

OBJETIVOS

El desarrollo e implementación de nuevas tecnologías relacionadas con la conservación de frutillas es de particular interés en la región de Santa Fe dado que ésta provincia es la segunda productora de ésta fruta en importancia a nivel nacional.

La congelación es uno de los procesos más empleados en la conservación de alimentos y específicamente en el caso de las frutillas, al tratarse de un cultivo estacional, podría garantizar la disponibilidad de esta fruta en aquellas épocas del año distintas a las de cosecha. Sin embargo si no se efectúa en combinación con otras técnicas, un tejido tan delicado como el de las frutillas puede sufrir daños severos.

La aplicación de recubrimientos comestibles constituye una tecnología prometedora para mejorar la calidad y conservación de los alimentos sometidos al proceso de congelación. Por otra parte, los recubrimientos comestibles poseen la ventaja adicional de que pueden ser utilizados como vehículo para la incorporación de agentes antimicrobianos, antifúngicos y antioxidantes.

En la actualidad, la nueva tendencia hacia el uso de materiales biodegradables en el sector de envases ha impulsado el desarrollo de recubrimientos comestibles. Particularmente, la formulación de recubrimientos a base de proteínas del suero contribuiría a la reutilización del suero de quesería reduciendo el impacto ambiental que causa su eliminación.

Por lo tanto, el objetivo general de esta Tesis fue: **Estudiar los aspectos básicos y aplicados para el desarrollo de recubrimientos que permitan obtener un producto de alta calidad y valor agregado.**

En el proceso de búsqueda de un recubrimiento adecuado para un producto determinado generalmente se estudian las propiedades de las películas autoportadas y posteriormente se continúa con una etapa de evaluación del efecto del recubrimiento aplicado al producto de interés. Así, en el presente trabajo de Tesis se plantearon los siguientes los objetivos específicos:

- Estudiar el efecto de la variación en la formulación sobre las propiedades mecánicas y de barrera, sobre la solubilidad y sobre el comportamiento de adsorción de humedad de las películas comestibles autoportadas; analizando el efecto sobre dichas propiedades de la temperatura de secado y del proceso de congelación (congelación-almacenamiento congelado-descongelación).
- Analizar el efecto de la aplicación de recubrimientos comestibles a base de concentrado de proteínas del suero sobre las características estructurales y texturales de frutillas sometidas al proceso de congelación.
- Estudiar la influencia de la velocidad de congelación sobre las características estructurales y texturales de frutillas recubiertas congeladas/descongeladas.
- Correlacionar las propiedades mecánicas y de barrera medidas en las películas comestibles preformadas con las características estructurales y texturales de las frutillas sometidas al proceso de congelación.

Capítulo 3

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

3.1. Historia de los recubrimientos y las películas comestibles

Los recubrimientos y las películas comestibles se han empleado durante siglos principalmente para prevenir la pérdida de humedad y mantener la calidad y textura de los alimentos durante su almacenamiento (Jooyandeh, 2011). Existen reportes que datan de los siglos XII y XIII en los que se menciona que en China se realizaba la inmersión de naranjas y limas en cera para retardar la pérdida de agua (Park, 2003). Si bien la calidad de los productos no hubiera sido aceptable para una sociedad selectiva moderna, este método fue muy efectivo en su época y fue puesto en práctica durante siglos a falta de otros más eficientes. Otros antecedentes relatan que en Japón durante el siglo XV se utilizó un recubrimiento comestible a base de leche de piel de soja hervida para mejorar la calidad y apariencia de alimentos. En el siglo XIX se registró en Inglaterra una patente referida a la preservación de varios productos cárnicos empleando películas de gelatina (Pavlath y Orts, 2009). En el siglo XX, se contaba con ceras parafínicas comerciales para el recubrimiento de cítricos (Nussinovitch y Lurie, 1995) y se comenzaba el desarrollo de recubrimientos y películas a base de celulosa (Kester y Fennema, 1989). Actualmente la aplicación de recubrimientos y películas comestibles se ha extendido a productos alimenticios tan diversos como frutas, vegetales, carnes, dulces y frutos secos (Han y Gennadios, 2005). Esta expansión fue debida al impulso generado por el interés del consumidor en la calidad, conveniencia y seguridad de los alimentos; a la necesidad de reducir el impacto ambiental causado por el uso de envases sintéticos; y debido a la posibilidad de aprovechar materiales muy abundantes en la naturaleza que hasta entonces fueron considerados como desechos (Krochta y col., 1994). Sin embargo, a pesar de que la información técnica disponible para la

elaboración de recubrimientos y películas comestibles es amplia, no es universal para todos los productos lo que implica un desafío para el desarrollo de recubrimientos y películas específicos para cada alimento.

3.2. Definición y propiedades

Los recubrimientos y las películas comestibles se definen como una o varias capas delgadas y continuas compuestas por materiales que pueden ser ingeridos por el consumidor (Wu y col., 2002). Los recubrimientos comestibles se aplican directamente sobre el producto por inmersión, rociado o pincelado y se forman sobre el mismo durante una etapa de secado (Guilbert y col., 1996; McHugh y Senesi, 2000). Las películas comestibles se producen sobre un molde y posteriormente se aplican sobre el producto (Guilbert y col., 1996).

Los recubrimientos y las películas comestibles ideales se caracterizan por actuar como una barrera frente a la transmisión de humedad, solutos y/o gases; brindar protección mecánica; poseer una determinada solubilidad en agua; ser transparentes, no otorgar sabor ni olor diferente al alimento y por no ser detectados durante su consumo. Además, entre otras características, deben estar libres de tóxicos y ser seguros para la salud; deben requerir una tecnología simple para su elaboración y el costo de las materias primas y de producción deben ser bajos (Kester y Fennema, 1986).

Las propiedades anteriormente nombradas dependen del tipo de material empleado, del procedimiento de formación y del método de aplicación del recubrimiento y la película comestible (Guilbert y col., 1996) y usualmente pueden ser mejoradas incluyendo en la formulación aditivos funcionales tales como antioxidantes,

agentes antimicrobianos, enzimas y nutrientes (Cagri y col., 2001; Mei y col., 2002; Sebti y Coma, 2002; Han y col., 2004; Park y Zhao, 2004; Park y col., 2004; Zivanovic y col., 2005; Raybaudi-Massilia y col., 2008).

3.3. Materiales empleados para la formulación de recubrimientos y películas comestibles

Los principales componentes de los recubrimientos y películas comestibles son sustancias generalmente reconocidas como seguras (GRAS) tales como lípidos, proteínas, derivados de celulosa, almidón y otros polisacáridos (García y col., 2000). Los distintos materiales y sus propiedades han sido revisados extensamente (Krochta y col., 1994; Wu y col., 2002; Lin y Zhao, 2007). Como regla general podría decirse que los lípidos se emplean para reducir la transmisión de agua, los polisacáridos para controlar la transmisión de oxígeno y otros gases y las proteínas para dotar al recubrimiento o a la película de estabilidad mecánica. Estos materiales pueden emplearse individualmente o en mezclas, formando recubrimientos y películas compuestos, mientras que no alteren adversamente las características organolépticas del alimento (Pavlath y Orts, 2009). Adicionalmente, las formulaciones pueden incluir plastificantes, emulsionantes, saborizantes, compuestos antimicrobianos, etc. para mejorar las propiedades de los recubrimientos y películas comestibles.

3.3.1. Polisacáridos

Entre los polisacáridos formadores de recubrimientos y películas comestibles se pueden citar el almidón, el quitosano, la celulosa, la carragenina, el alginato, y ciertas

gomas y fibras. Los polisacáridos poseen una secuencia simple pero pueden adoptar conformaciones complicadas e impredecibles. Además, si bien la mayoría de los carbohidratos son neutros, la presencia en sus estructuras de un número relativamente grande de grupos hidroxilo y otros componentes hidrofílicos indica que el enlace de hidrógeno puede jugar un rol importante en la formación y características del recubrimiento. Algunas gomas, por otra parte, poseen cargas negativas y muestran propiedades diferentes dependiendo del pH del medio (Han y Gennadios, 2005).

3.3.2. Proteínas

Los materiales formadores de recubrimientos y películas comestibles a base de proteínas derivadas de fuentes animales incluyen el colágeno, la gelatina, las proteínas miofibrilares de pescado, la queratina, las proteínas de la clara de huevo, la caseína, las proteínas del suero de quesería, etc. Entre los materiales derivados de fuentes vegetales se pueden citar la zeína de maíz, el gluten de trigo, las proteínas de soja, de maní y de semillas de algodón, etc. (Krochta, 2002). Las características más distintivas de las proteínas comparadas con otros materiales formadores de recubrimientos y películas son la desnaturalización conformacional, la presencia de cargas electrostáticas y la naturaleza anfifílica (Han y Gennadios, 2005). Las estructuras secundaria, terciaria y cuaternaria de las proteínas pueden ser modificadas por distintos tratamientos físicos y agentes químicos (calor, tratamiento mecánico, presión, irradiación, lípidos en interfaces, ácidos y álcalis, iones metálicos, etc.) y este hecho es aprovechado muy a menudo para optimizar la configuración e interacciones de las proteínas y como resultado las propiedades del recubrimiento y película obtenidos. Una ventaja adicional

de los recubrimientos y películas a base de proteínas es que pueden mejorar la calidad nutricional de los alimentos dado que aumentan el contenido proteico del producto (Krochta, 2002). Por otra parte, el proceso de selección de un recubrimiento o película a base de proteínas para su aplicación en alimentos debe considerar la posibilidad de que un segmento de la población sea alérgico a ciertas proteínas, esto es particularmente importante en el caso de proteínas del trigo (Pavlath y Orts, 2009).

3.3.3. Lípidos y resinas

Los lípidos y resinas también son empleados como materiales formadores de recubrimientos y películas comestibles. Los recubrimientos y películas a base de estos componentes se elaboran con ceras y aceites tales como cera o aceite de parafina; ceras de abejas, de carnauba y de candelilla; aceites minerales y vegetales; monoglicéridos acetilados; ácidos esteárico, láurico y palmítico; ésteres de ácidos grasos-sacarosa, entre otros.

Generalmente, éstos recubrimientos y películas son barreras efectivas frente a la migración de vapor de agua pero presentan propiedades mecánicas desfavorables y disminuyen o incluso previenen la migración de otros gases, lo cual puede resultar en procesos fisiológicos indeseables tales como respiración anaeróbica. Estos procesos, a su vez, disminuyen la calidad del producto resultando en el ablandamiento de la estructura del tejido, la alteración de los aromas, el retraso de la maduración y la promoción de reacciones microbiológicas (Pavlath y Orts, 2009).

Por otra parte, los lípidos pueden ocasionar problemas en la aplicación a consecuencia de su estructura heterogénea y su pobre adherencia al alimento. Además,

debido a su fragilidad y susceptibilidad a sufrir oxidación pueden alterar las propiedades organolépticas del producto resultando en recubrimientos o películas opacos y de sabor ceroso (Gontard y col., 1995).

3.3.4. Mezclas

Con la intención de aprovechar las ventajas de los diferentes componentes, pueden elaborarse formulaciones combinando los materiales anteriormente mencionados en diferentes proporciones. En estos recubrimientos y películas compuestos, el uso de dos o más materiales permite mejorar las propiedades de intercambio gaseoso, la adherencia y la permeabilidad al vapor de agua.

El procedimiento seguido para efectuar la mezcla de los distintos componentes determinará la formación de recubrimientos y películas monocapa o bicapa. En los recubrimientos y películas monocapa, se efectúa la dispersión o emulsión del lípido en la solución hidrofílica de polisacárido o proteína y posteriormente dicha emulsión se aplica y/o se somete a secado. Por otra parte, los recubrimientos y películas bicapa se obtienen en dos etapas: en la primera se forma la base de polisacárido o proteína y en la segunda, se aplica el componente lipídico sobre la base previamente formada. (Shellhammer y Krochta, 1997). Cuando se preparan recubrimientos y películas mediante la técnica de emulsión, durante la etapa de secado es posible que se produzca un proceso de cremado de los glóbulos lipídicos hacia la superficie debido a su baja densidad y a la baja capacidad emulsionante del polímero que actúa como matriz soporte (Kamper y Fennema, 1984a). No obstante, aunque se produce una cierta

separación de fases, normalmente no logra formarse una verdadera bicapa, quedando partículas de lípido distribuidas en la matriz soporte (McHugh, 1996).

Si bien los recubrimientos y películas monocapa o emulsionados serían menos eficientes frente a la transferencia de humedad que los bicapa, poseen una buena resistencia mecánica y cuentan con la ventaja adicional de requerir una única etapa para su formación y aplicación a diferencia de los recubrimientos y películas bicapa que requieren una etapa por cada capa (Karbowiak y col., 2007). Estos factores han determinado que los recubrimientos y películas emulsionados hayan tenido mucha aplicación en la industria de alimentos.

3.3.5. Aditivos

Frecuentemente, en la formulación de un recubrimiento y película comestible se incluyen distintos aditivos con la finalidad de mejorar o reforzar distintas características del mismo o para conferirle funciones específicas.

Una característica de los recubrimientos y películas comestibles, determinada por la fuerza de interacción entre las moléculas de los polímeros que los forman, es la susceptibilidad a presentar roturas durante su manipulación y almacenamiento, la cual puede afectar seriamente sus propiedades. Para disminuir la fragilidad usualmente se requiere la inclusión de un compuesto que actúe como plastificante en la formulación. Los plastificantes son sustancias de peso molecular relativamente bajo que reducen las interacciones entre las moléculas de hidrocoloide mejorando las propiedades mecánicas del recubrimiento y la película resultante. Los plastificantes más comúnmente empleados son monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos (glucosa, fructosa, sacarosa,

miel, etc.), polioles (glicerol, sorbitol, etc.) y ciertos lípidos y derivados (fosfolípidos, ácidos grasos y surfactantes). Dado que los plastificantes aumentan la flexibilidad estructural también ocasionan generalmente un aumento en la permeabilidad del recubrimiento y la película al vapor de agua, a los solutos y a los gases (Gontard y col., 1993).

La incorporación de emulsionantes puede ser necesaria para obtener recubrimientos y películas emulsionados dado que estos compuestos reducen la tensión superficial en las interfaces agua-lípido y agua-aire. En el caso de recubrimientos y películas proteicos, algunas proteínas tienen suficiente capacidad emulsionante debido a su naturaleza anfifílica (Han y Gennadios, 2005). Algunos de los emulsionantes usados en la formulación de recubrimientos y películas comestibles son: ácidos grasos, monoacilgliceroles, lecitina y sus derivados, etilenglicol, glicerol monoestearato, ésteres de ácidos grasos y sorbitán o polioxeno (Tweens) y ésteres de sacarosa y ácidos grasos (Baldwin y col., 1999).

También pueden incluirse antioxidantes y agentes antimicrobianos para proveer funciones activas adicionales y para proteger al producto alimenticio de la oxidación y contaminación microbiana, respectivamente; resultando en la mejora de la calidad del producto y en el aumento de la seguridad (Han y Gennadios, 2005). Entre los antioxidantes no tóxicos naturales, el ácido ferúlico o el α -tocoferol poseen actividad antioxidante bien documentada (Fabra y col., 2011). En el caso de los agentes antimicrobianos naturales se pueden citar el ácido sórbico y el ácido p-aminobenzoico, la nisina y lisozima, flavonoides y compuestos fenólicos extraídos de especias (Vojdani y Torres, 1989, 1990; Cagri y col., 2001; Seydim y Sarikus, 2006).

Los recubrimientos y películas comestibles pueden también actuar como matriz portadora de moléculas activas tales como aromas, constituyendo una estrategia para disminuir la pérdida de los aromas del alimento durante su conservación (Marcuzzo y col., 2010).

Independientemente de cual sea el propósito del agregado del aditivo es importante considerar que siempre existe la posibilidad de que pueda alterar adversamente las propiedades mecánicas y la resistencia al vapor de agua, gases o transporte de solutos del recubrimiento y la película.

3.4. Materiales seleccionados en la presente investigación

En la presente investigación, se trabajó con proteínas del suero como material base formador de los recubrimientos y las películas comestibles. Dichas proteínas poseen propiedades nutricionales y funcionales excelentes; presentan la capacidad de formación de recubrimientos y películas transparentes, flexibles y solubles en agua y además constituyen barreras muy buenas frente a la migración de oxígeno, aromas y lípidos (Shellhammer y Krochta, 1997; Pérez-Gago y col., 1999; Le Tien y col., 2001). Sin embargo, los recubrimientos y películas a base de proteínas del suero constituyen una barrera poco eficiente frente a la transmisión de humedad (Shellhammer y Krochta, 1997; Pérez-Gago y col., 2003), deficiencia que podría ser superada incluyendo en la formulación un componente lipídico. La cera de abejas es uno de los lípidos incorporado en recubrimientos y películas comestibles por su excelente eficiencia como barrera frente a la humedad, sus propiedades físicas convenientes tales como punto de fusión 60-65 °C y plasticidad, su bajo costo y su consideración GRAS (Greener y

Fennema, 1989). Por tal motivo, la cera de abejas fue seleccionada como segundo componente principal. Además, otros componentes minoritarios como el glicerol, sorbato de potasio y tween se incluyeron en la formulación de los recubrimientos y películas comestibles como plastificante, agente antimicrobiano y emulsificante, respectivamente.

3.4.1. Proteínas del suero

El suero es el resultante líquido generado en el proceso de coagulación de la leche en la manufactura de quesos. Tradicionalmente se ha utilizado como alimento de cerdos y ganado, como fertilizante o simplemente se ha desechado. Por ejemplo, antes del establecimiento de normas de regulación específicas, el suero producido en los Estados Unidos era mayormente vertido en ríos, con lo cual su eliminación constituyó un problema de polución ambiental dado que posee una demanda biológica de oxígeno elevada (35-45 kg/L) (Tunick, 2008).

Unos años atrás, el desarrollo de nuevas tecnologías de procesamiento, así como los costos ambientales y asociados a la eliminación del suero, promovieron el procesamiento del mismo en sus componentes, especialmente proteínas del suero y lactosa, para su empleo como ingredientes de alimentos (Balagtas y col., 2003).

Actualmente el suero de lechería, el cual posee aproximadamente el 95% de la lactosa, el 25% de las proteínas y el 8% de la materia grasa presentes en la leche (Smithers y Copeland, 1997), se ha convertido en un producto codiciado debido a las propiedades funcionales que imparte a los alimentos (Tunick, 2008).

Las proteínas del suero se definen técnicamente como la fracción proteica que permanece en el suero después de efectuada la coagulación de las caseínas a pH 4,6 y temperatura 20 °C. La mezcla de proteínas del suero incluye proteínas individuales como por ejemplo la β -lactoglobulina, la α -lactolbúmina, la albúmina sérica bovina y las inmunoglobulinas (de Wit y Klarenbeek, 1984). Comercialmente, las proteínas del suero están disponibles en la forma de aislados (WPI) y concentrados (WPC). Estos productos difieren tanto en la materia prima de origen como en el proceso de elaboración y consecuentemente en su composición. Los WPC tienen porcentajes de proteínas entre 30-85%, mientras que los WPI tienen contenidos de proteínas mayores al 90%. El proceso de elaboración de los WPI posee mayor cantidad de etapas e implica costos energéticos elevados, por esta razón los WPI tienden a ser utilizados en aplicaciones más específicas que los WPC (Meza, 2009).

Los beneficios de la utilización de WPC y WPI en la industria alimenticia incluyen su concentración elevada de proteínas; su bajo contenido de calorías, grasas y sodio; la ausencia de patógenos, compuestos tóxicos y factores antinutricionales; su buena capacidad de emulsificación; la compatibilidad con otros ingredientes; la fácil disponibilidad; y la percepción por parte del consumidor de que se trata de un producto natural (Bonnaillie y Tomasula, 2008).

3.4.2. Cera de abejas

La cera de abejas es un producto natural de diversos orígenes (abejas asiáticas *Apis dorsata*, *Apis florea* y *Apis indica*, abejas africanas *Apis mellifera adansonii*, y abejas europeas *Apis mellifera*) cuya composición cualitativa promedio se compone de

hidrocarburos (14%), monoésteres (35%), diésteres (14%), triésteres (3%), hidroximonoésteres (4%), hidroxipoliésteres (8%), ésteres monoácidos (1%), poliésteres ácidos (2%), ácidos libres (12%), alcoholes libres (1%) y compuestos no identificados (6%) (Bonaduce y Colombini, 2004).

La cera de abejas toma su valor a partir de su pureza y color. La de color claro tiene mayor valor que la de color oscuro porque ésta última puede haber sido contaminada o sobre climatizada. La más fina se extrae de la fundición de opérculos, es decir, de las capas de cera con las cuales las abejas cubren la miel cuando ya está en su punto. Esta cera nueva es pura y blanca y la presencia de polen le da un color amarillo (Documentos FAO, 2005).

La cera de abejas es insoluble en agua y resistente a varios ácidos, pero es soluble en la mayoría de los solventes orgánicos tales como éter, bencina, benzol, cloroformo, etc. y después de calentamiento, en alcohol y ácidos grasos (Médici, 2011).

3.4.3. Otros

El glicerol es uno de los plastificantes más populares empleados en la formulación de recubrimientos y películas comestibles debido principalmente a su estabilidad y a su compatibilidad con biopolímeros hidrofílicos (Chillo y col., 2008).

Otro componente minoritario de los recubrimientos y películas comestibles estudiados en el presente trabajo de Tesis fue el sorbato de potasio, incorporado con la finalidad de inhibir el crecimiento microbiano durante las determinaciones. Los sorbatos (ácido sórbico y sus sales de potasio) son aditivos considerados GRAS, y son los

antimicrobianos más usados particularmente debido a que son activos contra levaduras, hongos y muchas bacterias (Flores y col., 2010).

Finalmente, se añadió Tween 80 a las formulaciones que contuvieron BW, dado que el uso de un emulsificante en recubrimientos a base de proteínas del suero incrementa significativamente la eficiencia del mismo, mejorando su aplicación (Lin y Krochta, 2005).

3.5. Películas comestibles autoportadas

3.5.1. Mecanismos de obtención de películas comestibles autoportadas

Las películas comestibles pueden formarse según distintos procesos dependiendo del material de partida. Si se parte de un lípido, la película comestible puede obtenerse mediante la solidificación del material fundido. Si el material de partida es un biopolímero, el método más empleado para obtener películas comestibles es la remoción del solvente pero también las películas pueden obtenerse cambiando las condiciones de la solución. El calentamiento, agregado de sales o cambio de pH puede alterar las condiciones en la solución de forma tal que los biopolímeros se agreguen en una fase separada, proceso conocido como coacervación. (Dangaran y Krochta, 2008).

El método de elección para la obtención de películas comestibles autoportadas es el *casting* o formación sobre un molde dado que es un método efectivo y eficiente. Hay varios tipos de equipos disponibles, desde un molde simple hasta aparatos de laboratorio más avanzados, continuos y discontinuos. Comúnmente, se emplean soluciones diluidas de polímeros las cuales se distribuyen manualmente en placas de

petri, moldes de vidrio, teflón, etc. niveladas y luego se someten a un proceso de secado bajo condiciones ambientales o controladas (Dangaran y col., 2009). El método de secado puede afectar las propiedades físicas de la película, incluyendo la morfología, la apariencia, y las propiedades mecánicas y de barrera (Pérez-Gago y Krochta, 2002).

Otro mecanismo de formación de películas comestibles autoportadas es la extrusión, la cual se basa en las propiedades termoplásticas de los polímeros al ser calentados a temperaturas superiores a su temperatura de transición vítrea en condiciones de bajo contenido de humedad (Skurtys y col., 2010).

3.5.2. Propiedades fisicoquímicas de las películas comestibles autoportadas

3.5.2.1. Características estructurales evaluadas mediante microscopía electrónica de barrido

El procedimiento de caracterización de una película comestible, puede incluir el estudio de la microestructura de la misma mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). La SEM puede emplearse para evaluar la homogeneidad de la película, la estructura en forma de capas, los poros y roturas, la suavidad de la superficie y el espesor (García y col., 2009).

La microestructura final de las películas resulta de las interacciones entre los componentes de la misma y de fenómenos de desestabilización que tienen lugar, por ejemplo, durante el proceso de secado (Atarés y col., 2010). Así, las imágenes obtenidas mediante SEM de películas plastificadas que contienen lípidos pueden exhibir una superficie lisa y estructura compacta, indicando la dispersión homogénea de los lípidos

dentro de la matriz (García y col., 2009) ó, en contraste, mostrar la presencia de partículas lipídicas en la superficie de la película confirmando la sospecha de ocurrencia de cremado durante la formación de la película (Vargas y col., 2009a).

En cuanto a la relación entre la microestructura y las propiedades de las películas autoportadas, la observación de una matriz compacta y homogénea es un indicador de integridad estructural, y como consecuencia podrían esperarse de dicha película propiedades mecánicas deseables tales como buenas resistencia mecánica y elongación a ruptura (García y col., 2009). Por otra parte, la observación de una capa casi continua de gotas lipídicas en la superficie de una película podría explicar bajos valores de WVP (García y col., 2009).

3.5.2.2. Permeabilidad al vapor de agua

La permeabilidad al vapor de agua de una película comestible cuantifica su eficiencia para reducir la transferencia de humedad entre un alimento y el medio que lo rodea (Hettiarachchy y Eswaranandam, 2005).

Según Baldwin (2007), la permeabilidad de una barrera se calcula a partir de una combinación de la primera ley de la difusión de Fick y de la ley de solubilidad de Henry. Esta combinación se usa para determinar el flujo de la molécula que permea a través de una barrera no porosa, asumiendo que dicha barrera no posee imperfecciones.

El método más comúnmente empleado para determinar la permeabilidad al vapor de agua (WVP) de una película autoportada es el método ASTM E 96 (ASTM, 2005). Este es un método gravimétrico que consiste en sellar la película cuya permeabilidad se

desea medir sobre una copa parcialmente llena con agua, solución salina saturada o desecante, dejando una capa de aire estanco por debajo de la película (Figura 3.1). La copa se coloca bajo condiciones controladas de temperatura y humedad y se mide el cambio de peso en el tiempo. En este dispositivo, la diferencia de presión parcial de vapor de agua entre el interior y el exterior de la copa ($p_{(w0)}-p_{(w2)}$) provee la fuerza impulsora para el flujo de vapor de agua a través de la película (Gennadios y col., 1994).

La determinación de WVP de una película depende de las condiciones bajo las cuales se efectúa la medición, fundamentalmente, de la temperatura y del gradiente de presión de vapor de agua (García y col., 2009).

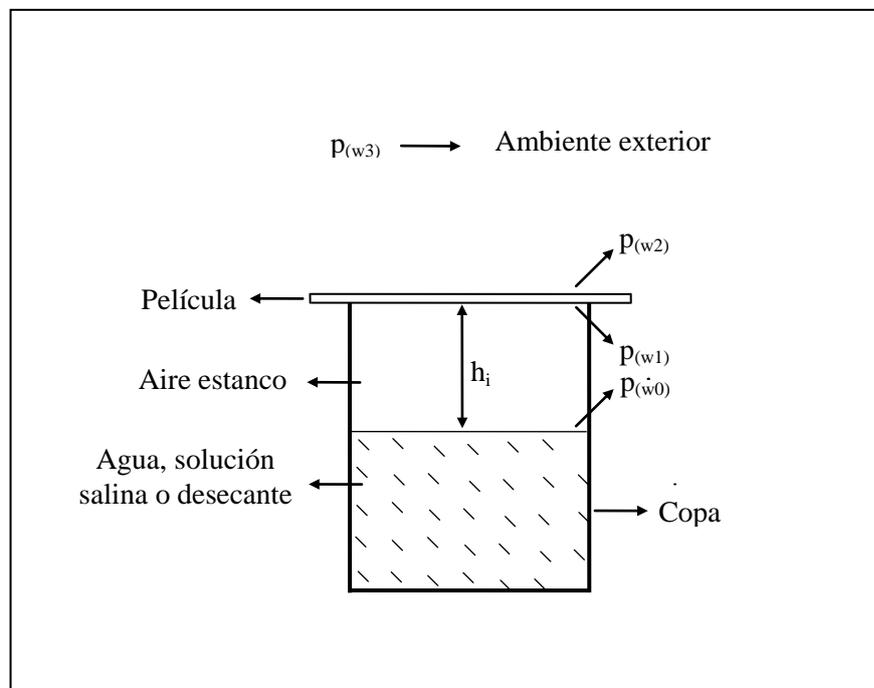


Figura 3.1. Diagrama esquemático de la copa empleada en la determinación de WVP (Adaptada de Gennadios y col., 1994).

La WVP de las películas comestibles se ha evaluado sometiendo a las mismas a distintas fuerzas impulsoras. Distintos autores han empleado gradientes de humedad relativa interior/exterior iguales a 100/0, 100/50, 100/58, 100/73, 40/20, 60/20 (Parris y Coffin, 1997; Shellhammer y Krochta, 1997; Pérez-Gago y col., 1999; Sothornvit y Krochta, 2000; Anker y col., 2002; Han y col., 2004; Talens y Krochta, 2005; Han y col., 2006; Ozdemir y Floros, 2008a; Fabra y col., 2008; Vargas y col., 2008; Osés y col., 2009).

Según lo recomendado por ASTM (2005), el gradiente de HR en la determinación debería efectuarse con la premisa de lograr la mayor aproximación a la condición bajo la cual se emplea la película. Por ejemplo, Talens y Krochta (2005) efectuaron la determinación bajo gradientes 40/20 y 60/20 para representar la situación de una película colocada entre un componente de un alimento con 0,4 ó 0,6 de a_w y otro componente con a_w 0,2. Vargas y col. (2008) emplearon gradientes 100/58 y 100/73 para simular el caso de una película aplicada sobre la superficie húmeda de una fruta o vegetal.

El método de la copa fue diseñado para determinar la WVP de polímeros hidrofóbicos sintéticos, por lo cual ciertas suposiciones podrían no ser válidas para materiales hidrofílicos. Así, resulta necesario aplicar un método de corrección.

Método de corrección

El método ASTM E 96 (ASTM, 2005) asume que la capa de aire estanco que existe entre la película y la superficie del líquido o desecante ubicado en el interior de la copa ofrece una resistencia despreciable al transporte de vapor de agua. Este método

aparentemente funciona bien para películas de velocidad de transferencia de vapor de agua (WVPR) baja, para las cuales fue desarrollado originalmente. Las películas comestibles que contienen cantidades elevadas de compuestos lipídicos constituyen barreras realmente buenas frente a la migración de vapor de agua y sus WVP pueden probarse con éste método sin inconvenientes. Sin embargo, este método no es válido en el caso de películas comestibles a base de proteínas y polisacáridos, las cuales se caracterizan por una alta WVPR y por su sensibilidad a la humedad. En este caso, la resistencia provista por la capa de aire h_i (Figura 3.1) es significativa y despreciar este efecto puede llevar a una subestimación de la WVPR real de la película. La fuerza conductora aparente para el flujo de vapor de agua a través de la película es $p_{(w0)}-p_{(w2)}$ mientras que la fuerza conductora real es $p_{(w1)}-p_{(w2)}$. La existencia de una capa de aire estanco por arriba de la copa podría también resultar en la resistencia al transporte de vapor de agua. Este problema usualmente se evita mediante la convección del aire sobre la copa. Por ejemplo, la mayoría de las cámaras ambientales empleadas para controlar la humedad relativa exterior a la copa proveen una circulación de aire adecuada (Gennadios y col., 1994).

McHugh y col. (1993) desarrollaron un método de corrección de la WVP para tomar en cuenta el gradiente de presión parcial en la capa de aire estanco en el interior de la copa de prueba.

La WVPR, considerando la transferencia de materia a través de la capa de aire estanco en la copa de prueba, puede evaluarse usando un método clásico para calcular la difusión de vapor de agua a través de la película:

$$WVPR = \frac{pD \ln \left(\frac{p - p_{(w1)}}{p - p_{(w0)}} \right)}{RT \Delta h_i} \quad (3.1)$$

Donde:

p : presión atmosférica total (Pa).

$p_{(w0)}$: presión parcial de vapor de agua en la superficie del agua o desecante colocada en el interior de la copa (Pa).

$p_{(w1)}$: presión parcial de vapor de agua en la superficie interna de la película (Pa).

R : constante universal de los gases ideales (Pa m³/mol K).

T : temperatura absoluta (K).

D : difusividad del vapor de agua en aire (m²/s).

Δh_i : altura promedio de la capa de aire estanco por debajo de la película medida al inicio y al final de la determinación (mm).

Por otra parte, el monitoreo periódico del cambio de peso de la copa permite obtener la gráfica de pérdida de peso en función del tiempo, que en estado estacionario es una línea recta. La pendiente de esta línea dividida por el área expuesta de la película (área de la boca abierta de la copa) permite obtener la WVPR de la película. Así, teniendo como dato la WVPR, a partir de la Ecuación 3.1 se puede calcular $p_{(w1)}$:

$$p_{(w1)} = p - \left((p - p_{(w0)}) e^{\left(\frac{WVPRRT \Delta h_i}{pD} \right)} \right) \quad (3.2)$$

Luego, con el valor obtenido de $p_{(w1)}$ se obtiene la WVP según:

$$WVP = \left(\frac{WVPR}{P_{(w1)} - P_{(w2)}} \right) \times L \quad (3.3)$$

Donde:

$p_{(w2)}$: presión parcial de vapor de agua en la superficie externa de la película (Pa).

L: espesor promedio de la película (mm).

Los valores de WVP obtenidos como parte de la caracterización de la película comestible son comúnmente empleados para la predicción de la vida útil del producto, y también para el diseño de películas con la permeabilidad adecuada según su posterior aplicación (McHugh y col., 1993).

3.5.2.3. Solubilidad en agua

La solubilidad en agua es un factor importante para determinar las aplicaciones posibles de las películas. En algunos casos, se desea una película fácilmente soluble, tal como una bolsa soluble que contiene ingredientes alimenticios, mientras que en otros casos podría preferirse una película insoluble para proveer resistencia al agua y mejorar la integridad del alimento. Los materiales formadores de películas comestibles que son solubles en agua producen películas de solubilidad variada dependiendo de la proteína y de las condiciones de formación de la película y de los tratamientos efectuados. Por ejemplo, aislados de proteínas del suero nativos producen películas totalmente solubles en agua, pero soluciones de aislados de proteínas del suero desnaturalizadas

térmicamente producen películas en las cuales las proteínas son mayormente insolubles (García y col., 2009).

3.5.2.4. Actividad de agua e isothermas de sorción

La mayoría de los recubrimientos biodegradables son sensibles a la humedad y sus propiedades son alteradas por cambios en la humedad relativa (Martelli y col., 2006). El estudio de las isothermas de sorción de las películas autoportadas permite estimar el contenido de humedad de equilibrio de las mismas, constituyendo una herramienta para predecir las propiedades y la estabilidad de una película bajo diferentes condiciones de almacenamiento (Jangchud y Chinnan, 1999a; García y col., 2009).

La sorción de humedad de películas comestibles a base de proteínas de maní, proteínas del suero, metil y etil celulosa, proteínas de soja, queratina, almidón, caseinato, etc. ha sido estudiada por distintos autores (Jangchud y Chinnan, 1999a; Coupland y col., 2000; Kim y Ustunol, 2001; Velázquez de la Cruz y col., 2001; Cho y Rhee, 2002; Martelli y col., 2006; Bertuzzi y col., 2007; Zhang y Han, 2008; Fabra y col., 2010). Las curvas de sorción obtenidas fueron de forma sigmoidea, características de isothermas de tipo II, lo cual constituyó un rasgo típico de la mayoría de los biopolímeros.

Si bien se han sugerido distintas ecuaciones para modelar la función general de sorción (Chirife e Iglesias, 1978), la isoterma de Brunauer-Emmet-Teller (BET) es una de las formas más exitosas para determinar el contenido de humedad en monocapa de alimentos. Este modelo se cumple en un rango limitado de a_w , generalmente entre 0 y

0,55. Por arriba de este valor el resultado se desvía de la línea recta cuando se grafica la ecuación como función lineal. La ecuación general para el modelo BET es:

$$EMC = \frac{k_0 k_1 a_w}{(1 - a_w)(1 - a_w + k_1 a_w)} \quad (3.4)$$

Donde:

EMC: contenido de humedad de equilibrio.

k_0 : contenido de humedad de la monocapa.

k_1 : constante de calor superficial.

La falla del modelo de BET a valores elevados de a_w llevó al desarrollo del modelo de Guggenheim, Anderson y de Boer (GAB), una ecuación de tres parámetros que se ha usado ampliamente para describir el comportamiento de sorción de humedad de alimentos. El modelo GAB es una versión mejorada del modelo BET que considera la adsorción en multicapa y representa adecuadamente los datos experimentales sobre el rango de a_w de 0 a 0,95 para la mayoría de los alimentos. La ecuación del modelo de GAB es:

$$EMC = \frac{m_0 C k a_w}{(1 - k a_w)(1 - k a_w + C k a_w)} \quad (3.5)$$

Donde:

EMC: contenido de humedad de equilibrio.

m_0 : contenido de humedad de la monocapa.

C: constante de calor superficial.

k: constante adicional.

Además, existen modelos empíricos tales como el de Henderson, Chirife, Smith, Oswin y Kuhn. Estos modelos implican dos o tres parámetros de ajuste y suelen emplearse como una verificación complementaria en combinación con los modelos de BET y de GAB. Otro modelo empírico, el modelo de Peleg, es el modelo de cuatro parámetros más simple y se emplea para isothermas de sorción con forma sigmoidea y no sigmoidea (Labuza y Altunakar, 2007). La ecuación que describe al modelo de Peleg es:

$$EMC = k_1 a_w^{n_1} + k_2 a_w^{n_2} \quad (3.6)$$

Donde:

EMC: contenido de humedad de equilibrio.

k_1 , k_2 , n_1 y n_2 son constantes.

Como regla general, puede decirse que es deseable que cualquier modelo permita el mejor ajuste posible de los datos experimentales sobre un rango determinado de actividad de agua usando un mínimo de parámetros ajustables.

3.5.2.5. Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas de las películas comestibles dependen de las interacciones matriz/aditivo y son fuertemente afectadas por condiciones físicas, químicas y temperatura, las cuales influyen en la estabilidad y flexibilidad de las películas (García y col., 2009).

Distintas pruebas estandarizadas empleadas para estudiar películas comerciales también se aplican a películas comestibles (Han y Gennadios, 2005). Los atributos funcionales de las películas comestibles se caracterizan efectuando pruebas como por ejemplo ensayos de impacto superficial, deformación, flexión de tres puntos, relajación de estrés compresiva, punción, tracción, etc. (Greener y Fennema, 1989; Chandra y Sobral, 2000; Chen y Lai, 2008). Entre ellas, los ensayos de punción y tracción efectuados con máquinas universales de ensayos o texturómetros son los más comúnmente practicados.

Para la realización del ensayo de punción se emplean sondas cilíndricas de bordes planos o hemisféricos de diámetros entre 1 y 8 mm y se trabaja comúnmente a velocidad de deformación baja, cercanas a 1 mm/s, según lo reportado por los distintos autores. En el ensayo de punción pueden emplearse tanto muestras de películas rectangulares como circulares y se requiere de un dispositivo que permita ubicar y sostener a la muestra en dirección perpendicular a la del movimiento de la sonda (Banerjee y Chen, 1995; Sobral y col., 2001; Mali y col., 2005; Vanin y col., 2005; Gómez-Guillén y col., 2007; Pinotti y col., 2007; Chen y Lai, 2008; Yang y col., 2010).

El ensayo de tracción se efectúa empleando muestras rectangulares de variadas dimensiones: 254 x 130; 150 x 10; 100 x 15; 100 x 10; 80 x 10 mm, etc. La separación inicial entre mordazas varía mayormente entre 50 y 100 mm y la velocidad de desplazamiento entre 0,2 y 8,3 mm/s (Shellhammer y Krochta, 1997; Cagri y col., 2001; Pérez-Gago y Krochta, 2001; Park y col., 2002; Mei y Zhao, 2003; Talens y Krochta, 2005; Han y col., 2006; Brindle y Krochta, 2008; Talja y col., 2008, etc.). Sin embargo, las características propias de las películas comestibles pueden requerir algunos procedimientos específicos en la preparación de las probetas. Por ejemplo, Banerjee y Chen (1995) trabajaron con muestras con forma de pesa, las cuales obtuvieron cortando 2 cuartos de círculo opuestos en la posición entre la región central de geometría rectangular y los extremos cuadrados. Este procedimiento generó un concentrador de estrés en la muestra el cual aseguró la localización del punto de rotura y evitó errores producidos por rotura en puntos débiles aleatorios. Pérez-Gago y Krochta (2001), Mei y Zhao (2003) y Talens y Krochta (2005) trabajaron con muestras de geometría central rectangular y extremos cuadrados para lograr mayor área de contacto muestra/mordaza y así una mejor sujeción en las mismas. Este procedimiento de obtención de muestras de puede generar imperfecciones que determinen entre otras fallas un corte prematuro. Fairley y col. (1996), Shellhammer y Krochta (1997) y Coughlan y col. (2004) protegieron los extremos de las muestras rectangulares colocándoles cuadrados de cartulina sujetos con cinta doble adhesiva. La cartulina evitó la rotura prematura y previno el deslizamiento de las muestras cuando se sujetaron en las mordazas del equipo.

Curvas fuerza-deformación

A partir de las curvas de fuerza-deformación registradas en el ensayo de punción se obtienen los parámetros fuerza máxima expresada en N (F_{\max}) y deformación máxima expresada en mm (D_{\max}) en el punto de punción (Chen y Lai, 2008) (Figura 3.2).

En el caso del ensayo de tracción, los valores de fuerza (N) se dividen por el área de la sección transversal de la muestra (m^2) para obtener los valores de esfuerzo (MPa). Los datos de deformación (mm) se transforman en valores de deformación expresada como porcentaje respecto de la separación inicial entre mordazas. Luego se construyen las gráficas de esfuerzo-deformación y se obtienen los parámetros esfuerzo a ruptura expresado en MPa (E_{rup}) y deformación a ruptura expresada en porcentaje (D_{rup}).

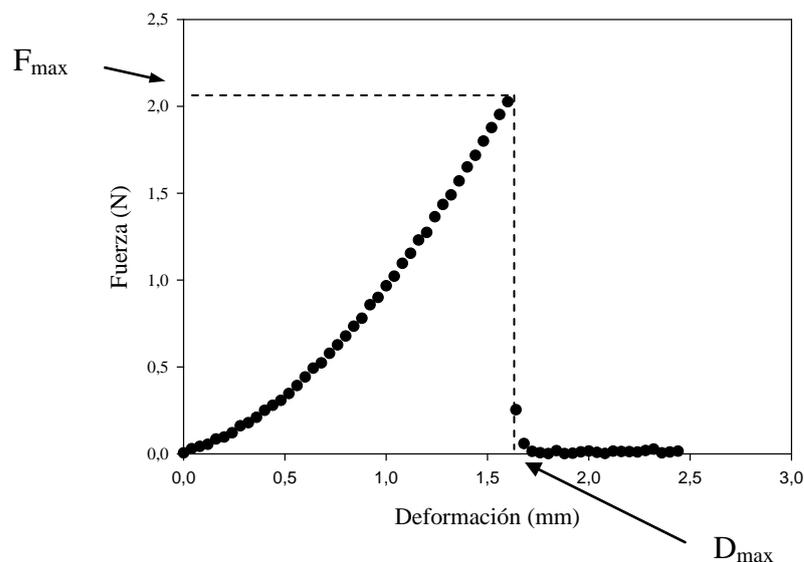


Figura 3.2. Parámetros obtenidos a partir de una curva fuerza-deformación registrada en el ensayo de punción.

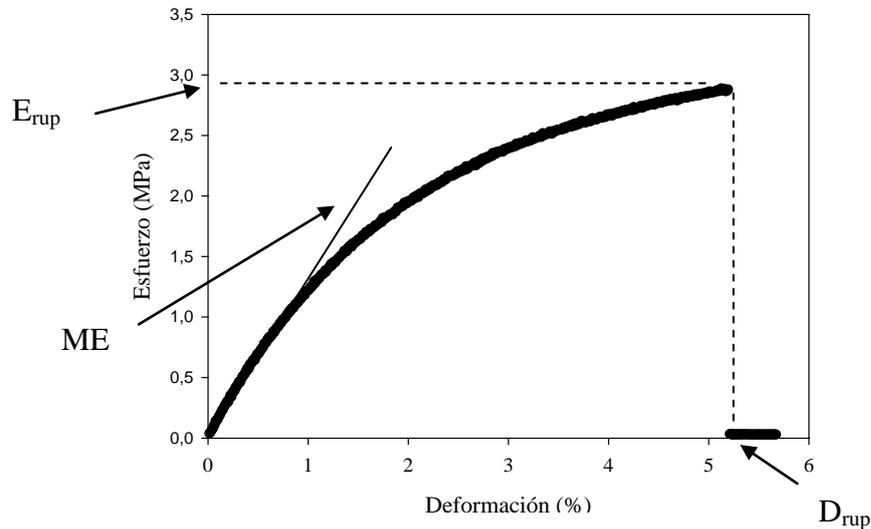


Figura 3.3. Parámetros obtenidos a partir de una curva fuerza-deformación registrada en el ensayo de tracción.

Por último, a partir de la pendiente inicial de dicha curva se obtiene el módulo elástico expresado en MPa (ME) (Shellhammer y Krochta, 1997) (Figura 3.3).

3.5.3. Factores que afectan las propiedades fisicoquímicas de las películas comestibles autoportadas

Las propiedades fisicoquímicas de las películas comestibles tales como permeabilidad al vapor de agua y a los gases, solubilidad en agua o en lípidos, capacidad de sorción de agua, color, transparencia, brillo, respuesta mecánica, entre otras, dependen del tipo de material utilizado (estructura química, polaridad, grado de cristalinidad, densidad, orientación molecular, grado de uniones cruzadas entre

moléculas, peso molecular y polimerización), de las condiciones de formación de la película, del tipo de plastificante, de la naturaleza del disolvente, de la velocidad de evaporación del disolvente, y del espesor de la película, entre otras (Guilbert, y col. 1996; Wu y col., 2002). Por otra parte, las películas comestibles son sensibles a la humedad; es por ello que bajo condiciones de humedad relativa alta su resistencia física es menor que a humedad relativa baja dado que las moléculas de agua absorbidas actúan como plastificante. La temperatura es también una variable importante que afecta las propiedades físicas y mecánicas de las películas comestibles (Guilbert y col., 1996).

3.5.3.1. Efecto de la incorporación de distintos compuestos

Presencia de plastificante

El tipo y la cantidad de plastificante afectan las interacciones entre las moléculas de proteínas resultando en un efecto sobre las propiedades fisicoquímicas de las películas. Los plastificantes se agregan para disminuir la rigidez y aumentar la elongación de las películas. Normalmente, a medida que la concentración del plastificante aumenta, los valores de WVP y elongación se incrementan mientras que la resistencia y la rigidez disminuyen (Krochta, 2002). Con ciertas proteínas la selección del plastificante permite lograr las propiedades mecánicas deseadas con un efecto menor sobre las propiedades de barrera, sin embargo ésta es un área que requiere mayor investigación (Krochta, 2002). En el caso de películas a base de proteínas del suero, Coupland y col. (2000), estudiando el comportamiento de adsorción de humedad de dichas películas, observaron que el contenido de humedad de equilibrio aumentó con el incremento en el contenido de glicerol. Los mismos autores informaron que una

proporción mayor de glicerol favoreció la flexibilidad de las películas evaluada mediante una prueba empírica de plegamiento. Gounga y col. (2007) observaron que el aumento de la proporción de glicerol en películas a base de proteínas del suero determinó un aumento del espesor, de la WVP y de la permeabilidad al O₂. Ozdemir y Floros (2008a) reportaron que el aumento en la concentración de sorbitol ocasionó un aumento de la elasticidad y una disminución del esfuerzo a ruptura y del módulo elástico de películas a base de proteínas del suero. Además, Ozdemir y Floros (2008b) observaron un aumento en la solubilidad de las películas con el incremento del contenido de sorbitol en la formulación.

Presencia de un componente lipídico

Las sustancias hidrofóbicas, debido a su naturaleza apolar, se emplean principalmente como barrera frente a la migración de humedad (Morillón y col., 2002). La polaridad, longitud de la cadena hidrocarbonada, el estado físico, el grado de saturación, las características viscoelásticas y el polimorfismo son algunas características de los lípidos que afectan la WVP de las películas (Kester y Fennema, 1989; Shellhammer y Krochta, 1997). La WVP de las películas a base de proteínas del suero es elevada pero puede mejorarse agregando a la formulación materiales hidrofóbicos como ceras y otros lípidos (Jooyandeh, 2011). Las ceras, debido a su elevada hidrofobicidad a causa de su elevado contenido de alcoholes y alcanos de cadena larga, son las sustancias más eficientes para reducir la permeabilidad al agua. La sustancia más eficiente es la cera de abejas, seguida por glicerol acetilados, alcanos, triglicéridos y ácidos grasos (Debeaufort y Voilley, 2009). Sin embargo, debe

considerarse el efecto del agregado del lípido sobre las propiedades mecánicas de las películas. Cuando la concentración de cera es elevada, el esfuerzo a ruptura y la elongación a ruptura disminuyen y las películas se convierten en frágiles y difíciles de manipular sin provocar su rotura (Shellhammer y Krochta, 1997). En general, las discontinuidades que produce el lípido en la matriz de hidrocoloide constituyen puntos de fractura que reducen la resistencia de la película a la tracción (Shellhammer y Krochta, 1997; Pérez-Gago y Krocha, 2001). Kim y Ustunol (2001) informaron que el agregado de un compuesto lipídico redujo la solubilidad de películas a base de proteínas del suero. Además del efecto sobre las propiedades anteriormente comentadas, también debe analizarse el impacto sobre el aspecto de las películas (transparencia, color y brillo) dado que el agregado del componente lipídico puede conferir cierta opacidad a las mismas (Jooyandeh, 2011).

3.5.3.2. Efecto de las condiciones de obtención de las películas

Importancia del tratamiento térmico de la solución en la preparación de películas comestibles a base de proteínas del suero

Las películas a base de proteínas del suero nativas son cohesivas pero la matriz estructural y por consiguiente las propiedades de barrera y mecánicas de las mismas pueden mejorarse a través de la desnaturalización térmica o del entrecruzamiento de las cadenas de proteínas del suero (Pérez-Gago y col., 1999). Así, la mayor parte de la investigación sobre películas comestibles a base de proteínas del suero involucra la desnaturalización térmica de dichas proteínas en un solvente acuoso (Dangaran y Krochta, 2008), constituyendo el trabajo efectuado por McHugh y col. (1994) uno de

los primeros antecedentes al respecto. Dichos autores estudiaron el procedimiento de preparación de películas a base de proteínas del suero y hallaron que el tratamiento térmico era necesario para la formación de una película intacta.

Como se mencionó anteriormente las proteínas del suero incluyen una serie de proteínas individuales siendo la β -lactoglobulina la más abundante e importante para la formación de películas. La β -lactoglobulina es una proteína de 18,3 kDa compuesta por aproximadamente 160 aminoácidos. Dentro de su secuencia, el grupo sulfidrilo del residuo de cisteína 121 y dos enlaces disulfuro entre los residuos de cisteínas 66-160 y 106-119 son especialmente importantes (Dangaran y Krochta, 2008). La β -lactoglobulina nativa posee estructura globular con los grupos hidrofóbicos y el residuo sulfidrilo 121 localizados en el interior de la molécula. La desnaturalización térmica de ésta proteína expone el residuo sulfidrilo 121, con lo cual se facilitarían las reacciones de intercambio tiol-disulfuro que posibilitan la formación de dímeros y polímeros unidos por enlaces disulfuro (Pérez-Gago y Krochta, 2002). Sin embargo, la polimerización de la β -lactoglobulina no es la única reacción química involucrada en la formación de la matriz de las películas de proteínas del suero. También ocurre la agregación no covalente a través de interacciones hidrofóbicas, iónicas y de Van der Waals entre grupos expuestos a consecuencia del calentamiento de las proteínas (Pérez-Gago y Krochta, 2002).

Proceso de secado

Alcántara y col. (1998) estudiaron el efecto de la velocidad de secado sobre las propiedades fisicoquímicas de películas a base de aislado de proteínas del suero

trabajando bajo condiciones de secado lento (21 °C; 50% HR) y rápido (95 °C; 30% HR). Las películas obtenidas bajo secado rápido presentaron burbujas cuando se retiraron de la superficie de formación. Posiblemente, se formaron burbujas de aire o vapor de agua por debajo de la superficie las cuales fueron incapaces de escapar a través de la película en formación sometida a secado rápido. Además, las películas formadas a 95 °C y 30% HR tuvieron una coloración amarillenta y un suave aroma a quemado, en comparación con las obtenidas a 21 °C y 50% HR que fueron transparentes, incoloras e inodoras. La velocidad de secado alta propició la formación de películas más rígidas y delgadas y de menor WVP.

Pérez-Gago y Krochta (2000) obtuvieron películas a base de proteínas del suero efectuando el secado de las soluciones a 25, 40 y 80 °C y 40% HR y estudiaron el efecto de la temperatura de secado sobre la WVP y las propiedades mecánicas de las películas. Dichos autores observaron que las condiciones del proceso de secado afectaron la apariencia final y la WVP de las películas. En el caso de la WVP, el incremento en la temperatura de secado permitió obtener películas con menor WVP probablemente a causa del establecimiento de una estructura polimérica más compacta la cual retrasó la difusión del vapor de agua a través de la película. Por otra parte, las propiedades mecánicas de las películas no se vieron afectadas por el cambio en la temperatura de secado.

Los trabajos anteriormente comentados se refieren al estudio del efecto de temperaturas de secado superiores a la ambiente sobre las propiedades de las películas comestibles. Sin embargo, no se encontraron en la bibliografía estudios sobre el efecto del secado a bajas temperaturas.

Debeaufort y Voilley (1995) estudiaron el efecto de la velocidad de secado sobre las propiedades de películas emulsionadas a base de hidroxipropil metilcelulosa (HPMC) y observaron que la temperatura de secado de las emulsiones afectó tanto a la cohesión de la matriz de hidrocoloide, como a la morfología del lípido y a su distribución en la película resultante (Figura 3.4). En el caso de un proceso de secado largo (25 °C; 40% HR; 0 m/s velocidad de aire), durante el enfriamiento ocurrió la gelificación del hidrocoloide formador de la película mediante interacciones entre las cadenas del polímero. La organización de la matriz incrementó la viscosidad y así se redujeron la movilidad y la coalescencia de los glóbulos lipídicos. El tamaño pequeño de las gotas y su distribución incrementaron la hidrofobicidad aparente y la tortuosidad de la película y así la distancia recorrida por las moléculas de agua. Además, la distribución homogénea de los glóbulos lipídicos pequeños incrementó la deformabilidad y disminuyó la fragilidad de la película en un 30-50%. Por lo tanto, las condiciones que determinaron un secado prolongado permitieron obtener películas con mejores propiedades de barrera y mecánicas. A velocidades de secado mayores (25 °C; 40% HR; 2 m/s velocidad de aire), la rápida migración del solvente dentro de la matriz de la película limitó las uniones entre cadenas del hidrocoloide determinando la migración de los glóbulos lipídicos hacia la superficie de evaporación donde tendieron a agregarse. Un tiempo de secado similar se registró a 45 °C; 15% HR y 0 m/s velocidad de aire, pero la fracción de parafina en estado líquido fue mayor a la temperatura más alta, lo cual facilitó la coalescencia de los glóbulos lipídicos. La presencia de agregados dejó áreas sin sustancia hidrofóbica y por lo tanto sin barrera frente a la difusión de agua. Estos glóbulos grandes o agregados produjeron una película con estructura

heterogénea y las discontinuidades en la matriz incrementaron la fragilidad debido a la generación de puntos preferenciales de rotura. Cuando el tiempo de secado fue muy corto (45 °C; 10% HR; 2 m/s velocidad de aire), la elevada proporción de glóbulos lipídicos en estado líquido y la rápida migración de solvente hacia la superficie de evaporación produjeron el cremado y coalescencia resultando en una estructura de

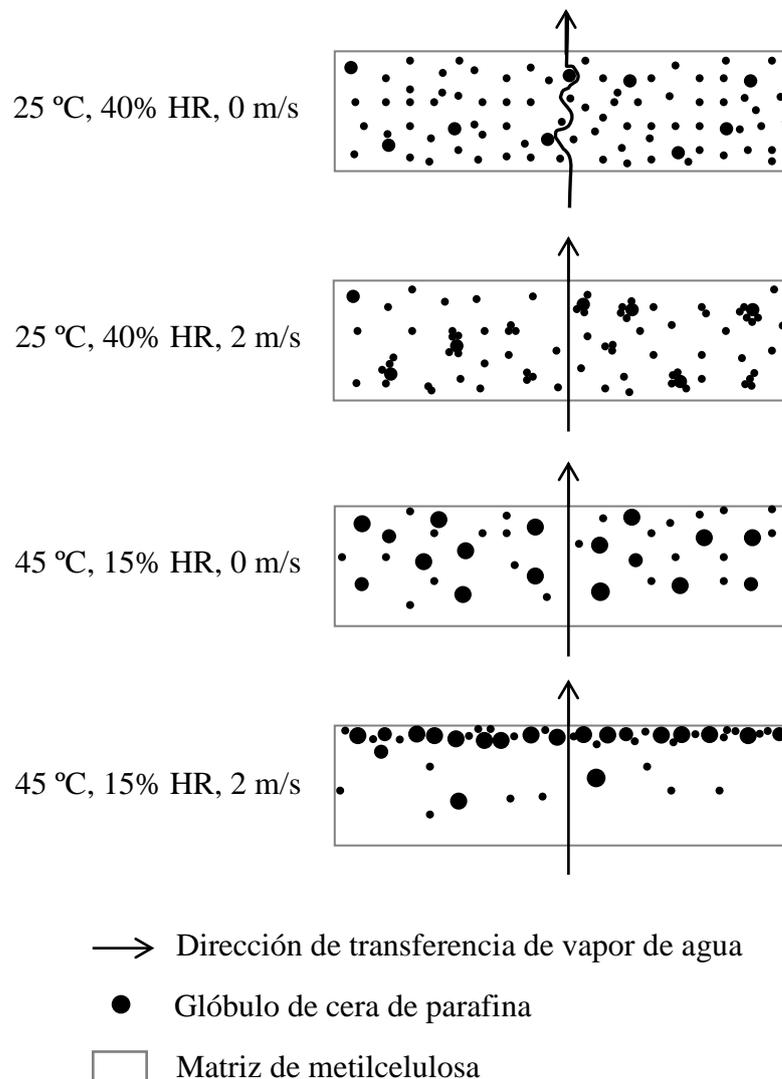


Figura 3.4. Estructuras esquematizadas de películas emulsionadas obtenidas bajo distintas condiciones de secado (Adaptado de Debeaufort y Voilley, 1995).

bicapa aparente. Esta clase de películas ofrecen un beneficio sustancial como una barrera frente a la migración de humedad pero su pobre resistencia mecánica determina que sea necesario aplicarlos como recubrimiento sobre alimentos sólidos.

3.5.3.3. Efecto de las condiciones de almacenamiento de las películas

Cuando las películas comestibles se exponen durante el almacenamiento a ciertas condiciones ambientales, es posible observar cambios químicos y físicos que pueden alterar las propiedades de las mismas. Entre los cambios químicos se pueden citar la oxidación de los grupos sulfhidrilos de las proteínas que pueden causar la degradación de las cadenas poliméricas de proteínas. Los cambios físicos incluyen la recristalización de los polímeros y aquellas alteraciones debidas a la migración de compuestos de bajo peso molecular tales como los plastificantes empleados en la formulación (Osés y col., 2009).

Kamper y Fennema (1985) observaron que en películas bicapa de HPMC y ácidos palmítico y esteárico un descenso en la temperatura de 5 a -19 °C aumentó la WVP probablemente por la rigidez y microfractura de la película a bajas temperaturas. El incremento de la WVP al reducir la temperatura de almacenamiento también se ha observado en distintas películas comestibles a base de lípidos (Landman y col., 1960; Biquet y Labuza, 1988). Además, la temperatura modifica la capacidad de las películas para absorber agua lo que afecta las propiedades mecánicas y de barrera de las mismas. Así por ejemplo, Noguchi (1981) observó que en películas a base de polisacárido un descenso de la temperatura de 20 a 0 °C duplicaba la hidratación de las mismas.

La humedad relativa durante el almacenamiento afecta las propiedades fisicoquímicas de las películas hidrofílicas (McHugh y col., 1993). El agua actúa

plastificando los polímeros. Por lo tanto, las humedades relativas altas durante el almacenamiento incrementan la flexibilidad y permeabilidad al vapor de agua de la película.

3.6. Empleo de recubrimientos comestibles para prolongar la vida útil de alimentos

La aplicación de recubrimientos comestibles constituye una alternativa para prolongar la vida útil de distintos productos sometidos a almacenamiento refrigerado y congelado. A modo de ejemplo se resumen algunos antecedentes hallados en la bibliografía referidos a la aplicación de recubrimientos comestibles a frutas y hortalizas almacenadas refrigeradas o a temperatura ambiente.

Pérez-Gago y col. (2003) aplicaron recubrimientos comestibles a base de WPI y cera de abejas para disminuir el cambio de color de manzanas frescas cortadas. Ayranci y Tunc (2004) emplearon recubrimientos a base de metilcelulosa y polietilenglicol para reducir la pérdida de agua y de vitamina C de damascos y pimientos verdes. Posteriormente, Pérez-Gago y col. (2006) estudiaron la aplicación de distintos antioxidantes solos o en combinación con un recubrimiento a base de WPC y cera de abejas a manzanas frescas cortadas y mostraron que la incorporación del antioxidante en la cubierta redujo el pardeamiento en comparación con la aplicación del antioxidante solo. Recubrimientos comestibles a base de almidón y quitosano permitieron controlar el crecimiento microbiano en zanahorias mínimamente procesadas (Durango y col., 2006). Tzoumaki y col. (2009) mostraron que la aplicación de cuatro formulaciones de cubierta distintas a base de carboximetilcelulosa y WPI, solos o en combinación con ácido esteárico, pululano y ésteres ácido graso/sacarosa tuvieron un impacto beneficioso

sobre la calidad de espárragos refrigerados, disminuyendo la pérdida de humedad, reduciendo el ablandamiento y retardando el desarrollo de color púrpura.

Fuera del área de frutas y hortalizas, existen antecedentes de aplicación de recubrimientos comestibles a carne vacuna almacenada en refrigeración (Lacroix y col., 2004), a hamburguesas de cerdo (Kang y col., 2007), a besugo refrigerado (Song y col., 2011), etc.

Los recubrimientos comestibles también fueron eficientes para prolongar la vida útil de productos sometidos a almacenamiento congelado. Un recubrimiento comestible compuesto lípido/celulosa limitó la transferencia interna de agua cuando se ubicó entre componentes de baja y alta humedad en un sistema alimenticio modelo (Kester y Fennema, 1989). Villegas y col. (1999) reportaron que recubrimientos a base de gelatina mejoraron la estabilidad oxidativa y color de piezas de jamón cocido y tocino. Fan y col. (2009) mostraron que recubrimientos comestibles a base de quitosano aplicados sobre el pescado carpa plateada fueron efectivos en retener sus características de calidad y prolongar su vida útil. Además, recubrimientos a base de quitosano con el agregado de aceite de pescado redujeron el exudado de filetes de bacalao durante la descongelación (Duan y col. 2010).

3.6.1. Aplicación de recubrimientos comestibles a frutillas

Distintos autores han aplicado recubrimientos comestibles con la finalidad de prolongar la vida útil de frutillas refrigeradas. García y col. (1998) trabajando con recubrimientos de almidón de bajo y alto contenido de amilosa, informaron una disminución en el número de frutas infectadas, una reducción en la pérdida de peso y un

mantenimiento de la firmeza de las frutas cubiertas, dependiendo los últimos dos parámetros del contenido de amilosa del almidón empleado para la formación del recubrimiento. Han y col. (2004) aplicaron tres tipos de recubrimientos: quitosano, quitosano con el agregado de calcio y quitosano con agregado de vitamina E. Los recubrimientos disminuyeron significativamente el decaimiento y la pérdida de peso; retrasaron los cambios de color, pH y acidez titulable y aumentaron el contenido de calcio y vitamina E de las frutillas. Según los autores el agregado de elevadas concentraciones de calcio o vitamina E a los recubrimientos de quitosano no alteró sus características antifúngicas ni sus propiedades de barrera y constituyó un método eficiente para aumentar el valor nutricional de las frutillas. Del-Valle y col. (2005) prepararon distintas formulaciones a base de mucílago de cactus y analizaron su efectividad para incrementar la vida útil de frutillas refrigeradas. Las muestras recubiertas mostraron mayor firmeza que las controles durante el período de almacenamiento estudiado. El color y el sabor no fueron alterados por el recubrimiento y en un análisis sensorial, los jueces prefirieron a las muestras recubiertas. Tanada-Palmu y Grosso (2005) estudiaron el efecto de diferentes formulaciones a base de gluten y hallaron que los recubrimientos bicapa de gluten de trigo y lípidos (cera de abejas, ácido esteárico y ácido palmítico) tuvieron un efecto significativo sobre la retención de la firmeza, redujeron la pérdida de peso y mostraron mejores análisis fisicoquímicos en comparación con las frutas control. En cuanto a la evaluación sensorial, los recubrimientos mantuvieron la calidad visual de las frutillas durante el tiempo de almacenamiento analizado. Sin embargo, la apariencia y el sabor de las frutillas recubiertas fueron inaceptables. Vargas y col. (2006) trataron frutillas con

recubrimientos comestibles a base de quitosano y ácido oleico y observaron que el tratamiento no tuvo efecto significativo sobre la acidez, pH y contenido de sólidos solubles pero hizo más lentos los cambios en las propiedades mecánicas y modificó levemente la velocidad de respiración de las frutas. El análisis sensorial mostró que la aplicación del recubrimiento disminuyó significativamente el aroma y el *flavour*, especialmente cuando la proporción ácido oleico/quitosano en la formulación fue elevada. Ribeiro y col. (2007) optimizaron la composición de recubrimientos a base de polisacáridos (almidón, carragenina y quitosano) para luego aplicarlos a frutillas en escala industrial con la finalidad de retardar su senescencia. Los recubrimientos con carragenina y cloruro de calcio, y quitosano y calcio fueron efectivos en disminuir la pérdida de firmeza y la pérdida de peso de las frutillas. También observaron una velocidad de crecimiento microbiano mínima en las frutillas recubiertas con quitosano y calcio. Según los autores, los resultados menos atractivos obtenidos para los recubrimientos a base de almidón podrían deberse a que éstos recubrimientos poseen el mayor valor de permeabilidad al O₂ entre los distintos recubrimientos estudiados. Vu y col. (2011) aplicaron recubrimientos a base de quitosano funcionalizado por acetilación con cloruro de palmitoílo. Este procedimiento se efectuó para incrementar su hidrofobicidad y asegurar la liberación controlada de compuestos bioactivos incluidos en la formulación (limoneno y aceites esenciales de orégano, tomillo rojo, menta y limoncillo) y para mejorar la estabilidad y adhesión a la fruta. Los autores observaron un efecto positivo sobre la extensión de la vida útil de las frutillas durante almacenamiento refrigerado.

Como puede observarse existen numerosas publicaciones referidas a la aplicación de recubrimientos comestibles a frutillas sometidas a almacenamiento refrigerado. Por el contrario, el único antecedente de aplicación de recubrimientos comestibles a frutas congeladas lo constituye el trabajo efectuado por Han y col. (2004) quienes, como se mencionó anteriormente, aplicaron recubrimientos comestibles a base de quitosano con el agregado de calcio y vitamina E como tratamiento previo a la congelación de las frutillas en freezer con túnel de aire a -23 °C. Los resultados mostraron que la aplicación de los recubrimientos comestibles disminuyó significativamente la pérdida de agua luego de la descongelación de las frutillas, indicando este hecho que los recubrimientos formados sobre la superficie de las frutillas pudieron soportar el proceso de congelación y almacenamiento, ayudando a retener el líquido y previniendo la migración de humedad desde la fruta a su entorno durante la congelación y la descongelación. Los recubrimientos también contribuyeron en mejorar la firmeza de las frutillas sometidas al proceso de descongelación, probando la hipótesis de los autores que los recubrimientos comestibles, al disminuir la migración de humedad, pueden controlar la integridad y textura de productos descongelados.

3.6.2. Método de aplicación de los recubrimientos comestibles

Para ser efectivos, los recubrimientos deben formar una capa continua en la superficie del fruto. La tensión superficial y la viscosidad de las emulsiones que forman el recubrimiento determinan la capacidad de estos de impregnar al fruto en la etapa de aplicación y, por tanto, su capacidad para taponar poros y formar una capa continua en la superficie del mismo (Hershko y Nussinovitch, 1998). Una distribución homogénea

del recubrimiento se consigue mediante una aplicación y secado adecuados. Existen distintas técnicas de aplicación de recubrimientos, entre las más comúnmente empleadas se pueden citar: rociado, pincelado, inmersión tradicional o inmersión asistida por vacío.

El rociado, en contraposición con la inmersión, es un método útil para la aplicación de soluciones formadoras de recubrimientos de baja viscosidad y permite obtener recubrimientos más delgados y uniformes (García y col., 2009). El rociado es más conveniente para aplicar un recubrimiento a solo un lado del alimento. Esto es deseable cuando se necesita protección sólo sobre una superficie, como por ejemplo en la corteza de una pizza expuesta a una salsa húmeda. El rociado también puede emplearse para aplicar un segundo recubrimiento, tal como una solución catiónica necesaria para el entrecruzamiento de recubrimientos de alginato o pectina (Greener y Fennema, 1994). La distribución con pincel directamente sobre la superficie de productos como por ejemplo carnes, puede también emplearse para aplicar recubrimientos comestibles (Ustunol, 2009).

La inmersión consiste en sumergir el alimento en la solución formadora de películas durante un determinado tiempo y posteriormente se efectúa una etapa de drenado para eliminar el material en exceso. Éste método es adecuado para obtener un recubrimiento uniforme sobre una superficie irregular. Se ha empleado para aplicar recubrimientos a carnes, pescado, aves, frutas y vegetales (Greener y Fennema, 1994; Han y col., 2004; Del-Valle y col., 2005; Vargas y col., 2006; Pérez-Gago y col., 2003, 2005, 2006). Si bien la inmersión simple del producto en la solución formadora de recubrimiento es un método tradicional de aplicación, dependiendo de la viscosidad de

la solución y de la extensibilidad de la misma sobre la superficie de la muestra, la retención de la solución para formar un recubrimiento puede ser baja. La aplicación de la solución mediante impregnación al vacío podría ser una alternativa para mejorar la retención de la misma y para formar un recubrimiento de mayor espesor y más efectivo. La impregnación al vacío de un producto poroso consiste en intercambiar el gas o líquido interno ocluido por una fase líquida externa, debido a la acción de mecanismos hidrodinámicos promovidos por cambios de presión (Fito y Chiralt, 2000). Esta técnica se ha empleado para el agregado de crioprotectores durante deshidratación osmótica seguida de congelación de frutillas y kiwis (Talens y col., 2001) y también se ha aplicado exitosamente para incorporar sales de calcio a frutas mínimamente procesadas como frutillas y mangos (Castelló y col., 2005). En referencia a su empleo como método de aplicación de recubrimientos comestibles, Vargas y col. (2009b) emplearon recubrimientos comestibles a base de quitosano para preservar la calidad de zanahorias mínimamente procesadas y mostraron que la aplicación de un pulso de vacío mejoró significativamente la resistencia a la transmisión de vapor de agua y mantuvo la resistencia inicial a la fractura durante todo el período de almacenamiento en frío, sin afectar la velocidad de respiración de las muestras.

3.6.3. Proceso de congelación

El proceso de congelación incluye la congelación, el almacenamiento del producto congelado y la descongelación (Galletto, 2006). La congelación de un alimento comienza cuando es colocado en contacto con un medio frío, el cual puede ser sólido (por ejemplo, placas intercambiadoras de calor a -30 o -40 °C, dióxido de carbono

sólido (hielo seco) a $-78,5\text{ }^{\circ}\text{C}$), líquido (inmersión en mezclas de enfriamiento o fluidos criogénicos tales como nitrógeno líquido a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$) o gaseoso (una corriente de aire, nitrógeno gaseoso o dióxido de carbono) (Nesvadba, 2008). Para propósitos prácticos se considera que la congelación de un producto es completa cuando la mayoría del agua congelable en su centro térmico se ha convertido en hielo. Sin embargo, es recomendable congelar el producto hasta una temperatura de equilibrio de $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ o inferior (Zaritzky, 2000).

De acuerdo al proceso de congelación, las velocidades de congelación pueden variar entre 0,2 y 100 cm/h; entre 0,2 y 0,5 cm/h se habla de congelación lenta (congelación en cámara fría), entre 0,5 y 3 cm/h congelación rápida (congelación rápida individual de productos de tamaño pequeño en lecho fluidizado), y entre 10 y 100 cm/h corresponde a una congelación ultra-rápida por rociado o inmersión en fluidos criogénicos tales como nitrógeno líquido y dióxido de carbono (Zaritzky, 2000).

Muchos autores han concluido que la integridad estructural del tejido vegetal se preserva mejor cuando dicho producto es sometido a congelación trabajando con altas velocidades. Sin embargo la congelación ultra-rápida puede llevar a daño tisular irreversible debido a la ocurrencia del fenómeno de rotura por frío o *freeze cracking* (Van Buggenhout y col., 2008). Dicho fenómeno se debe a que la corteza superficial formada durante la congelación puede prevenir la expansión de volumen resultante de la transición de fase de la porción interna del material no congelado. El pre-enfriamiento del producto previene la rotura por frío dado que reduce la diferencia entre la temperatura del producto y la del medio de congelación (Zaritzky, 2000).

Existen métodos de congelación combinados, como la congelación criomecánica, que son especialmente recomendados para productos delicados, que no tienen buena resistencia mecánica (frambuesas, frutillas, camarones, mejillones pelados) u otros productos cuya apariencia cambia durante la congelación (escalopes de pollo, calamares pelados o cocidos). La congelación criomecánica consiste en la combinación de dos sistemas: un freezer criogénico (usando N₂ líquido o CO₂) combinado con un freezer mecánico (con aire frío como fluido de transferencia de calor) (Agnelli y Mascheroni, 2002). Los mismos autores desarrollaron en un trabajo previo un modelo para la congelación criomecánica el cual predijo que unos pocos segundos de inmersión en el líquido criogénico son suficientes para reducir el tiempo de congelación y para formar una corteza superficial protectora (Agnelli y Mascheroni, 2001).

Otros autores que efectuaron congelación rápida empleando nitrógeno líquido partieron de muestras colocadas en viales estériles o en envases de polietileno (Ali Sahari y col., 2004; Modise, 2008; Oszmianski y col., 2009). Posiblemente, el envase de polietileno fue una alternativa para mitigar el daño por frío de las muestras.

Durante el almacenamiento del producto congelado también se producen transformaciones físicas y químicas. Los cristales formados no son estables sino que sufren un proceso de recristalización. Las reacciones enzimáticas disminuyen su velocidad pero no se inhiben en forma completa durante el almacenamiento del producto congelado (Verdini, 2002).

La descongelación generalmente ocurre más lentamente que la congelación, y a medida que transcurre los alimentos son objeto de daño químico, cambios físicos, y daños ocasionados por la acción de microorganismos. Así, la descongelación rápida a

bajas temperaturas para evitar el aumento de temperatura y la deshidratación excesiva del producto es deseable para asegurar la calidad del alimento (Li y Sun, 2002b).

3.6.4. Propiedades fisicoquímicas de las frutillas

El efecto del proceso de congelación y de la aplicación de distintos tratamientos previos a dicho proceso sobre la calidad de frutillas sometidas al proceso de congelación se evalúa determinando en las frutillas descongeladas propiedades fisicoquímicas como la pérdida de peso, contenido de sólidos solubles, acidez titulable, color superficial, firmeza, etc. (Suutarinen y col., 2002a; Han y col., 2004; Ali Sahari y col., 2004; Ngo y col., 2007; Galetto y col., 2010; Velickova y col., 2011).

También se suele analizar mediante microscopía óptica o electrónica la alteración que ocasiona el proceso de congelación sobre la forma, el tamaño y la integridad de las células (Suutarinen y col., 2002a; Delgado y Rubiolo, 2005; Van Buggenhout y col., 2008; Reno y col., 2011).

Las determinaciones anteriores pueden complementarse con una evaluación sensorial de las frutas a fin de establecer la posible alteración de las propiedades organolépticas de las mismas luego del proceso de congelación en vista de la aceptabilidad por parte del consumidor (Han y col., 2005).

3.6.4.1. Pérdida de peso

La calidad de los alimentos congelados está fuertemente relacionada con las condiciones de los procesos de congelación y descongelación (Li y Sun, 2002a).

Generalmente se acepta que velocidades de congelación altas inducen la producción de un número grande de cristales de hielo pequeños y así se logra una mejor retención de la calidad del producto en comparación con cuando se trabaja a velocidades de congelación bajas (Delgado y Rubiolo, 2005). Un fenómeno comúnmente observado en frutas sometidas al proceso de congelación es la presencia de exudado líquido. Esta pérdida de agua durante la descongelación conduce a la pérdida indeseable de nutrientes, afecta la textura y la jugosidad y modifica la apariencia del producto (Zaritzky, 2000). La liberación de exudado se debe al hecho de que el tejido al descongelarse puede no re-absorber completamente los cristales de hielo fundidos hasta alcanzar el contenido de agua que tenía con anterioridad a la congelación.

Entre sus muchas aplicaciones, los recubrimientos comestibles se han propuesto como barrera para minimizar la pérdida de humedad en alimentos congelados reduciendo la velocidad de transferencia de humedad entre el alimento y el ambiente externo que lo rodea, retardando así la deshidratación de la superficie del producto (George, 2006).

De acuerdo a lo comentado anteriormente, la determinación de la pérdida de peso constituye una herramienta para evaluar el funcionamiento del recubrimiento, analizando su eficiencia para prevenir la pérdida de humedad del producto.

3.6.4.2. Firmeza

Las frutas sufren deterioro de su calidad no sólo durante la congelación sino también durante el almacenamiento congelado y la descongelación, debido a la degradación de la textura, al colapso estructural y a la pérdida de peso (Galletto y col.,

2010). Distintos autores midieron la firmeza de frutillas congeladas/descongeladas para evaluar la alteración de la textura de dichas frutas como consecuencia del proceso de congelación (Main y col., 1986; Suutarinen y col., 2002a; Galetto y col., 2010; Velickova y col., 2011).

La firmeza es la consistencia de los frutos, determinada tradicionalmente como la fuerza necesaria para deformar la superficie de un fruto con el dedo pulgar. La firmeza es un atributo textural importante en frutas y hortalizas que se utiliza en relación al establecimiento del momento óptimo de la recolección, a la evaluación de la calidad durante el almacenamiento, a la comercialización en fresco o al procesado inicial de los productos. Esta propiedad puede determinarse a través de distintas magnitudes, como la resistencia a rotura, el módulo de elasticidad, la indeformabilidad o cualquier otra magnitud proporcional a las anteriores, aunque el método normalizado de determinación de la firmeza es a través de un ensayo de penetración de tipo Magness-Taylor (Barreiro y Ruiz-Altisent, 1996). Existen varias adaptaciones del medidor Magness-Taylor que difieren en el tamaño y forma del instrumento, en el uso manual o mecánico, y en el tipo de lectura analógica o digital.

La Figura 3.5 muestra esquemáticamente lo que ocurre en el punto de penetración del alimento durante el ensayo. El alimento bajo la sonda es sometido a una compresión, la cual es proporcional al área de la sonda, y a un corte en torno al borde de la sonda, el cual es proporcional al perímetro de la misma (Bourne, 2002). Debido a la curvatura de las sondas Magness-Taylor y a que la firmeza en la penetración es una combinación de corte y compresión en proporciones variables, no es posible convertir mediciones hechas con una sonda Magness-Taylor a otro tamaño de sonda Magness-

Taylor, o convertir a o desde valores para sondas de otras geometrías (Abbott y Harker, 2002). Por lo tanto, resulta evidente la necesidad de aclarar qué tipo de sonda se utiliza en las determinaciones.

Para la medición de la firmeza de frutillas se han empleado tanto sondas planas (con un diámetro entre 5 y 8 mm) (Alonso y col., 1995; Civello y col., 1997; Lara y col., 2004; Vicente y col., 2005) como sondas de punta redondeada (con un diámetro entre 3 y 16 mm) (Nunes y col., 1995; Vicente y col., 2002). La Comisión de las Comunidades Europeas ha recomendado que el ensayo debería efectuarse a una profundidad de 8 mm y a velocidades entre 50 y 250 mm/min. Dependiendo de la uniformidad del lote, se sugiere emplear una muestra aleatoria de 20 a 30 frutas (Abbott y Harker, 2002).

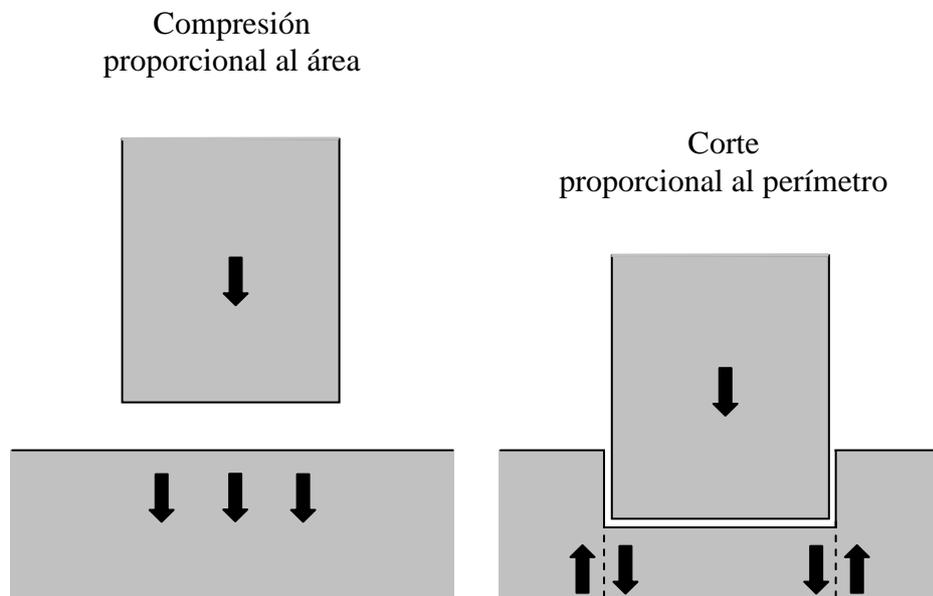


Figura 3.5. Representación esquemática del ensayo de penetración (Adaptada de Bourne, 2002).

A partir del ensayo de penetración pueden obtenerse cuatro parámetros: la firmeza (o dureza) como la fuerza máxima de la curva fuerza-deformación expresada en N (F_{\max}); la deformación como la distancia necesaria para alcanzar la fuerza máxima de la curva fuerza-deformación expresada en mm (D_{\max}); la pendiente de la curva fuerza-deformación expresada en N mm^{-1} (P); y el trabajo máximo, como el trabajo necesario para alcanzar la fuerza máxima expresada en N mm (W_{\max}) (Mehinagic y col., 2003, 2004). En la Figura 3.6 se muestran los parámetros anteriormente nombrados sobre una curva de fuerza-deformación característica.

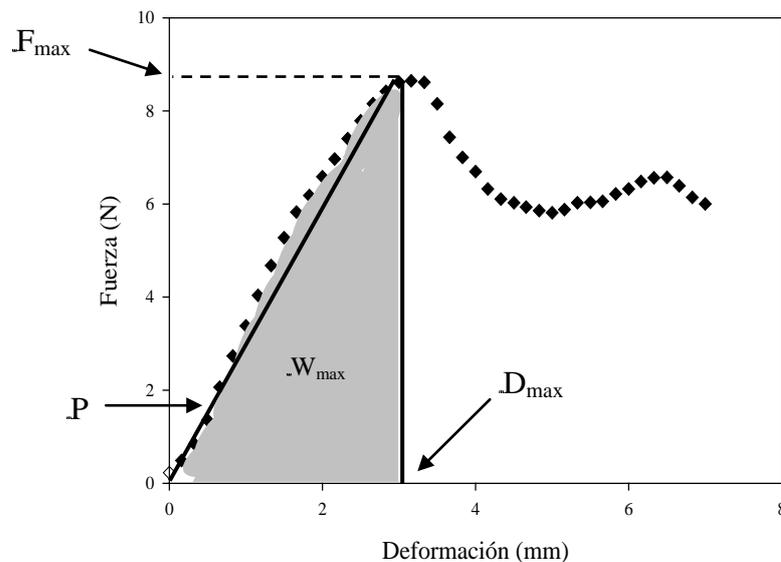


Figura 3.6. Parámetros obtenidos a partir de una curva fuerza/deformación en el ensayo de penetración.

3.6.4.3. Características estructurales evaluadas mediante microscopía óptica

Los tejidos de frutas y vegetales, de estructura celular semirrígida, exhiben menor resistencia a la expansión de volumen de los cristales de hielo y así son más propensos a sufrir daños irreversibles durante la congelación. Estos daños resultarían en la pérdida de funcionalidad de la membrana celular, en la destrucción de sistemas metabólicos, en la desnaturalización de proteínas e inactivación de enzimas, en la transferencia permanente del agua intracelular al espacio extracelular, y en la extensa ruptura celular. Las propiedades y turgencia relacionadas con el estado fresco del producto también se alterarían luego de la congelación, dado que son altamente dependientes del arreglo estructural y de la composición química de la pared celular y de los espacios extracelulares, donde las sustancias pécticas son los constituyentes primarios (Sun y Li, 2003).

Las técnicas de microscopía óptica han sido útiles para estudiar los cambios microestructurales que ocurren durante la maduración, el almacenamiento refrigerado y congelado, los distintos pre-tratamientos, el secado y la congelación de tejidos vegetales (Aguilera y Stanley, 1999; Van Buggenhout y col., 2008).

Suutarinen y col. (2002a) emplearon microscopía óptica para notar la presunta estabilización de la estructura de muestras de frutillas tratadas con calcio y PME como tratamiento previo a la congelación. Van Buggenhout y col. (2008) mostraron mediante micrografías ópticas de secciones teñidas con azul de toluidina el impacto de diferentes procesos de congelación sobre la estructura del tejido de frutilla, notando la diferencia entre células intactas, isodiamétricas y convexas en las muestras no congeladas, y

células dañadas, irregulares y distorsionadas en las muestras congeladas. La coloración con azul de toluidina se ha empleado para examinar la integridad de las paredes celulares y para el estudio de rasgos anatómicos generales de distintos productos (Polito y col., 2002; Cheyne y col., 2005; Tydeman y col., 2010).

3.6.4.4. Color

El color es la característica de calidad más importante de las frutas dado que es el primer atributo percibido por el consumidor y es la base para juzgar la aceptación del producto. Los cambios de color más importantes en las frutas están relacionados con cambios químicos y bioquímicos y con mecanismos fisicoquímicos como la degradación de cloroplastos y cromoplastos, con los cambios en pigmentos naturales (clorofila, carotenoides y antocianinas) y con el desarrollo de pardeamiento enzimático (De Ancos y col., 2006).

El daño mecánico (cristales de hielo y expansión de volumen) causado por el proceso de congelación puede desintegrar la frágil membrana de cloroplastos y cromoplastos, liberando clorofila y carotenoides y facilitando su degradación enzimática y oxidativa. También, la expansión de volumen incrementa la pérdida de antocianinas por lixiviación debido a la destrucción de las vacuolas celulares (De Ancos y col., 2006).

La determinación de color puede llevarse a cabo por inspección visual o por medio de instrumentos. Los colorímetros disponibles comercialmente miden solo unos pocos centímetros cuadrados y así sus mediciones no son muy representativas en el caso de materiales heterogéneos como la mayoría de los alimentos (León y col., 2006). En

muchos laboratorios de investigación se han desarrollado sistemas de visualización computarizados para la medición de color de distintos productos, desde frutas y vegetales hasta mariscos y alimentos formulados como quesos, productos panificados, pastas, discos de arroz, etc. (Yam y Papadakis, 2004). Dichos sistemas, en comparación con un colorímetro convencional, tienen la ventaja adicional de que permiten analizar la superficie entera del alimento y así cuantificar las características y defectos superficiales (León y col., 2006).

Dado que el análisis de color comienza con la toma de la fotografía resulta imprescindible que la misma refleje fielmente el aspecto y color de la muestra original. Para tal fin se emplean herramientas, llamadas tarjetas de color, que permiten el control preciso de un proceso fotográfico o de un dispositivo de captura o salida digital (como pueden ser una cámara o un monitor, respectivamente). En fotografía digital las tarjetas de color permiten generar un perfil de color o perfil ICC. Un perfil de color es un archivo, creado con un programa especial, que describe la forma de interpretar un color por parte de un dispositivo digital y que permite asegurar que la reproducción de los colores de un dispositivo sea lo más fiel al original (La carta de color it8, 2008).

Para definir y representar el color es necesario seleccionar un espacio de color, el cual es una representación matemática de una serie de colores. Los tres espacios de color más comunes son: RGB (usados por televisores, monitores, escáneres y cámaras digitales), CMYK (empleado por la industria de impresión) y $L^*a^*b^*$ (usados en estudios de investigación en alimentos) (Fernández y col., 2005).

Yam y Papadakis (2004) analizaron el color superficial y la presencia de puntos oscuros en muestras de pizza cocinadas en microondas. Dichos autores obtuvieron

imágenes digitales de las muestras y las analizaron cuantitativamente empleando el programa Photoshop. Así, utilizaron la ventana histograma para obtener los valores de L^* , a^* y b^* promedios de cada muestra analizada.

Distintos autores emplearon sistemas de visualización computarizados para el estudio de distintos productos. Mendoza y Aguilera (2004) implementaron un sistema de visualización computarizado para identificar las distintas etapas de maduración de bananas en base a color, desarrollo de puntos marrones e información de textura de la imagen. Los resultados mostraron que a pesar de las variaciones en los datos de color y apariencia, la técnica de clasificación simple aplicada fue tan buena para identificar las etapas de maduración de las bananas como la percepción visual profesional. Fernández y col. (2005) estudiaron el efecto del secado sobre la contracción, color y textura de discos de manzana empleando fotografías digitales de las muestras. Mendoza y col. (2007) fotografiaron papas fritas comerciales empleando un sistema de adquisición de imágenes similar al desarrollado por Mendoza y Aguilera (2004) y evaluaron el color y los rasgos texturales de las imágenes para caracterizar y clasificar la apariencia y modelar la preferencia de calidad de un grupo de consumidores. Kang y col. (2008) emplearon un sistema de visualización computarizado para medir el color de frutas enteras de color heterogéneo y demostraron la utilidad del mismo para capturar datos descriptivos del color durante la maduración de mangos.

Capítulo 4

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Soluciones formadoras de películas y recubrimientos comestibles

Las diferentes formulaciones se prepararon a partir de concentrado de proteínas del suero (WPC) 80% (Arla Food Ingredients S.A., Argentina) como componente mayoritario; cera de abejas (BW) amarilla refinada (Sigma-Aldrich, Argentina) como componente lipídico, glicerol (Gli) (Cicarelli, Argentina) como plastificante, Tween 80 (Anedra, Argentina) como emulsificante y sorbato de potasio (Anedra, Argentina) para prevenir el crecimiento microbiano.

Se prepararon soluciones acuosas de WPC en concentración inicial de 8% (p/p), luego se les incorporó Gli en proporción WPC/Gli 3:1, sorbato de potasio para alcanzar una concentración final de 0,12% (p/p) y agua destilada (cantidad necesaria para alcanzar el nivel de sólidos secos totales de 11,5%). Las soluciones se agitaron durante 15 minutos y luego se agregó BW al 0, 20 o 40% con respecto a los sólidos secos de la mezcla WPC-Gli. A las formulaciones que contuvieron BW se les adicionó Tween en proporción BW/Tween 4:1. La Tabla 4.1 muestra la composición de las tres formulaciones preparadas. Todas las formulaciones fueron tratadas térmicamente colocándolas en un baño termostatzado (Dalvo Instrumentos, Argentina) a 90 °C durante 30 minutos. A continuación se homogeneizaron empleando un equipo Ultra-Turrax T25 (IKA Werke, Alemania) a 21500 rpm durante 5 minutos. Luego se colocaron en baño de hielo para frenar la desnaturalización de las proteínas del suero y cristalizar las partículas lipídicas. Finalmente, las soluciones fueron desgasificadas empleando vacío.

Tabla 4.1. Composición de las soluciones formadoras de películas y recubrimientos comestibles

WPC (g)	Gli (g)	BW (g)	Sorbato de potasio (g)	Tween (g)	H₂O (g)
8	2,7	0,0	0,11	0,0	80,9
8	2,7	2,1	0,14	0,5	100,9
8	2,7	4,2	0,16	1,0	120,9

Dichas soluciones fueron utilizadas para la elaboración de las películas autoportadas y para el recubrimiento de las frutillas.

4.2. Películas comestibles autoportadas

La Figura 4.1 muestra un diagrama de la preparación de las películas comestibles autoportadas a partir de las distintas formulaciones descritas en la sección 4.1. Las películas comestibles autoportadas se prepararon en placas de petri pesando 8 g de formulación, previamente desgasificada, por placa. Las placas se secaron sobre una superficie nivelada en una cámara ambiental Tabai Comstar PR 4GM (Tabai Espec. Corp., Japón) bajo condiciones controladas de temperatura (5 y 25 °C) y humedad relativa (HR) (58%). La cámara cuenta con un ventilador interior que determina una velocidad de circulación del aire de aproximadamente 60 m/min. Se efectuó un examen visual periódico de las placas y las películas fueron despegadas cuando se observaron signos indicativos de la finalización del proceso de secado. Se trabajó con dos grupos de películas. Un grupo fue acondicionado y subsiguientemente empleado para las determinaciones (Grupo Control). Otro grupo de películas fue congelado en la cámara ambiental sobre una superficie nivelada a -30 °C, almacenado en recipientes plásticos en un freezer doméstico a -20 °C durante 30 días y transcurrido éste período, descongelado

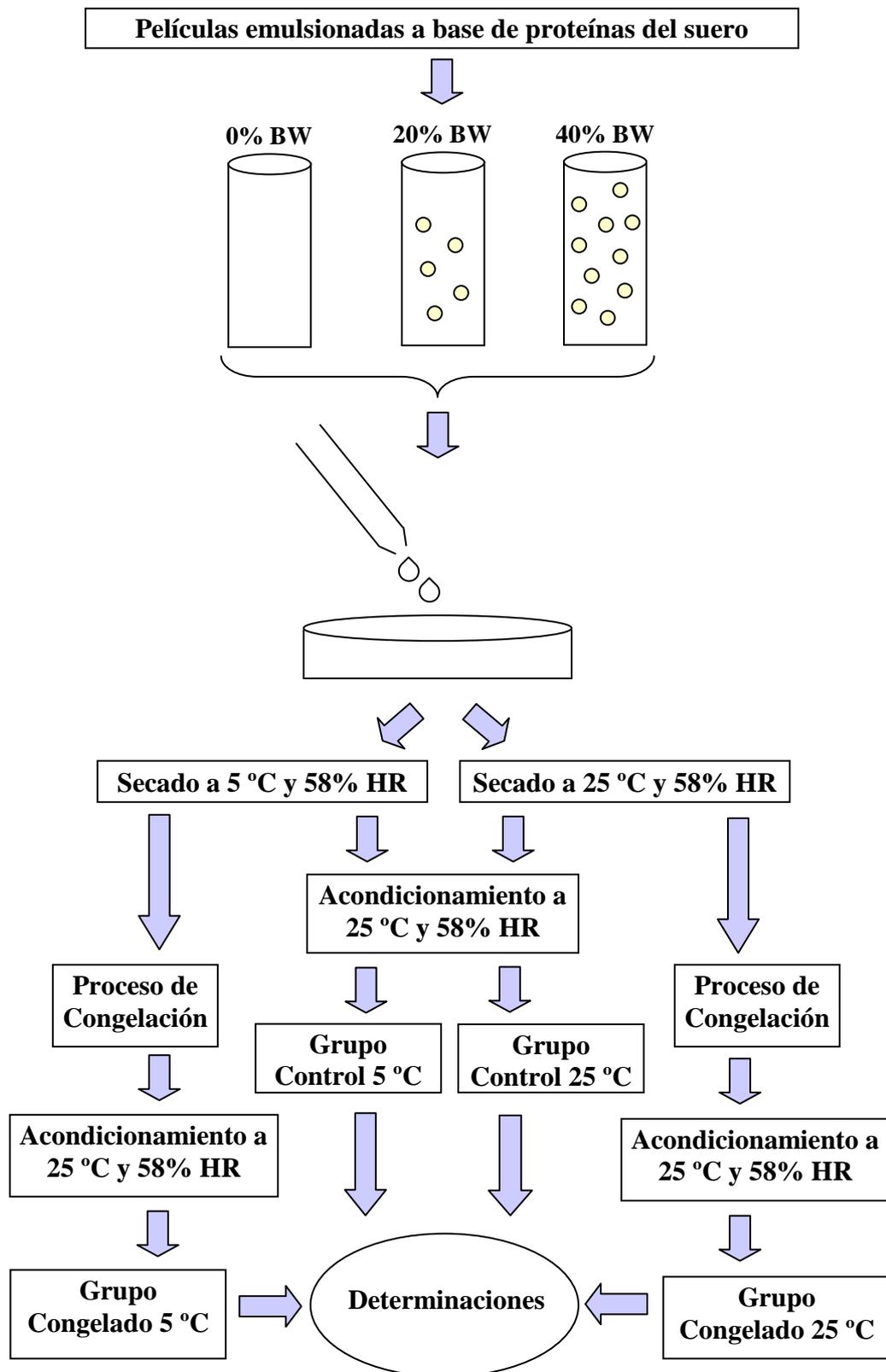


Figura 4.1. Diagrama de preparación de las películas comestibles autoportadas.

en heladera a 5 °C y acondicionado para las determinaciones (Grupo Congelado). El acondicionamiento fue el mismo para ambos grupos de películas y consistió en la colocación de las mismas en la cámara ambiental a 25 °C y 58% HR durante 3 días.

Con anterioridad a efectuar los distintos ensayos se realizó una selección de las películas con la finalidad de emplear aquellas que carecieran de fracturas, burbujas y otros defectos físicos.

4.2.1. Caracterización de las películas comestibles autosoportadas

4.2.1.1. Espesor

El espesor se midió con un micrómetro digital (Schwyz, China) en 9 posiciones por película y luego se calculó el valor promedio. Dicho valor fue empleado en los cálculos posteriores. El espesor promedio de las películas seleccionadas fue 0,157 ±0,011 mm.

4.2.1.2. Microscopía electrónica de barrido

Las imágenes de las secciones transversales de las películas se obtuvieron con un microscopio electrónico JEOL JSM-35C (Jeol, Japón). Las muestras se fracturaron por inmersión en aire líquido y se montaron sobre portamuestras de bronce, perpendicularmente a su superficie. Luego se efectuó el recubrimiento con oro durante 15 minutos a 70-80 mtorr y finalmente se registraron las imágenes.

4.2.1.3. Permeabilidad al vapor de agua

El ensayo se realizó sobre películas de 9 cm de diámetro colocadas en copas de polietileno de alta densidad especialmente construidas para la determinación. Las copas consistieron de una base cilíndrica de 10 cm de diámetro la cual presentó una cavidad de 5 cm de diámetro y 3 cm de profundidad y de una tapa cilíndrica de 10 cm de diámetro con una cavidad central de 5 cm de diámetro del mismo material (Figura 4.2).

Las películas comestibles se colocaron entre la parte superior de la base y la tapa de la copa orientadas con la superficie que estuvo expuesta al aire durante el proceso de secado en contacto con el ambiente exterior. La parte superior de la base fue construida con un surco que permitió alojar un sello de goma. Además se realizaron 6 perforaciones en la parte superior de la base y en la tapa, que permitieron la colocación de 6 tornillos para sellar la base a la tapa de la copa. La cavidad de la base de la copa permitió contener 10 mL de agua destilada (100% HR). Las copas con las películas ensambladas se colocaron en la cámara ambiental a 25 °C y 58% HR. Se registró el peso inicial de las mismas y luego de alcanzado el estado estacionario se pesaron cada 90 minutos para obtener los datos de pérdida de peso en función del tiempo, los cuales se emplearon para calcular la WVP de la película según las Ecuaciones 3.1, 3.2 y 3.3. La distancia entre el agua y la parte superior de la base se midió con un calibre antes y después de cada experimento para aplicar la corrección que consideró la transferencia de materia a través de la capa de aire estanco en la copa (Ecuación 3.1). La determinación se efectuó por quintuplicado.

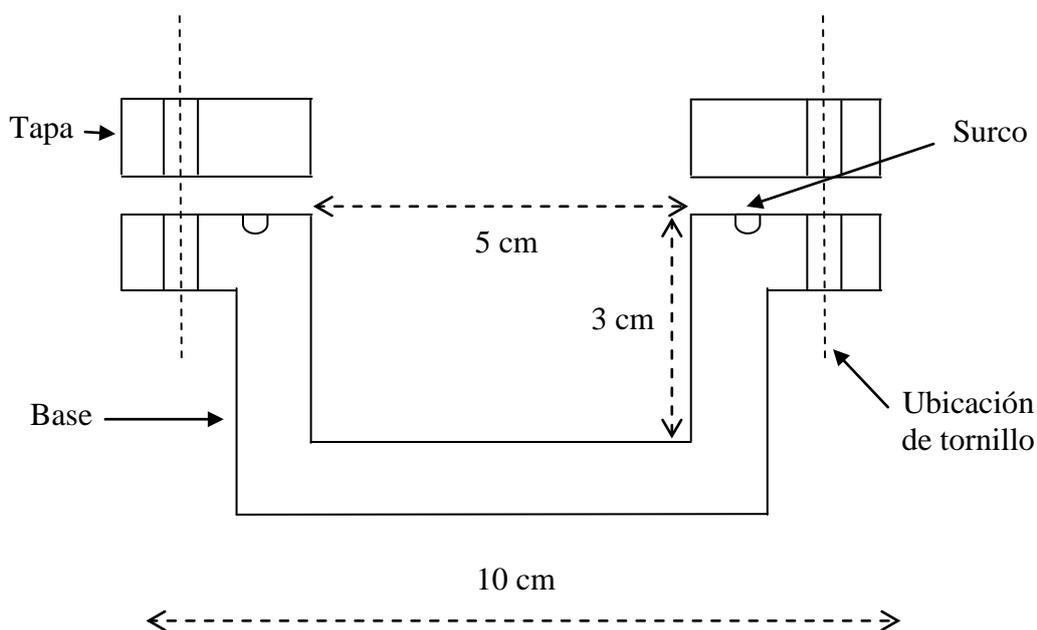


Figura 4.2. Esquema de la copa empleada para la determinación de WVP.

4.2.1.4. Solubilidad

El ensayo se realizó sobre porciones de 7,5 mm de ancho por 15 mm de largo de cada película. Las muestras se secaron en una estufa (Dalvo Instrumentos, Argentina) a 70 °C durante 24 h y se registró el peso seco inicial de las mismas. Luego las muestras fueron colocadas en tubos de ensayo conteniendo 10 mL de agua destilada con 0,01% (p/v) de sorbato de potasio para evitar el desarrollo de microorganismos. La gradilla se colocó en el baño termostático a 25 °C bajo agitación suave durante 24 h. Posteriormente se efectuó el filtrado de las soluciones conteniendo las porciones de películas empleando papeles de filtro previamente secados en la estufa a 70 °C durante 24 h y luego pesados. Los tubos de ensayo se enjuagaron 3 veces con agua destilada y este líquido también fue filtrado para asegurar que todos los sólidos fueran removidos

de los tubos. Los sólidos remanentes sobre el papel de filtro fueron secados durante 24 h a 70 °C. El peso seco final de las porciones se obtuvo a partir de la diferencia entre el peso seco final y el inicial del papel de filtro.

La solubilidad porcentual de las muestras se calculó según la Ecuación 4.1:

$$\text{Solubilidad(\%)} = \frac{(ps_i - ps_f)}{ps_i} \times 100 \quad (4.1)$$

Donde:

ps_i: peso seco inicial (g)

ps_f: peso seco final (g)

4.2.1.5. Isotermas de sorción de agua

Las películas se cortaron en porciones, se colocaron en frascos de vidrio de 30 mL previamente pesados (400 mg de porciones de película/frasco) y se secaron a un nivel de $a_w=0$ colocando los frascos en desecadores con CaSO₄ durante 10 días. Luego se prepararon 10 recipientes herméticos de vidrio de 1 L conteniendo cada uno un desecante diferente. Los desecantes empleados fueron: LiCl, KC₂H₃O₂, MgCl₂·6H₂O, K₂CO₃, Mg(NO₃)₂·6H₂O, NaBr, SrCl·6H₂O, NaCl, KCl y BaCl₂·2H₂O, correspondiendo a valores de HR de 0,11; 0,22; 0,33; 0,43; 0,53; 0,58; 0,71; 0,75; 0,84; 0,90; respectivamente (Jowitt y Wagstaffe, 1989). Para cada formulación, la determinación se efectuó por quintuplicado colocando 5 frascos de 30 mL en cada recipiente hermético de 1 L. Los frascos de 30 mL se dejaron equilibrar dentro de los recipientes herméticos a 25 °C durante 10 días y luego se pesaron para obtener el peso

de la muestra en equilibrio. A continuación se secaron en la estufa a 105 °C durante 4 h para obtener el peso de la muestra seca. El contenido de humedad de equilibrio (EMC) se calculó según la Ecuación 4.2 como sigue:

$$EMC = \frac{(w_2 - w_3)}{(w_3 - w_1)} \times 100 \quad (4.2)$$

Donde:

w_1 : peso del frasco de vidrio de 30 mL vacío.

w_2 : peso de la muestra en equilibrio más peso del frasco vacío.

w_3 : peso de la muestra seca más peso del frasco vacío.

Modelado de las isotermas de sorción de agua

Los valores experimentales de EMC de las distintas formulaciones se ajustaron a los modelos de Brunauer-Emmett-Teller (BET), de Guggenheim-Anderson-De Boer (GAB) y de Peleg de acuerdo a las Ecuaciones 3.4, 3.5 y 3.6. Los parámetros de los distintos modelos se calcularon minimizando la función error (Ecuación 4.3) descrita por Coupland y col. (2000) empleando un algoritmo escrito en Matlab 6.5.1 (MathWorks Inc., Estados Unidos).

$$\text{error} = \frac{1}{n} \sum_{aw=0}^n \left| \frac{EMC_{\text{experimental}(aw)} - EMC_{\text{teórico}(aw)}}{EMC_{\text{experimental}(aw)}} \right| \quad (4.3)$$

4.2.1.6. Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas de las películas se evaluaron mediante los ensayos de punción y tracción empleando una máquina universal de ensayos Instron Serie 3340 de una sola columna (Instron, Estados Unidos) equipada con una celda de carga de 100 kg. El ensayo de punción se practicó sobre muestras de películas circulares y la prueba de tracción se realizó empleando muestras de películas rectangulares, acondicionadas en la cámara ambiental durante 24 horas a 25 °C y 58% HR y luego equilibradas en la sala de ensayo durante 2 horas a 22 °C y 50% HR, en promedio. Se efectuaron 10 réplicas de cada muestra en cada ensayo mecánico.

El ensayo de punción se realizó empleando muestras de 9 cm de diámetro colocándolas en un soporte adaptado a la base del equipo de ensayo. Se utilizó una sonda cilíndrica de punción de borde plano de 2 mm de diámetro la cual se movió perpendicularmente a la superficie de la película a una velocidad constante de 0,8 mm/s hasta atravesarla. Se registraron las curvas de fuerza-deformación y a partir de las mismas se obtuvieron los parámetros F_{\max} y D_{\max} según lo explicado en la Sección 3.5.2.5.

Para el ensayo de tracción se emplearon muestras de 7 mm de ancho y 60 mm de largo. Las muestras se obtuvieron con un bisturí. En cada extremo de cada muestra se pegó con cinta adhesiva un cuadrado de cartulina de 3 cm de lado con la finalidad de mejorar la sujeción de la probeta a las mordazas del equipo de ensayo (Figura 4.3). El ensayo de tracción se efectuó a una velocidad de deformación constante de 0,05 mm/s partiendo de una separación inicial entre mordazas de 30 mm (longitud de película expuesta entre los extremos protegidos con cartulina). A partir de las curvas de fuerza-

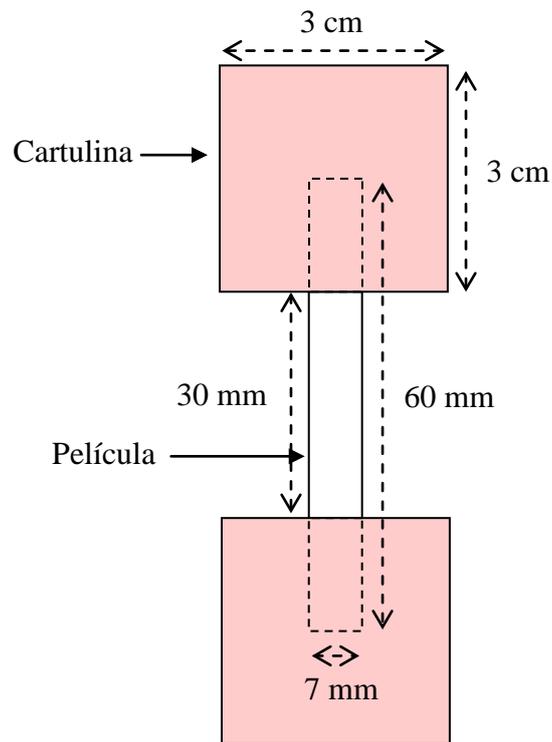


Figura 4.3. Esquema de una muestra de película comestible empleada en el ensayo de tracción.

deformación se obtuvieron los parámetros E_{rup} , D_{rup} y ME según lo explicado en la Sección 3.5.2.5.

4.3. Recubrimientos comestibles para mantener la calidad de frutillas congeladas

4.3.1. Frutillas

Se utilizaron frutillas de variedad Winter Down provenientes de la zona de Coronda de tamaño mediano y 75% de color rojo. Se descartaron las frutillas dañadas y de características no uniformes. Las frutas seleccionadas fueron lavadas tres veces con agua, secadas con papel absorbente y divididas en grupos de 30 frutillas. Todas las

frutillas fueron colocadas en bandejas de plástico cubiertas con bolsas de polietileno aptas para freezer y almacenadas en la heladera hasta el momento de ser sometidas a los distintos tratamientos (Figura 4.4).

4.3.2. Aplicación de recubrimientos comestibles

La Figura 4.4 muestra el esquema general de aplicación de los recubrimientos comestibles y de la congelación de las frutillas. Se trabajó con 11 grupos de frutillas: 1 grupo de frutillas frescas, las cuales fueron analizadas inmediatamente y utilizadas para la evaluación del efecto del proceso completo; 2 grupos no sumergidos, como control del efecto de la inmersión (1 por cada temperatura de secado estudiada); 2 grupos sumergidos en agua destilada como control del proceso de aplicación del recubrimiento comestible (1 por cada temperatura de secado estudiada) y 6 grupos de frutillas sumergidas en las 3 formulaciones distintas analizadas (3 por cada temperatura de secado estudiada). La inmersión de las frutillas en agua destilada y en las distintas soluciones formadoras de recubrimientos se efectuó empleando un equipo de infiltración al vacío diseñado para tal fin. Las frutillas se colocaron en el infiltrador en cestas con tapa confeccionadas con una red plástica calada, verificando que el nivel del líquido cubriera completamente las cestas. Se aplicó un pulso de 5 kPa durante 4 min y durante los 2 min siguientes se restauró la presión atmosférica lentamente mientras las muestras permanecieron sumergidas, según el procedimiento descrito por Vargas y col. (2009b). Concluida la inmersión, las frutillas se drenaron durante 10 min y luego fueron colocadas en la cámara ambiental a temperatura (5 y 25 °C) y HR (58%) controladas durante 90 min.

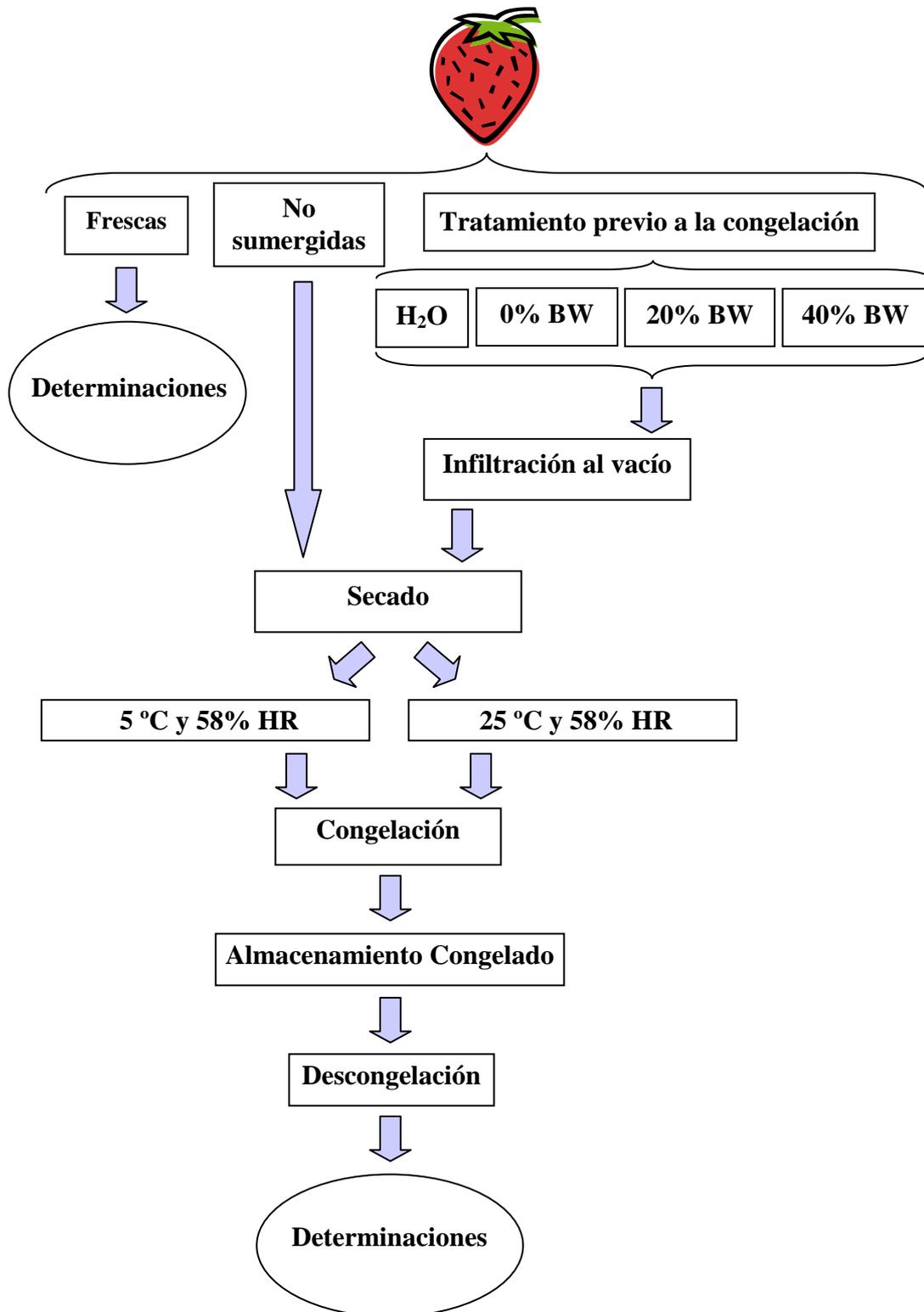


Figura 4.4. Diagrama general de aplicación de recubrimientos comestibles y de congelación de las frutillas.

La duración del período de secado se determinó previamente evaluando la adhesividad del recubrimiento ante el contacto con una porción de aproximadamente 1 cm² de papel de aluminio y de papel de filtro. Se consideró que el recubrimiento estuvo seco cuando no retuvo el papel de aluminio y no dejó puntos en el papel de filtro (García y col., 1998). Finalizada la etapa de secado, las frutillas fueron colocadas en heladera a 5 °C.

4.3.3. Proceso de congelación

Se efectuaron dos procedimientos distintos de congelación. El primer procedimiento se practicó en la cámara ambiental a -30 °C colocando las frutillas en las cestas caladas. El segundo consistió en congelación rápida empleando N₂ líquido. La congelación rápida se efectuó en un recipiente de telgopor con tapa donde se colocó el N₂ líquido y consistió en dos etapas: una primera etapa de inmersión en el N₂ líquido durante 10 segundos y una segunda etapa en contacto con el vapor de N₂. El tiempo de inmersión en el N₂ líquido fue seleccionado en experiencias previas tratando de evitar la rotura de las frutillas como consecuencia del descenso brusco de temperatura.

En ambos procedimientos de congelación se monitorearon los perfiles de temperatura con termocuplas colocadas en el centro de las frutillas empleando un sistema de adquisición de datos (Omega Engineering, Inc., Estados Unidos) conectado a una computadora portátil. La congelación se continuó hasta que la temperatura del centro geométrico de las frutillas fue -18 °C (Figura 4.5).

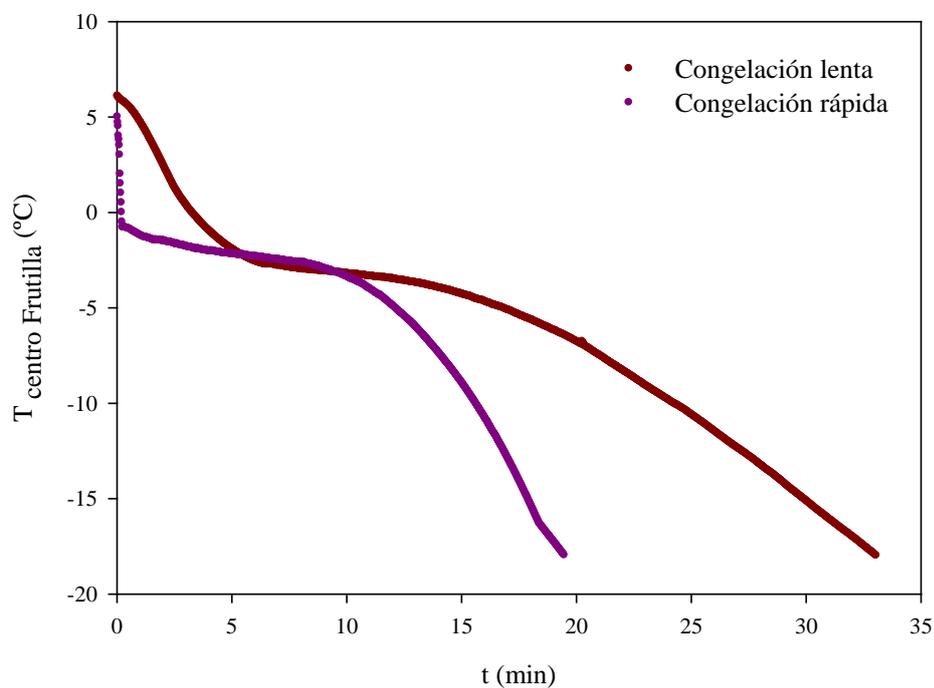


Figura 4.5. Perfiles de temperatura de muestras de frutillas sometidas a congelación lenta y rápida.

Una vez congeladas, las frutillas se colocaron en bandejas plásticas en bolsas aptas para freezer y se almacenaron en un freezer doméstico a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 30 días. Transcurrido dicho período las frutillas fueron descongeladas en la heladera.

4.3.4. Determinaciones

4.3.4.1. Pérdida de peso

La determinación de la pérdida de peso se efectuó empleando grupos de 15 frutillas divididas en subgrupos de 3 frutillas cada uno. Se registró el peso inicial (anterior a la congelación) y final (posterior a la descongelación) de los subgrupos de

frutillas y se calculó la pérdida de peso expresada como porcentaje respecto del peso inicial.

4.3.4.2. Ensayo de penetración

Los ensayos de penetración se efectuaron según una modificación del procedimiento realizado por Galetto (2006). Las frutillas fueron colocadas en la habitación de ensayo durante dos horas y media hora para alcanzar el equilibrio con la temperatura ambiente controlada (20 ± 1 °C). Las mediciones se efectuaron utilizando la máquina universal de ensayos con una celda de carga de 100 kg, una sonda cilíndrica de 3 mm de diámetro y una velocidad de penetración de 100 mm/min. En el momento de efectuar el ensayo cada frutilla se cortó al medio en dirección longitudinal, se seleccionó la mitad más homogénea y se la colocó sobre una base adaptada al equipo de medición. Se registraron las curvas de fuerza en función de la deformación, medida como la distancia de penetración (curvas de fuerza/deformación). Del análisis de las curvas de fuerza/deformación obtenidas para cada frutilla se obtuvieron los parámetros texturales F_{\max} , D_{\max} , P y W_{\max} de acuerdo a lo explicado en la Sección 3.7.4.2.

4.3.4.3. Microscopía óptica

La evaluación estructural mediante microscopía óptica se efectuó sobre secciones transversales de cada muestra de frutilla obtenidas como se muestra en la Figura 4.6. Las muestras fueron colocadas en *cassettes* de anatomía patológica para facilitar el procesamiento posterior. La fijación se llevó a cabo en el fijador FAA (10 mL de formaldehído al 40%, 50 mL de alcohol etílico al 96%, 2 mL de ácido acético glacial y

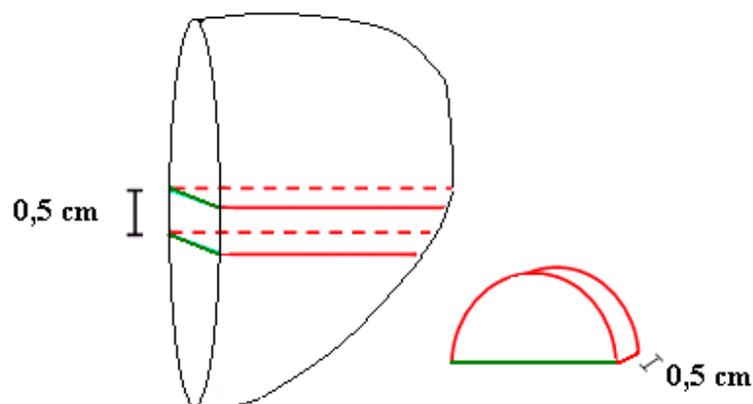


Figura 4.6. Sección transversal de una mitad de frutilla para microscopía óptica.

38 mL de H₂O destilada) durante 24 h en la heladera. Luego se procedió a deshidratar las muestras sumergiéndolas en soluciones de etanol (50, 70, 80 y 96%) durante 12 h y en etanol 100% durante 24 h. A continuación se efectuó el aclaramiento de las muestras en soluciones etanol/xileno (3/1, 1/1, 1/3) durante 12 h y en xileno durante 24 h a temperatura ambiente. Por último las muestras se colocaron en mezclas parafina/xileno (1/1; 3/1) durante 12 h y luego en parafina pura durante 24 h para completar la inclusión en parafina. Posteriormente se obtuvieron secciones de 8 μ m y se tiñeron con azul de toluidina (Van Buggenhout y col., 2008). Por último, los cortes fueron examinados con un microscopio Olympus y fotografiados con la cámara digital adaptada al mismo.

4.3.4.4. Determinación de color por análisis de imágenes

El color de las frutillas se evaluó a partir del análisis de imágenes digitales obtenidas de las muestras. Para la adquisición de las imágenes digitales se construyó una caja de luz de madera de base cuadrada de 70 cm de lado. En la parte superior se

colocaron 4 tubos fluorescentes Osram, Biolux, 18W/965 (Osram, Alemania) con una temperatura de color de 6500 K (D65, luz de día usada en investigación de alimentos), provistos de balastos electrónicos y dispuestos formando un cuadrado. Por debajo de los tubos se colocó una placa difusora de acrílico para asegurar una iluminación uniforme. La adquisición de las imágenes se efectuó empleando una cámara digital Olympus, modelo e-420 (Olympus, Japón), ubicada verticalmente sobre el plano de la muestra a una distancia de 30 cm. El ángulo entre la lente y el eje de la fuente de iluminación fue aproximadamente 45 grados. Las frutillas fueron cortadas al medio en dirección longitudinal y fotografiadas sobre un fondo negro bajo las siguientes configuraciones de la cámara digital: modo manual con apertura de la lente en $f=8$ y tiempo de exposición 1/80, sin flash, zoom máximo, sensibilidad ISO 400, resolución máxima (3648 x 2736) y almacenamiento en formatos JPEG y RAW. La cámara se conectó al puerto USB de una computadora provista de un programa de control remoto para visualizar y adquirir imágenes directamente desde la computadora. Se utilizó una tarjeta de color it8 (Wolf Faust, Alemania), la cual fue fotografiada para luego obtener el perfil ICC empleando el programa CoCa 1.6 (Andrew Stawowczyk Long, 2010) y los valores de las distintas coordenadas en los diferentes espacios de color especificados por el proveedor de la tarjeta de color. El perfil de color obtenido fue asignado a todas las imágenes empleando el programa Photoshop (Adobe Systems, Inc., Estados Unidos) y se obtuvieron los valores de L, a y b promedios para cada frutilla desde la ventana histograma. Por último, dichos parámetros fueron convertidos en los valores L^* , a^* y b^* aplicando las siguientes Ecuaciones (Yam y Papadakis, 2004):

$$L^* = \frac{L}{255} \times 100 \quad (4.4)$$

$$a^* = \frac{240 \times a}{255} - 120 \quad (4.5)$$

$$b^* = \frac{240 \times b}{255} - 120 \quad (4.6)$$

4.4. Análisis estadístico de los datos

Los datos experimentales obtenidos fueron analizados utilizando análisis de variancia (ANOVA). Se investigó la variación debida a los factores y se estudiaron las interacciones entre dichos factores. Cuando los efectos de los factores fue significativo ($p < 0,05$) se procedió a realizar el test *Honestly Significant Difference* (HSD) de Tukey para la comparación de medias (95% de nivel de confianza). En los casos en los que se presentó interacción, las comparaciones de las medias se realizaron utilizando las combinaciones de tratamientos por separado para aislar la interacción (Glantz y Slinker, 1990). El análisis estadístico fue realizado con el programa estadístico Statgraphics Plus para Windows 3.0 (Manugistics Inc., Estados Unidos).

Capítulo 5

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Películas comestibles autoportadas

5.1.1. Efecto de la temperatura de secado y del contenido de cera de abejas sobre las propiedades fisicoquímicas de las películas comestibles

5.1.1.1. Características de las películas comestibles

El examen visual de las películas indicó que las formulaciones que contuvieron BW evidenciaron desestabilización de la emulsión y separación de fases durante la etapa de secado, distinguiéndose fácilmente el lado en contacto con el molde y el lado expuesto al aire durante la etapa de secado. Estas observaciones coinciden con lo reportado por otros autores que estudiaron películas de proteínas de suero emulsionadas con BW.

McHugh y Krochta (1994) prepararon películas emulsionadas a base de WPI con el agregado de BW empleando sorbitol como plastificante y siguiendo distintos procedimientos de homogeneización. En todos los casos observaron que el cremado de la emulsión WPI/BW durante la deshidratación resultó en la formación de películas de naturaleza anisotrópica. Luego del secado, el lado de la película con brillo, mirando la superficie de formación, fue similar a las películas de WPI con sorbitol indicando la presencia de un elevado contenido de proteínas. Por otra parte, el lado mate mirando al ambiente fue parecido a una película de lípido puro, indicando la presencia de un elevado contenido lipídico. Los autores reportaron que si bien ocurrió separación de fases dentro del sistema estudiado, mediante microscopía electrónica de barrido se observaron dentro de la matriz proteica partículas lipídicas discretas y por lo tanto, la

desestabilización no llevó a la formación de películas bicapa. Las películas obtenidas en el presente trabajo también mostraron anisotropía debido a la presencia de BW presentando una matriz más rugosa y con la localización preferencial del componente lipídico en el lado de la película expuesto al aire durante el secado, como se describe en la sección 5.1.1.2.

Pérez-Gago y Krochta (2000) estudiaron distintas propiedades fisicoquímicas de películas a base de WPI con el agregado de diferentes compuestos lipídicos y también observaron la desestabilización de la emulsión durante el proceso de secado a 40 y 80 °C. Además, notaron la migración del componente lipídico hacia los bordes de la placa de formación, la cual fue atribuida al hecho de que las películas comienzan a secarse desde el borde de la placa de formación hacia el centro y como consecuencia la fase lipídica tiende a migrar hacia el área más hidrofóbica (menor contenido de humedad). Nuestros resultados mostraron que, si bien existió una distribución algo heterogénea de BW en todas las formulaciones, se obtuvo una distribución superficial de BW más homogénea cuando el secado se efectuó a 5 °C. Al disminuir la temperatura de secado, el proceso de secado fue más prolongado y por lo tanto los fenómenos de desestabilización de la emulsión podrían haberse acentuado.

Dado que tanto la desestabilización de la emulsión como la migración del componente lipídico hacia el borde de la placa de formación podrían afectar las propiedades de las películas obtenidas, el lado expuesto al aire durante la etapa de secado fue marcado y considerado en la determinación de WVP y en los ensayos mecánicos.

5.1.1.2. Microscopía electrónica de barrido

El estudio microestructural de las películas comestibles brinda información relevante sobre el arreglo o disposición de sus componentes, permitiendo una mejor discusión de los resultados.

La Figura 5.1 muestra micrografías electrónicas de barrido de películas a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW. Puede observarse la sección transversal de las distintas muestras y los distintos lados de las películas, el lado superior o expuesto al aire y el inferior el cual estuvo en contacto con el molde durante la etapa de secado.

El examen de las micrografías indicó que la estructura formada dependió de los componentes incluidos en la formulación de la película. La sección transversal de las formulaciones sin BW fue continua y homogénea y no se observaron irregularidades tales como burbujas de aire o roturas. En contraste, las formulaciones que incluyeron BW mostraron una matriz más rugosa y con la localización preferencial del componente lipídico en el lado de la película expuesto al aire durante el secado, en comparación con las muestras sin BW.

Al disminuir la temperatura de secado de 25 a 5 °C, el proceso de secado de las películas se prolongó y por lo tanto fenómenos responsables de la desestabilización de emulsiones se vieron acentuados. Así, las películas con 20 y 40% de BW obtenidas a 5 °C mostraron una mayor cobertura de su superficie con lípidos, en comparación con las películas con 20 y 40% de BW obtenidas a 25 °C.

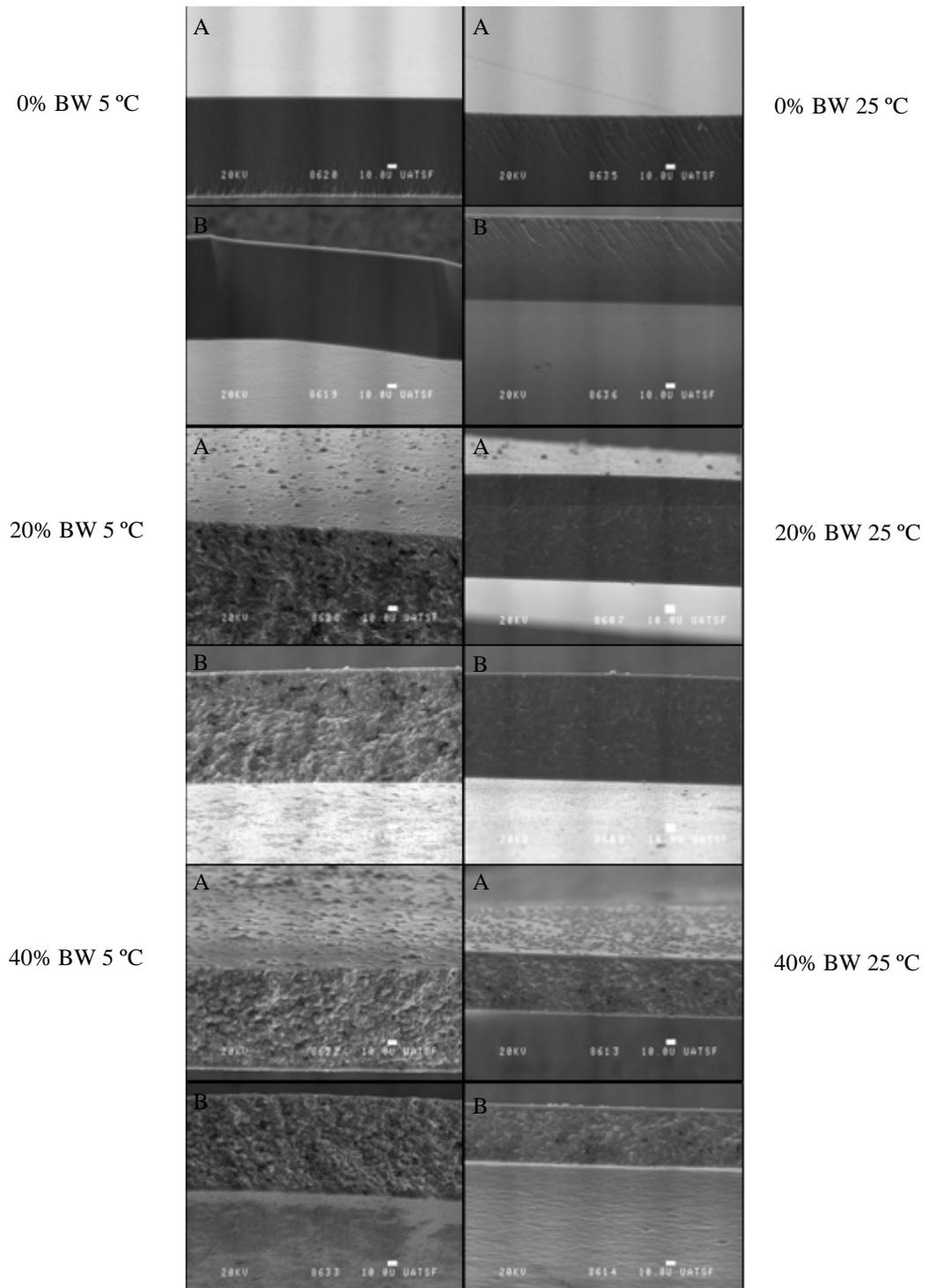


Figura 5.1. Micrografías electrónicas de barrido de secciones transversales de películas a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW. A: mostrando el lado expuesto al aire y B: mostrando el lado en contacto con el molde, durante la etapa de secado.

Notablemente, las películas con 20% de BW obtenidas a 5 °C mostraron una pequeña proporción de lípidos en la superficie, y aquellas con 40% de BW obtenidas a 25 °C fueron superficialmente similares a las que contuvieron 20% de BW formadas a 5 °C.

En coincidencia con lo observado en el presente trabajo, Denavi y col. (2009) mostraron que películas a base de aislado de proteínas de la soja se caracterizaron por una estructura densa, del mismo modo que había reportado Tapia-Blácido y col. (2005) en el caso de películas a base de amaranto. Según dichos autores, si bien la estructura observada fue densa se detectaron algunos poros, aunque parecieron cavidades cerradas. Tal observación podría coincidir con los pequeños sitios vacíos observados en la presente investigación, posiciones que podría haber ocupado el compuesto lipídico y que por el efecto de la criofractura de la muestra durante la preparación para SEM, tomaran el aspecto de irregularidades. Atarés y col. (2010) también observaron discontinuidades debidas a la agregación durante el secado en la matriz de películas comestibles a base de caseinato de sodio con el agregado de aceite esencial de jengibre. Por el contrario, cuando dichos autores incorporaron a la formulación aceite esencial de canela no detectaron alteraciones en el aspecto microestructural, posiblemente debido a un tamaño de partícula pequeño en la emulsión.

5.1.1.3. Permeabilidad al vapor de agua

La determinación de la permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas comestibles constituye un dato fundamental para el diseño de formulaciones tendientes a aplicarse como recubrimientos de alimentos. Por ejemplo, si el recubrimiento será

aplicado para preservar la calidad de frutas frescas deberá ser lo suficientemente resistente a la transmisión de vapor de agua como para disminuir fenómenos como la deshidratación superficial y la pérdida de peso (Lin y Zhao, 2007).

La Figura 5.2 muestra los valores de WVP promedio calculados para los distintos grupos de películas comestibles.

La disminución de la temperatura de secado de 25 a 5 °C causó una disminución en los valores de WVP de las películas que contuvieron BW pero no afectó la WVP de las películas sin BW. La caracterización estructural de las películas mediante SEM indicó que la temperatura de secado afectó la distribución del componente lipídico en la matriz proteica, mostrando las películas con BW obtenidas a 5 °C una mayor cobertura de su superficie con lípidos, en comparación con las películas con BW obtenidas a 25 °C. Tal diferencia podría justificaría la formación de una estructura más eficiente para prevenir la migración de humedad.

El agregado de BW disminuyó significativamente la WVP a ambas temperaturas de secado estudiadas. En las películas obtenidas a 5 °C la disminución observada en la WVP fue dependiente del contenido de BW en la película. Pero, cuando las películas se obtuvieron a 25 °C sólo un nivel de 40% de BW tuvo un efecto significativo sobre la WVP.

Shellhammer y Krochta (1997) estudiaron el efecto del tipo de lípido (cera de carnauba, cera de candelilla, cera de abejas y fracción anhidra de leche de vaca) y de la concentración del mismo sobre la WVP de películas emulsionadas a base de proteínas del suero. Ambos factores analizados tuvieron un efecto significativo sobre la WVP de

las películas. En el caso del efecto del agregado del compuesto lipídico, observaron que la WVP disminuyó a medida que la concentración del lípido se incrementó.

En ciertos casos, como por ejemplo las películas con cera de abejas y fracción anhidra de leche de vaca, observaron una concentración crítica en la cual ocurrió una disminución aguda en la WVP. Los autores sugirieron que dicha reducción aguda en la WVP podría deberse a la deformación de las gotas del compuesto lipídico, la cual resulta en la creación de un patrón lipídico intacto dentro de la película emulsionada. En cuanto al afecto del tipo de lípido, las películas con agregado de cera de abejas mostraron los valores más bajos de WVP, seguidas por las que contuvieron fracción anhidra de leche de vaca y por las películas con agregado de cera de candelilla y de carnauba que presentaron los valores más elevados de WVP y similares entre sí.

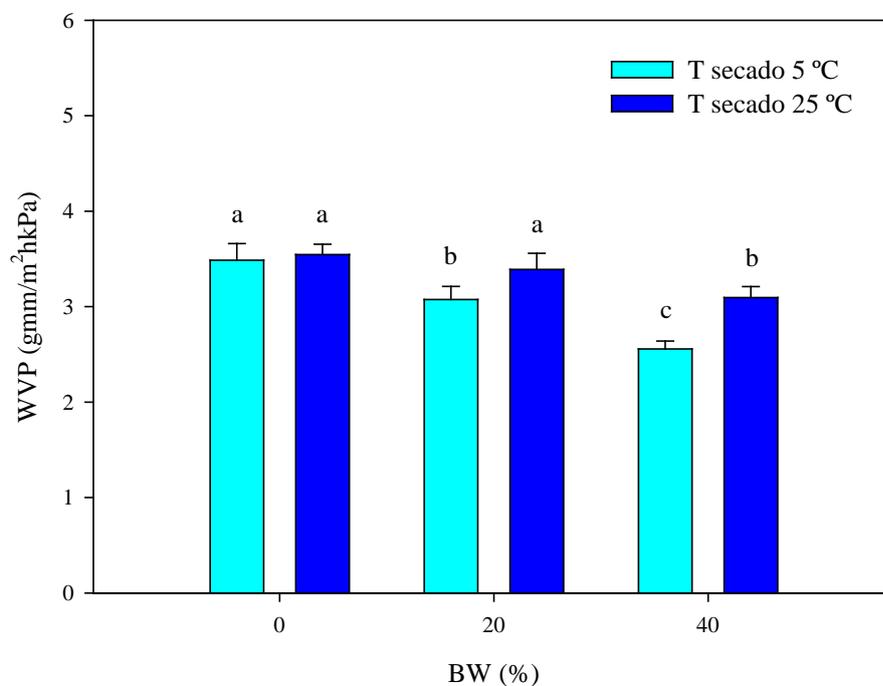


Figura 5.2. WVP de películas a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Anker y col. (2002), también estudiaron el efecto del agregado de un componente lipídico sobre la WVP de películas emulsionadas a base de proteínas del suero. En dicho trabajo, los autores incorporaron a la formulación un monoglicérido acetilado y mostraron que las películas con lípido emulsionado disminuyeron su WVP a la mitad del valor correspondiente a las películas sin lípido, y que dicha disminución no fue afectada por los cambios en la concentración del monoglicérido acetilado. La disminución en la WVP como consecuencia del agregado de un lípido también fue reportada por Talens y Krochta (2005) quienes estudiaron el efecto del agregado de cera de abejas y cera de carnauba sobre la WVP de películas a base de proteínas del suero. Sus resultados indicaron que el agregado de ambos lípidos disminuyó significativamente la WVP de las películas debido al incremento en la hidrofobicidad de las mismas impartida por las ceras. No observaron efecto significativo del tipo de lípido sobre la WVP.

Las micrografías electrónicas de barrido mostraron que cuando la temperatura de secado fue 25 °C, las películas con 20% de BW presentaron un gran porcentaje de su superficie libre de lípidos, lo cual justifica un valor de WVP similar a la formulación sin BW. Al aumentar la concentración de BW a 40%, se observó una mayor concentración de BW en la superficie y por lo tanto una disminución en la WVP en comparación con las películas sin BW y con 20% de BW. Cuando las películas se obtuvieron a 5 °C, ambas formulaciones con BW mostraron una elevada proporción de su superficie cubierta por lípido. Además, la formulación con 40% de BW presentó una estructura similar a una bicapa, no distinguiéndose sitios en la superficie libre de lípidos. Tal

observación es compatible con los bajos valores de WVP obtenidos para dichas formulaciones.

Los resultados obtenidos en la presente investigación indicaron que, tanto el secado a 5 °C como el agregado de BW mejoraron significativamente las propiedades de barrera frente a la humedad de las películas a base de WPC.

5.1.1.4. Solubilidad en agua

La solubilidad en agua de las películas comestibles es una propiedad funcional importante que afecta la utilización de la película. Por ejemplo, sería deseable que una película aplicada sobre alimentos con alto contenido de humedad sea insoluble, mientras que si se la va a emplear para bolsas solubles en agua debería ser fácilmente soluble (Sothornvit y Krochta, 2000).

Los resultados obtenidos indicaron que todas las películas fueron parcialmente solubles (valores de solubilidad entre 13,6 y 34,4%) manteniendo su integridad durante la inmersión. Este hecho fue indicativo de una matriz polimérica estable.

La Figura 5.3 muestra los valores de solubilidad en agua de las distintas formulaciones de películas comestibles.

La disminución de la temperatura de secado de 25 a 5 °C incrementó significativamente la solubilidad de las películas que contuvieron BW pero no tuvo efecto significativo sobre la solubilidad de las películas sin BW. Considerando los valores de solubilidad de las películas para un mismo contenido de BW, el aumento en la solubilidad podría atribuirse a la mayor solubilización de compuestos hidrofílicos

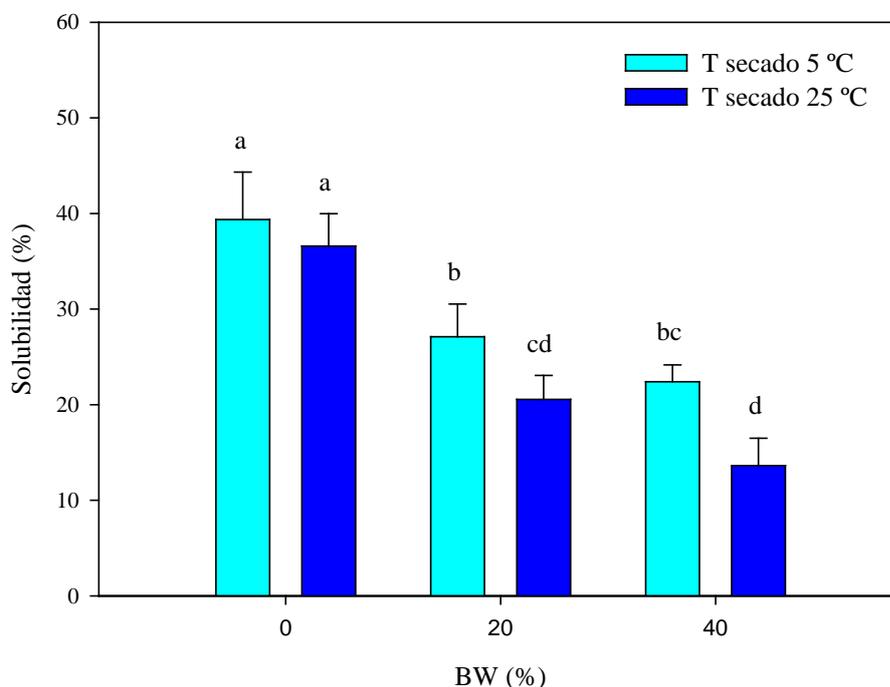


Figura 5.3. Solubilidad de películas a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

como por ejemplo glicerol y lactosa presentes en las películas. El aumento de la proporción de lípidos presentes en la superficie de las películas cuando disminuyó la temperatura de secado podría alterar la estructura de la matriz proteica, haciéndola más porosa con lo cual aumentaría la solubilidad de los compuestos hidrofílicos pequeños.

Las micrografías electrónicas de barrido revelaron la presencia de discontinuidades en la matriz proteica de las películas. Sin embargo, dichas discontinuidades reflejan sitios ocupados por glóbulos lipídicos, los cuales luego del proceso de preparación de las muestras para microscopía electrónica podrían haber

adquirido el aspecto de huecos. Así, no se evidenciaron signos de alteración de la porosidad de la matriz con la disminución de la temperatura de secado.

El agregado de BW disminuyó la solubilidad de las películas a ambas temperaturas de secado estudiadas. Dado que en la presente investigación el nivel de sólidos totales en la formulación se mantuvo constante, el agregado de BW disminuyó la materia soluble total, lo cual se tradujo en la disminución de la solubilidad en agua de la película. El efecto del agregado de un compuesto lipídico también fue estudiado por Kim y Ustunol (2001), quienes mostraron que tanto la incorporación de grasa de manteca como de cera de candelilla redujo la solubilidad de las películas a base de WPI plastificadas con glicerol. Sin embargo, cuando emplearon sorbitol como plastificante, ningún compuesto lipídico afectó la solubilidad en agua las películas. Además, Ozdemir y Floros, (2008b) optimizaron la permeabilidad al vapor de agua, la solubilidad y las características sensoriales de películas comestibles a base de proteínas del suero con el agregado de BW y conservantes y, del mismo modo que en el presente trabajo, hallaron que el agregado de BW disminuyó la solubilidad en agua de las películas.

5.1.1.5. Sorción de agua

Isotermas de sorción de agua

La Figura 5.4 muestra los datos experimentales de EMC correspondientes a los distintos grupos de películas comestibles.

Como puede observarse en la Figura, el EMC experimentó un aumento continuo hasta a_w 0,58 y a partir de dicho valor se observó un aumento más marcado.

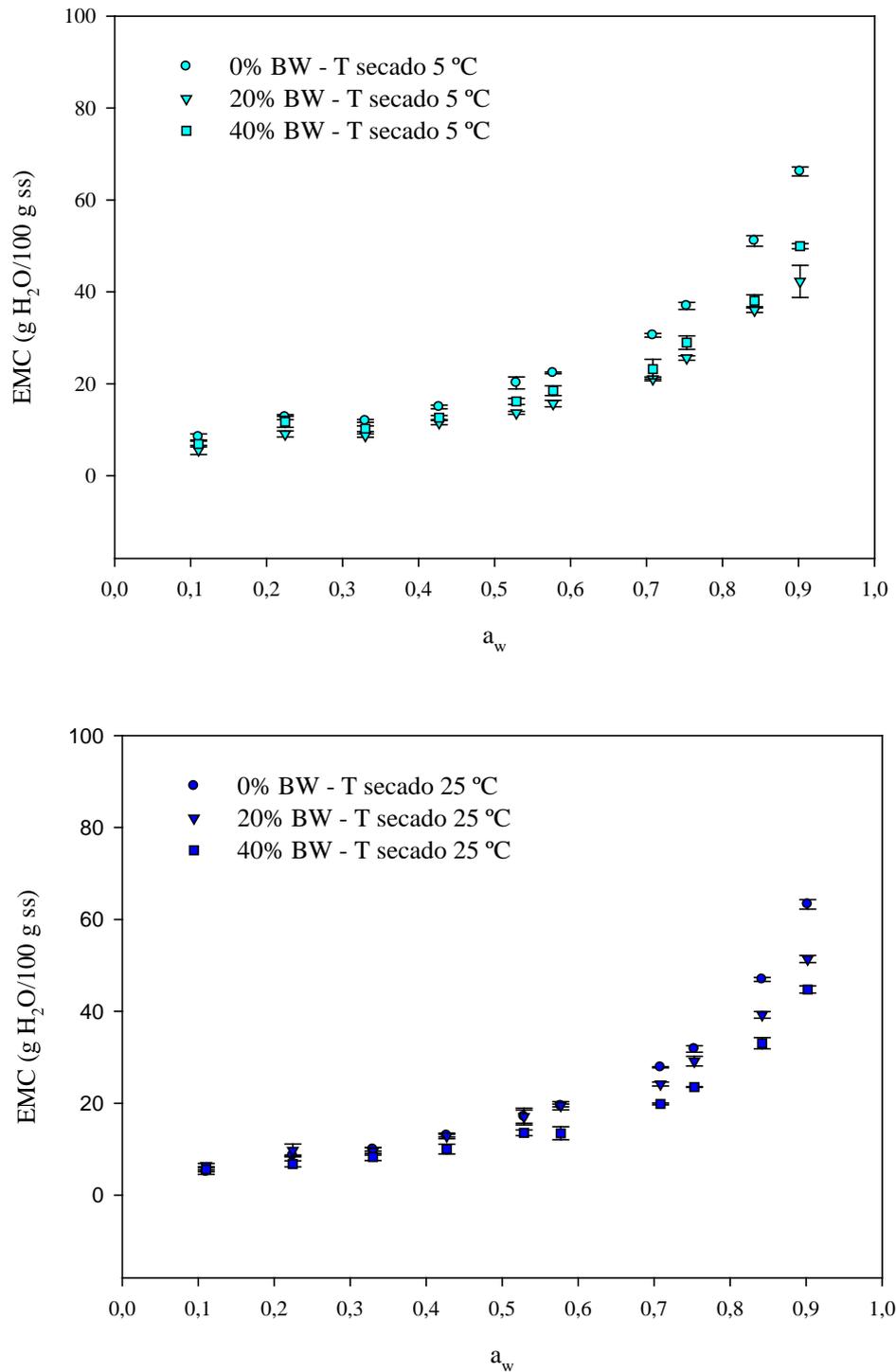


Figura 5.4. EMC de películas a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW.

Las isotermas de sorción de agua de tipo sigmoidea son características de materiales ricos en polímeros hidrofílicos (Zinoviadou y col., 2009). Este comportamiento de las películas a base de proteínas del suero también fue observado por Fabra y col. (2010).

Analizando los valores de EMC para cada formulación de película y temperatura de secado a cada valor de a_w se observó que el comportamiento de las películas con la temperatura de secado dependió del contenido de BW. La disminución de la temperatura de secado de 25 a 5 °C disminuyó el EMC de las películas con 0 y 40% de BW pero aumentó el EMC de las películas con 20% de BW. Este comportamiento mostró una interacción entre los factores temperatura de secado y BW que resultó en características de sorción diferentes cuando variaron la formulación y la condición de secado.

El agregado de BW disminuyó el EMC de las películas, acentuándose dicho efecto a valores más altos de a_w . Notablemente, cuando el secado se efectuó a 5 °C el valor más bajo de EMC obtenido en todos los valores de a_w correspondió a la formulación con 20% de BW. En las películas obtenidas a 25 °C, para $0,11 < a_w < 0,58$ sólo un 40% de BW disminuyó significativamente el EMC de las películas, mientras que para $a_w > 0,58$ se observó una tendencia de disminución del EMC con el incremento del contenido de BW en la formulación. El efecto del agregado de BW sobre el EMC podría explicarse teniendo en cuenta que la incorporación de lípidos en la matriz de hidrocoloide de las películas afecta la hidrofobicidad global de la matriz como consecuencia de la presencia de más colas hidrofóbicas y también modifica las interacciones potenciales entre los componentes y este hecho puede afectar los sitios activos totales para la absorción de

agua (Fabra y col., 2010). En efecto, Kim y Ustunol (2001) informaron que la incorporación de lípidos redujo el EMC de películas a base de proteínas del suero plastificadas con sorbitol y glicerol. Sin embargo, Zinoviadou y col. (2009) mostraron que el agregado de bajas concentraciones de aceite de orégano a películas a base de proteínas del suero no afectó significativamente el contenido de agua de dichas películas.

Modelado de las isotermas de sorción de agua

Las Tablas 5.1, 5.2 y 5.3 muestran los parámetros calculados, el coeficiente de determinación y el error de ajuste para los modelos de BET, GAB y de Peleg, respectivamente.

De acuerdo a la definición dada por Gennadios y Weller (1994), un valor de error menor a 5 indica un muy buen ajuste, un valor entre 5 y 10 representa un ajuste razonablemente bueno, y un valor superior a 10 indica un ajuste malo. Como puede observarse, todos los modelos fueron exitosos para describir el comportamiento de sorción de humedad de las películas, aunque algunas formulaciones mostraron un ajuste pobre cuando se aplicó el modelo de BET. El modelo de GAB dio un mejor ajuste que el modelo de BET especialmente a valores de a_w altos, probablemente debido a la incorporación de un parámetro adicional y no a cualquier mejora en la comprensión física del fenómeno de sorción (Coupland y col., 2000). Los modelos de GAB y de Peleg mostraron el mismo orden de magnitud del error de ajuste, pero el modelo de Peleg requiere de un parámetro adicional. En consecuencia, el modelo de GAB fue considerado el más apropiado para el modelado de las isotermas de sorción de

Tabla 5.1. Parámetros, coeficiente de determinación y error de ajuste obtenidos mediante el ajuste de los datos experimentales de EMC de películas a base de proteínas del suero al modelo de BET.

TS (°C)	BW (%)	k_0	k_1	R^2	Error (%) ^a
5	0	8,83	45,33	0,96	9,04
5	20	6,31	29,94	0,94	10,60
5	40	7,53	6,23	0,97	12,92
25	0	8,07	9,98	0,98	7,19
25	20	7,13	32,60	0,96	11,39
25	40	5,78	53,36	0,98	5,98

TS: Temperatura de secado.

^a Calculado de acuerdo a Coupland y col. (2000).

Tabla 5.2. Parámetros, coeficiente de determinación y error de ajuste obtenidos mediante el ajuste de los datos experimentales de EMC de películas a base de proteínas del suero al modelo de GAB.

TS (°C)	BW (%)	m_0	C	k	R^2	Error (%) ^a
5	0	10,78	22,37	0,93	1,00	5,16
5	20	7,40	25,52	0,93	0,99	5,54
5	40	8,27	25,61	0,93	0,99	5,43
25	0	8,02	18,33	0,97	0,99	7,50
25	20	8,33	25,60	0,93	0,99	5,80
25	40	6,23	25,20	0,97	0,99	3,61

TS: Temperatura de secado.

^a Calculado de acuerdo a Coupland y col. (2000).

Tabla 5.3. Parámetros, coeficiente de determinación y error de ajuste obtenidos mediante el ajuste de los datos experimentales de EMC de películas a base de proteínas del suero al modelo de Peleg.

TS (°C)	BW (%)	k_1	k_2	n_1	n_2	R^2	Error (%) ^a
5	0	66,32	13,37	3,49	0,18	0,98	8,77
5	20	49,25	16,57	5,36	0,49	0,99	6,53
5	40	50,95	17,47	4,91	0,44	0,99	1,32
25	0	70,21	20,75	5,31	0,63	0,99	4,66
25	20	51,79	15,74	4,26	0,41	0,99	5,33
25	40	50,73	17,30	6,05	0,64	0,99	6,76

TS: Temperatura de secado.

^a Calculado de acuerdo a Coupland y col. (2000).

humedad de las películas a base de WPC y por lo tanto se analizó el efecto de la temperatura de secado y del contenido de BW sobre los parámetros de dicho modelo.

En referencia a los parámetros calculados, m_0 y C en el modelo de GAB (Tabla 5.2) fueron dependientes de la temperatura de secado y de la composición de las películas. Por el contrario, k , en el modelo de GAB fue independiente de ambos factores. Este resultado estuvo en acuerdo con lo informado por Coupland y col. (2000). La disminución de la temperatura de secado de 25 a 5 °C incrementó el parámetro m_0 de las películas con 0 y 40% de BW y disminuyó dicho parámetro en las películas con 20% de BW. El parámetro C se incrementó en las películas con 0 y 40% de BW y disminuyó en aquellas con 20% de BW cuando la temperatura de secado disminuyó de 25 a 5 °C. En cuanto al agregado de BW, se observó una tendencia de disminución en el parámetro m_0 a ambas temperaturas de secado estudiadas. Este resultado fue esperado teniendo en cuenta que el contenido de humedad de la monocapa indica la cantidad de humedad que se adsorbe en una sola capa a los sitios de unión en la película. El agregado de un compuesto lipídico como BW disminuye los sitios activos donde las moléculas de agua pueden adsorberse. Por otra parte, el parámetro C mostró una tendencia de incremento con el agregado de BW a ambas temperaturas de secado.

5.1.1.6. Propiedades mecánicas

La evaluación de las propiedades mecánicas de las películas comestibles autosoportadas es esencial dado que en la etapa de aplicación a un producto determinado el recubrimiento deberá brindarle protección frente a las lesiones mecánicas que ocurren durante su transporte y manipulación (Baldwin, 2007).

Las Figuras 5.5 y 5.6 muestran los parámetros fuerza máxima y deformación máxima calculados a partir de las curvas fuerza-deformación de los distintos grupos de películas comestibles.

La disminución de la temperatura de secado de 25 a 5 °C no tuvo efecto significativo sobre ninguno de los parámetros evaluados mediante el ensayo de punción en ninguna formulación de película estudiada.

El agregado de BW disminuyó la fuerza máxima y la deformación máxima de las películas. Esta disminución estaría relacionada con la combinación de efectos debilitante y lubricante del lípido sobre la matriz a base de proteína (Banerjee y Chen (1995).

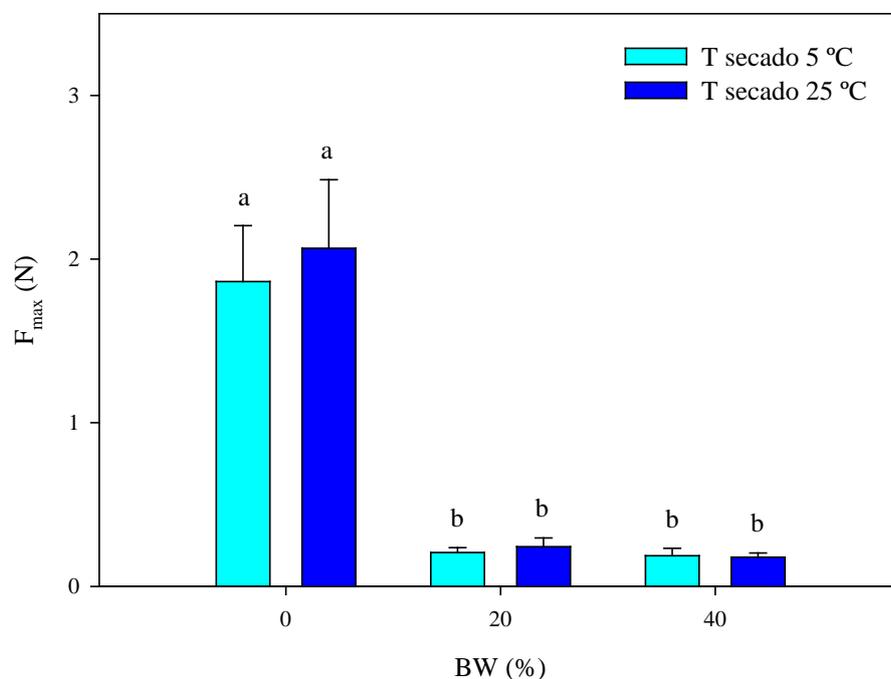


Figura 5.5. Fuerza máxima evaluada mediante el ensayo de punción de películas a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

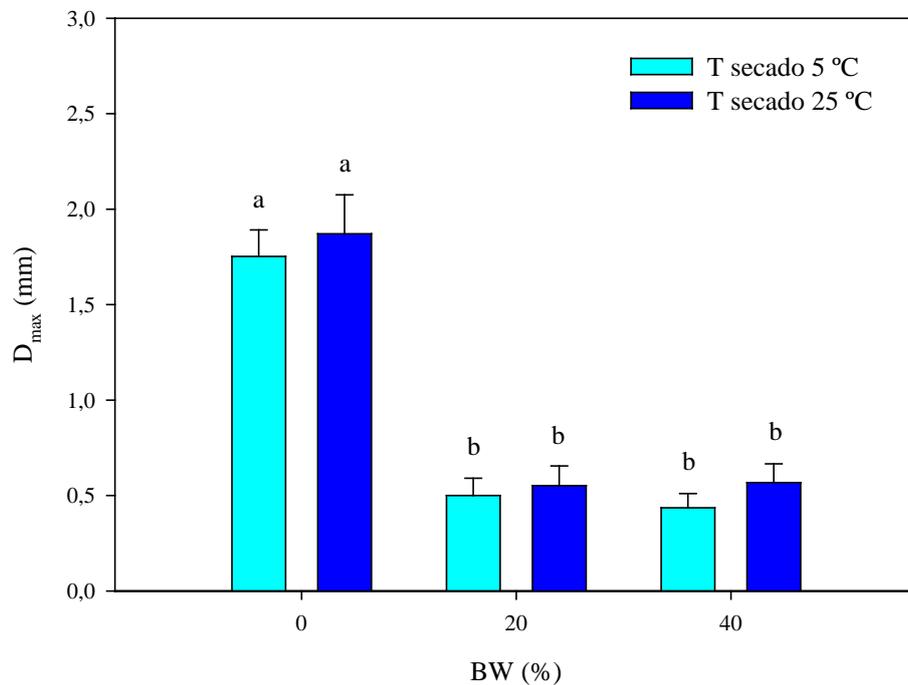


Figura 5.6. Deformación máxima evaluada mediante el ensayo de punción de películas a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Si bien el estudio microscópico de las distintas muestras de películas permitió observar diferencias tanto en la distribución lipídica como en ciertas características de la matriz proteica, dichos cambios no se vieron reflejados en los parámetros evaluados mediante el ensayo de punción.

Las Figuras 5.7, 5.8 y 5.9 muestran los parámetros esfuerzo a ruptura, deformación a ruptura y módulo elástico calculados a partir de las curvas fuerza-deformación de los distintos grupos de películas comestibles obtenidas en el ensayo de tracción.

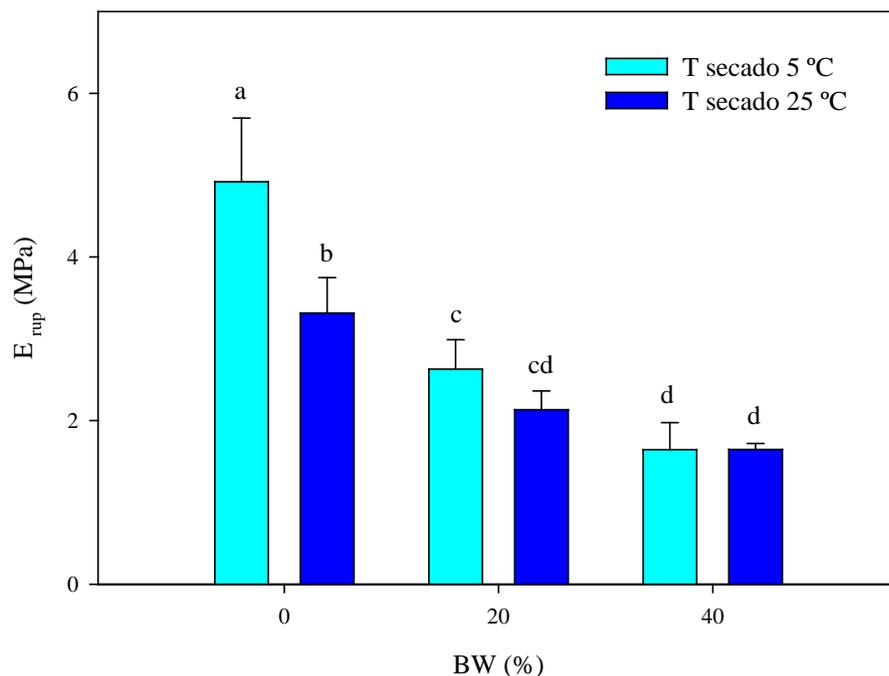


Figura 5.7. Esfuerzo a ruptura evaluado mediante el ensayo de tracción de películas a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

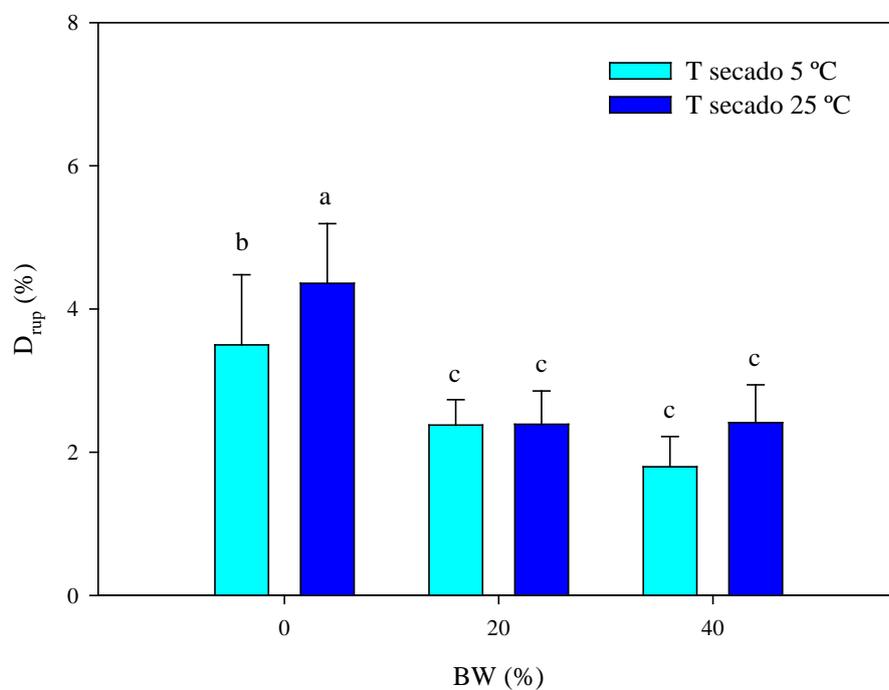


Figura 5.8. Deformación a ruptura evaluada mediante el ensayo de tracción de películas a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

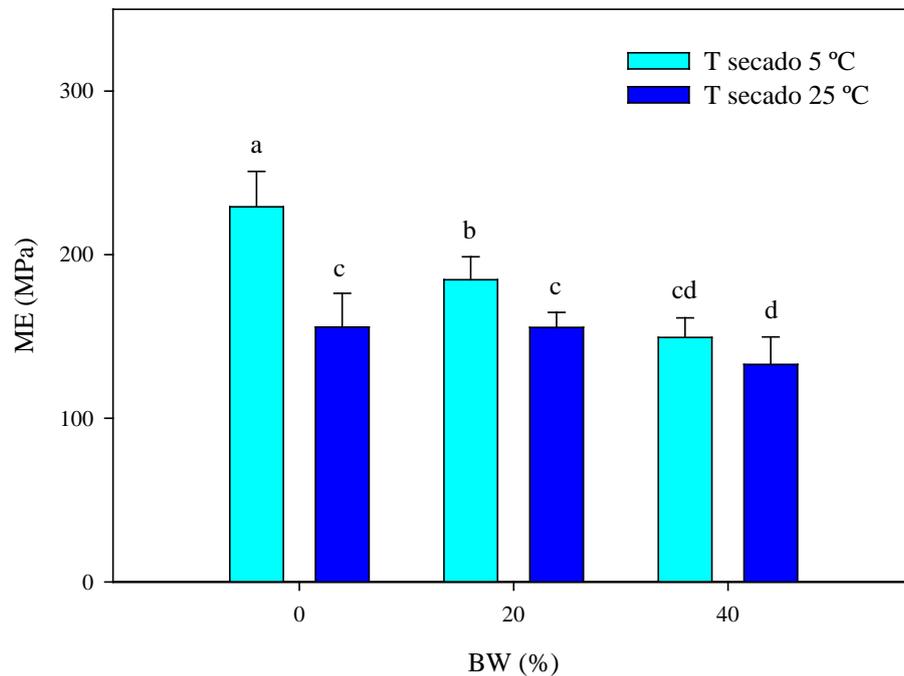


Figura 5.9. Módulo elástico evaluado mediante el ensayo de tracción de películas a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

La disminución de la temperatura de secado de 25 a 5 °C aumentó el esfuerzo a ruptura de las películas sin BW. En las formulaciones con BW, las películas con 20% mostraron una tendencia de aumento en dicho parámetro, mientras que aquellas con 40% no fueron afectadas por el cambio de la temperatura de secado. En el caso de la deformación a ruptura, las películas sin BW fueron menos deformables a 5 °C que a 25 °C. En cuanto al parámetro módulo elástico, se observó un aumento del mismo al disminuir la temperatura de secado, aunque en el caso de la formulación con 40% de BW el aumento no fue estadísticamente significativo.

El efecto de la temperatura de secado sobre las propiedades mecánicas de las películas comestibles fue estudiado por distintos investigadores. Entre ellos, Donhowe y

Fennema (1993) y Jangchud, y Chinnan (1999b) demostraron que las propiedades mecánicas de películas a base de metilcelulosa y a base de concentrado de proteínas de maní mejoraron con el incremento en la temperatura de secado de 25 a 100 °C y de 70 a 90 °C, respectivamente. Los resultados se atribuyeron a cambios en la morfología de la película y al hecho de que velocidades de secado mayores indujeron la cristalinidad de la metilcelulosa y el entrecruzamiento de las proteínas de maní. Por el contrario, Debeaufort y Voilley (1995) estudiando las propiedades de películas emulsionadas metilcelulosa-lípidos bajo distintas condiciones de secado (25 y 45 °C; 15 y 40% de HR y 0 y 2 m/s de velocidad de circulación de aire) observaron que tiempos prolongados de secado (logrados trabajando a temperaturas más bajas y mayor humedad relativa) mejoraron las propiedades mecánicas de las películas resultantes. En cuanto a las películas a base de proteínas del suero, Alcántara y col. (1998) observaron que el secado más rápido de soluciones formadoras de películas a base de WPI (95 °C y 30% de HR en comparación con 21 °C y 50% de HR) resultó en películas más rígidas, menos flexibles (mayor módulo elástico), pero tuvo un efecto pequeño sobre la resistencia de la película a la tracción y la deformación. En este caso, aumentando las velocidades de secado se obtuvieron películas a base de WPI más densas. Por otra parte, Pérez-Gago y Krochta (2000) secaron emulsiones a base de WPI a 25, 40 y 80 °C y hallaron que la temperatura de secado no tuvo ningún efecto significativo sobre la resistencia a la tracción, la deformación y el módulo elástico de las películas. Es importante remarcar que no se encontraron en la bibliografía analizada antecedentes referidos al estudio de las propiedades mecánicas de películas obtenidas a temperaturas de secado inferiores a la temperatura ambiente.

Debeaufort y col. (2000) estudiaron el efecto de la hidrofobicidad y el estado físico de un compuesto lipídico sobre las propiedades fisicoquímicas de películas comestible bicapa. Los autores hallaron que la fuerza en el punto de ruptura y la deformación fueron independientes de la capa lipídica y de su espesor. Por el contrario, el módulo de Young disminuyó exponencialmente con el aumento del espesor de la capa lipídica. Cuando el espesor de dicha capa disminuyó, el módulo de Young tendió a alcanzar el valor correspondiente a la matriz. Así, parecería que las propiedades mecánicas y el comportamiento de las películas bicapa solo dependen de la matriz.

Tal como se comentó en el caso del ensayo de punción, el estudio de la microestructura de las películas obtenidas en el presente trabajo reveló que la disminución de la temperatura de secado, y como consecuencia el aumento en el tiempo de secado, acentuó los fenómenos de desestabilización de las emulsiones generando modificando la microestructura de las películas resultantes. Si embargo, tales alteraciones no explican las variaciones halladas en los distintos parámetros evaluados en el ensayo de tracción.

El agregado de BW disminuyó el esfuerzo a ruptura de las películas a ambas temperaturas de secado estudiadas. El efecto del agregado de BW sobre la deformación a ruptura también fue la disminución de dicho parámetro, pero no se observó variación con el aumento de la concentración de dicho lípido. El módulo elástico de las películas disminuyó con el aumento de la concentración de BW en las películas obtenidas a 5 °C, pero en las formadas a 25 °C sólo un 40% de BW disminuyó dicho parámetro.

Similarmente a lo hallado en el presente trabajo en las películas obtenidas a 5 °C, Shellhammer y Krochta (1997), trabajando con películas a base de proteínas del suero,

observaron que el esfuerzo a ruptura y el módulo elástico disminuyeron y la elongación a ruptura permaneció constante cuando el contenido de lípido aumentó. Además, los autores mostraron que el efecto del agregado de lípido sobre parámetros mecánicos dependió del tipo de lípido incorporado en la formulación. Talens y Krochta (2005) también estudiaron el efecto de la incorporación de BW a películas a base de proteínas del suero y similarmente a lo hallado en la presente investigación, mostraron que el lípido tuvo un efecto plastificante sobre varias propiedades, incluyendo la reducción del esfuerzo a ruptura, el incremento de la flexibilidad y la capacidad de obtener películas empleando una menor proporción de Gli en relación a las proteínas del suero. En referencia a la justificación del efecto del agregado de un componente lipídico, Navarro-Tarazaga y col. (2008) explicaron que la incorporación de BW en la formulación causó la interrupción de la matriz continua de hidroxipropil metil celulosa induciendo el desarrollo de una estructura heterogénea. Al mantener en la formulación el nivel de sólidos totales constante, el contenido de hidroxipropil metil celulosa, que actúa como la matriz estructural de la película, disminuyó y dio lugar a películas de mayor fragilidad.

5.1.2. Efecto del proceso de congelación sobre las propiedades fisicoquímicas de las películas comestibles

5.1.2.1. Características de las películas comestibles

El proceso de congelación no afectó las características generales de las películas. Sin embargo, se observó visualmente que las formulaciones que contuvieron BW

mostraron una aparente disminución en su transparencia probablemente debido a la alteración de la distribución de los lípidos en la película.

5.1.2.2. Microscopía electrónica de barrido

La Figura 5.10 muestra micrografías electrónicas de barrido de películas a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW, sometidas al proceso de congelación. Puede observarse la sección transversal de las distintas muestras y los distintos lados de las películas, el lado superior o expuesto al aire y el inferior el cual estuvo en contacto con el molde durante la etapa de secado.

El análisis de las micrografías y la comparación con las películas Controles (Figura 5.1) mostró que el proceso de congelación no ocasionó fracturas ni perforaciones en las películas, aunque en las formulaciones sin BW se observaron puntos que podrían constituir pequeños huecos. Sí se evidenció una alteración en la morfología del lípido situado en la superficie, mostrando un cierto aspecto aplanado. Además, los huecos en la matriz, ocupados por los lípidos, fueron mucho menos visibles que en las películas que no fueron congeladas. Esta última observación podría evidenciar una cierta reorganización de la matriz proteica.

5.1.2.3. Permeabilidad al vapor de agua

La Tabla 5.4 muestra los valores de WVP de películas a base de WPC Congeladas y Controles obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW. Como puede observarse, las películas sin BW no fueron afectadas por el proceso de congelación

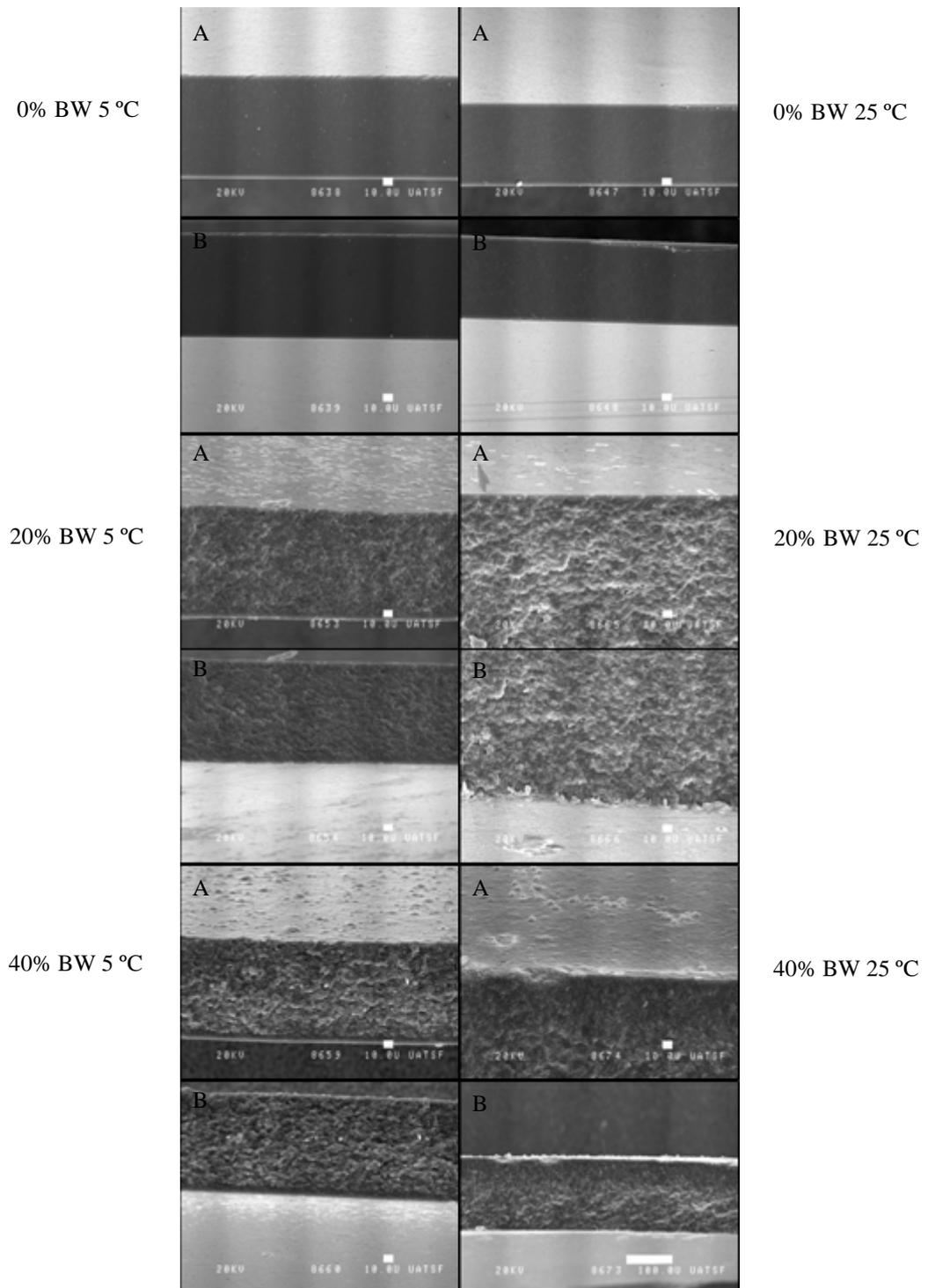


Figura 5.10. Micrografías electrónicas de barrido de secciones transversales de películas a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW, sometidas al proceso de congelación. A: mostrando el lado expuesto al aire y B: mostrando el lado en contacto con el molde, durante la etapa de secado.

pero en el caso de las películas con BW el efecto de dicho proceso dependió de la temperatura de secado y del contenido de BW. Así, la formulación con 40% de BW obtenida a 5 °C mostró valores significativamente superiores cuando fue sometida al proceso de congelación mientras que la formulación con 20% de BW obtenida a 25 °C valores significativamente inferiores. Los valores de WVP de las películas obtenidas a 5 °C con 20% de BW y de las películas obtenidas a 25 °C con 40% de BW no fueron afectados por el proceso de congelación.

Kamper y Fennema (1984b) estudiaron el efecto de la composición, humedad relativa y temperatura de almacenamiento sobre la WVP de películas bicapa hidroxipropil metil celulosa/ácidos grasos preparadas según el método de emulsión explicado por Kamper y Fennema (1984a). Dichos autores analizaron la WVP de las películas almacenadas hasta 30 horas a 40, 25, 5 y -19 °C y observaron que la WVP se incrementó a medida que la temperatura se elevó o disminuyó de 25 °C. Como anticiparon, la WVP se incrementó a medida que la temperatura aumentó de 25 a 40 °C. Sin embargo, inesperadamente observaron que la WVP aumentó a medida que la temperatura de almacenamiento disminuyó de 25 a 5 y a -19 °C. Los autores explicaron este incremento en la WVP a medida que la temperatura disminuyó por debajo de 25 °C sobre la base de la hidratación de la película a bajas temperaturas lo cual favoreció el incremento en la permeabilidad. La posibilidad de microfracturas debidas a la rigidez lipídica acoplada con la contracción lipídica fue descartada cuando compararon los valores de permeabilidad con los de películas sometidas a perforaciones intencionales.

Además, Kester y Fennema (1989) estudiaron el efecto del almacenamiento a bajas temperaturas sobre las características de barrera de películas de hidroxipropil

metil celulosa laminadas con cera almacenando las películas durante 3 y 9 semanas a -40 °C. Dichos autores hallaron un pequeño incremento en la WVP posiblemente debido a pequeñas imperfecciones que podrían desarrollarse en las películas debido a fluctuaciones en la temperatura de almacenamiento y a la contracción y expansión de los lípidos. Si hubieran ocurrido roturas o fracturas mayores, se hubiera anticipado una elevación dramática en la permeabilidad. Más aun, Labuza y Contreras-Medellin (1981) citado por Kamper y Fennema (1984b) observaron que algunos materiales de envases, como por ejemplo el poliestireno, mostraron mayor permeabilidad a -30 que a 35 °C.

El análisis de las micrografías electrónicas de barrido de las distintas formulaciones de películas Congeladas evidenció una alteración en la morfología del lípido situado en la superficie, mostrando un cierto aspecto aplanado. Kester y Fennema (1989) mostraron que la morfología del lípido se relaciona con la permeabilidad al vapor de agua de la película comestible. Posiblemente, el estudio de la estructura cristalina de la cera de abejas en las películas Congeladas y Controles podría ayudar a determinar si los lípidos con la morfología aplanada presentes en las películas congeladas son menos eficientes para reducir la transferencia de vapor de agua. Si tal fuera el caso, podríamos explicar el aumento en la WVP de las películas Congeladas con 40% de BW obtenidas a 5 °C. Por otra parte, probablemente hubo una reorganización de la matriz proteica. Las películas con 20% de BW formadas a 25 °C se caracterizaron por presentar una baja proporción de lípidos en la superficie, por lo cual parece inapropiado justificar el efecto de disminución en la WVP observado en función de la alteración de los mismos. Posiblemente, una modificación de la matriz para

generar un patrón más compacto podría justificar el hecho de que las películas Congeladas fueran menos permeables que las Controles.

5.1.2.4. Solubilidad en agua

La Tabla 5.4 muestra los valores de Solubilidad de películas a base de WPC Congeladas y Controles obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW. Ambos grupos de películas fueron parcialmente solubles (valores de solubilidad entre 13,6 y 39,4%) manteniendo su integridad durante la inmersión.

El proceso de congelación sólo tuvo un efecto significativo sobre la solubilidad en agua de las formulaciones que contuvieron BW obtenidas a 25 °C, las cuales mostraron valores superiores en comparación con los respectivos Controles.

Tabla 5.4. WVP y solubilidad de películas a base de proteínas del suero Congeladas y Controles.

Congelación	TS (°C)	BW(%)	WVP(g mm/m² h kPa)	S (%)
Si	5	0	3.76±0.19 ^a	38.4±5.1 ^a
No	5	0	3.48±0.17 ^{abc}	39.4±5.0 ^a
Si	5	20	3.29±0.15 ^{bcd}	34.8±6.3 ^{ab}
No	5	20	3.07±0.14 ^{de}	27.1±3.4 ^{bcd}
Si	5	40	3.38±0.15 ^{bcd}	31.1±4.1 ^{abc}
No	5	40	2.56±0.08 ^f	22.4±1.7 ^{cde}
Si	25	0	3.31±0.19 ^{bcd}	34.4±2.8 ^{ab}
No	25	0	3.54±0.11 ^{ab}	36.6±3.4 ^a
Si	25	20	2.73±0.23 ^{ef}	31.5±3.1 ^{abc}
No	25	20	3.39±0.17 ^{bcd}	18.3±5.6 ^{de}
Si	25	40	3.19±0.14 ^{cd}	34.9±3.1 ^{ab}
No	25	40	3.09±0.11 ^d	13.6±2.9 ^e

TS: Temperatura de secado.

S: Solubilidad

Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05).

5.1.2.6. Sorción de agua

Isotermas de sorción de agua

La Figura 5.11 muestra los valores experimentales de EMC de películas a base de WPC Congeladas y Controles obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW. Las isotermas de las películas Congeladas mostraron una curva de tipo sigmoidea y un comportamiento similar a lo descrito para las películas Controles (Sección 5.1.1.6) destacándose el lento incremento en los valores de EMC hasta $a_w=0,58$, seguido por un aumento abrupto. El efecto del proceso de congelación sobre el EMC dependió de la región de a_w . Aunque el proceso de congelación produjo leves diferencias en los valores de EMC, aquellas diferencias fueron más notorias a valores elevados de a_w . Sólo en el caso de las películas sin BW obtenidas a 25 °C los valores de EMC fueron superiores para las películas Congeladas casi en el rango completo de a_w estudiado.

Modelado de las isotermas de sorción de agua

Las Tablas 5.5, 5.6 y 5.7 muestran los parámetros calculados, los coeficientes de determinación y los errores de ajuste para los modelos BET, GAB y Peleg, respectivamente.

Como puede apreciarse en las Tablas y de acuerdo a la definición dada por Gennadios y Weller (1994) resumida en la sección 5.1.1.6 todos los modelos describieron apropiadamente el comportamiento de adsorción de humedad de las

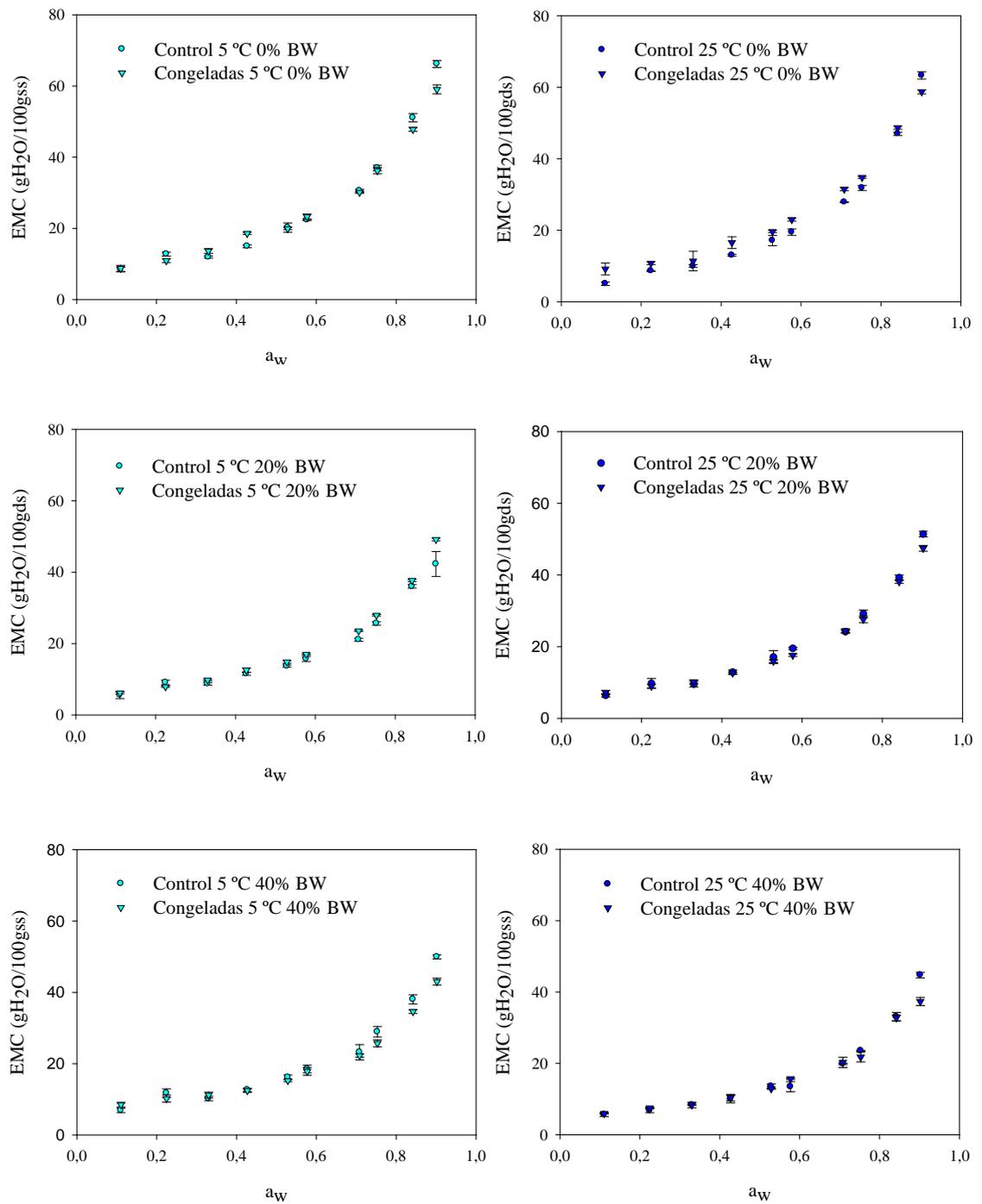


Figura 5.11. EMC de películas Congeladas y Controles a base de WPC obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW.

Tabla 5.5. Parámetros calculados, coeficiente de determinación y error de ajuste para el modelo de BET

Congelación	TS (°C)	BW (%)	k₀	k₁	R²	Error (%)^a
Si	5	0	8,97	58,88	0,94	11,48
No	5	0	8,83	45,33	0,96	9,04
Si	5	20	6,95	32,34	0,96	8,07
No	5	20	6,31	29,94	0,94	10,60
Si	5	40	7,30	55,65	0,96	17,09
No	5	40	7,53	6,23	0,97	12,92
Si	25	0	8,89	53,63	0,94	11,72
No	25	0	8,07	9,98	0,98	7,19
Si	25	20	7,18	53,62	0,95	9,83
No	25	20	7,13	32,60	0,96	11,39
Si	25	40	5,67	120,53	0,92	10,80
No	25	40	5,78	53,36	0,98	5,98

TS: Temperatura de secado.

^a Calculado de acuerdo a Coupland y col. (2000).

Tabla 5.6. Parámetros calculados, coeficiente de determinación y error de ajuste para el modelo de GAB

Congelación	TS (°C)	BW (%)	m₀	C	k	R²	Error (%)^a
Si	5	0	10,54	25,56	0,93	0,99	3,98
No	5	0	10,78	22,37	0,93	1,00	5,16
Si	5	20	8,34	15,27	0,93	1,00	2,81
No	5	20	7,40	25,52	0,93	0,99	5,54
Si	5	40	8,18	98,75	0,90	1,00	2,44
No	5	40	8,27	25,61	0,93	0,99	5,43
Si	25	0	9,89	98,75	0,95	0,98	7,56
No	25	0	8,02	18,33	0,97	0,99	7,50
Si	25	20	8,52	21,61	0,93	1,00	3,09
No	25	20	8,33	25,60	0,93	0,99	5,80
Si	25	40	6,88	30,57	0,91	0,98	4,48
No	25	40	6,23	25,20	0,97	0,99	3,61

TS: Temperatura de secado.

^a Calculado de acuerdo a Coupland y col. (2000).

Tabla 5.7. Parámetros calculados, coeficiente de determinación y error de ajuste para el modelo de Peleg

Congelación	TS (°C)	BW (%)	k₁	k₂	n₁	n₂	R²	Error (%)^a
Si	5	0	60,45	22,03	4,53	0,43	1,00	3,40
No	5	0	66,32	13,37	3,49	0,18	0,98	8,77
Si	5	20	55,00	16,97	5,07	0,46	1,00	2,55
No	5	20	49,25	16,57	5,36	0,49	0,99	6,53
Si	5	40	45,06	13,96	4,39	0,23	1,00	1,97
No	5	40	50,95	17,47	4,91	0,44	0,99	1,32
Si	25	0	61,65	17,07	3,82	0,28	1,00	4,03
No	25	0	70,21	20,75	5,31	0,63	0,99	4,66
Si	25	20	49,68	16,49	4,55	0,41	1,00	2,37
No	25	20	51,79	15,74	4,26	0,41	0,99	5,33
Si	25	40	39,00	11,62	3,89	0,31	0,99	2,93
No	25	40	50,73	17,30	6,05	0,64	0,99	6,76

TS: Temperatura de secado.

^a Calculado de acuerdo a Coupland y col. (2000).

películas aunque algunas formulaciones mostraron un ajuste pobre cuando se aplicó el modelo de BET. Los modelos de GAB y de Peleg mostraron el mismo de orden de magnitud en los errores pero el modelo de Peleg requiere un parámetro de ajuste adicional. Como consecuencia, el modelo de GAB fue considerado el más apropiado para modelar las isotermas de sorción de las películas congeladas y controles. En el caso de los parámetros del modelo de GAB (m_0 , C y k), el parámetro C fue el más sensible al proceso de congelación (Tabla 5.6). Aunque el parámetro m_0 mostró un cambio leve, no se halló ninguna tendencia clara. El parámetro k, por otra parte, permaneció casi invariable.

5.1.2.6. Propiedades mecánicas

La Tabla 5.8 muestra la fuerza máxima y deformación máxima en el punto de punción de películas a base de WPC Congeladas y Controles obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW.

El proceso de congelación incrementó la fuerza en el punto de punción de las películas sin BW obtenidas a 5 °C. Las películas Congeladas obtenidas a 25 °C también mostraron una tendencia de aumento en la resistencia a la punción, aunque no fue estadísticamente significativa. La deformación de las películas no fue afectada por el proceso de congelación.

Tabla 5.8. Efecto del proceso de congelación sobre los parámetros derivados del ensayo de punción

Congelación	TS (°C)	BW (%)	F_{max} (N)	D_{max} (mm)
Si	5	0	2,20±0,28 ^a	1,92±0,19 ^a
No	5	0	1,86±0,34 ^b	1,75±0,14 ^a
Si	5	20	0,25±0,07 ^c	0,55±0,11 ^{bc}
No	5	20	0,21±0,03 ^c	0,50±0,09 ^{bc}
Si	5	40	0,15±0,03 ^c	0,45±0,06 ^{bc}
No	5	40	0,19±0,04 ^c	0,44±0,07 ^c
Si	25	0	2,33±0,41 ^a	1,93±0,18 ^a
No	25	0	2,07±0,42 ^{ab}	1,87±0,20 ^a
Si	25	20	0,22±0,05 ^c	0,64±0,13 ^b
No	25	20	0,24±0,05 ^c	0,55±0,10 ^{bc}
Si	25	40	0,19±0,03 ^c	0,54±0,12 ^{bc}
No	25	40	0,18±0,03 ^c	0,57±0,10 ^{bc}

TS: Temperatura de secado.

F_{max}: Fuerza máxima.

D_{max}: Deformación máxima.

Los datos corresponden a los valores medios y desviaciones estándar de 10 muestras.

Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05).

La Tabla 5.9 muestra la fuerza y deformación en el punto de punción de películas a base de WPC Congeladas y Controles obtenidas a 5 y 25 °C y formuladas con 0, 20 y 40% de BW.

Las películas obtenidas a 5 °C mostraron una disminución en el esfuerzo a ruptura y en módulo elástico. Cuando el secado se produjo a 25 °C, la formulación sin BW evidenció un aumento en dichos parámetros mientras que las formulaciones que contuvieron BW mostraron parámetros mecánicos similares a los de las películas Controles. La elongación, por otra parte, no fue afectada por el proceso de congelación en la mayoría de las formulaciones.

Tabla 5.9. Efecto del proceso de congelación sobre los parámetros derivados del ensayo de tracción.

Congelación	DT (°C)	BW (%)	E_{rup} (MPa)	D_{rup} (%)	ME (MPa)
Si	5	0	3,69±0,43 ^b	4,99±0,59 ^a	155±9 ^c
No	5	0	4,92±0,78 ^a	3,50±0,98 ^b	229±22 ^a
Si	5	20	1,10±0,10 ^{ef}	2,30±0,23 ^c	109±9 ^e
No	5	20	2,63±0,36 ^c	2,38±0,36 ^c	185±12 ^b
Si	5	40	1,10±0,22 ^f	1,89±0,35 ^c	103±9 ^e
No	5	40	1,64±0,33 ^{def}	1,80±0,42 ^c	149±12 ^{cd}
Si	25	0	4,66±0,48 ^a	4,37±0,65 ^a	190±13 ^b
No	25	0	3,31±0,43 ^b	4,36±0,83 ^a	156±21 ^c
Si	25	20	2,09±0,18 ^{cd}	2,38±0,27 ^c	148±6 ^{cd}
No	25	20	2,13±0,23 ^{cd}	2,39±0,47 ^c	155±9 ^c
Si	25	40	1,73±0,33 ^{de}	2,25±0,55 ^c	152±22 ^{cd}
No	25	40	1,65±0,07 ^{def}	2,41±0,53 ^c	133±17 ^d

TS: Temperatura de secado.

E_{rup}: Esfuerzo a ruptura.

D_{rup}: Deformación a ruptura.

ME: Módulo elástico.

Los datos corresponden a los valores medios y desviaciones estándar de 10 muestras.

Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05).

5.2. Frutillas

5.2.1. Aplicación de recubrimientos comestibles como tratamiento previo a la congelación de frutillas en cámara ambiental

5.2.1.1. Pérdida de peso

La Figura 5.12 muestra la pérdida de peso luego de la congelación/descongelación de frutillas controles y recubiertas expresada como porcentaje respecto del peso inicial de las frutas. Como es evidente en la Figura, la aplicación del recubrimiento comestible no fue efectiva para prevenir la migración de humedad desde la fruta al ambiente durante el proceso de congelación, con lo cual las frutas recubiertas sufrieron pérdidas de peso similares a las controles.

Han y col. (2004) mostraron que la aplicación de recubrimientos comestibles a base de quitosano con el agregado de calcio y vitamina E redujo significativamente la pérdida de peso por liberación de exudado de frutillas de variedad Totem congeladas en un freezer provisto de túnel de aire, almacenadas en freezer hasta 6 meses y luego descongeladas, en comparación con el grupo control sumergido en agua. La reducción fue como mínimo del 24% y no observaron diferencias significativas de acuerdo a la composición del recubrimiento aplicado. Los autores observaron que los recubrimientos aplicados soportaron el proceso de congelación y evitaron la pérdida de humedad de la fruta al ambiente durante la congelación y la descongelación.

Es importante destacar que las diferencias entre nuestros resultados y los reportados por Han y col. (2004) pueden estar relacionadas con la diferencia en las soluciones formadoras de recubrimientos pero también con las distintas variedades de frutillas: Totem, en el caso de Han y col. (2004) y Winter Down en nuestro trabajo. Al respecto, Cordenunsi y col. (2003) realizaron estudios de almacenamiento refrigerado de cinco variedades de frutillas y observaron que los distintos parámetros evaluados variaron significativamente en función del cultivar analizado. Así, la variedad de frutilla estudiada demostró ser una variable significativa en cuanto a los valores de los parámetros de calidad iniciales y a la respuesta frente a la refrigeración como tratamiento para mantener los atributos de calidad.

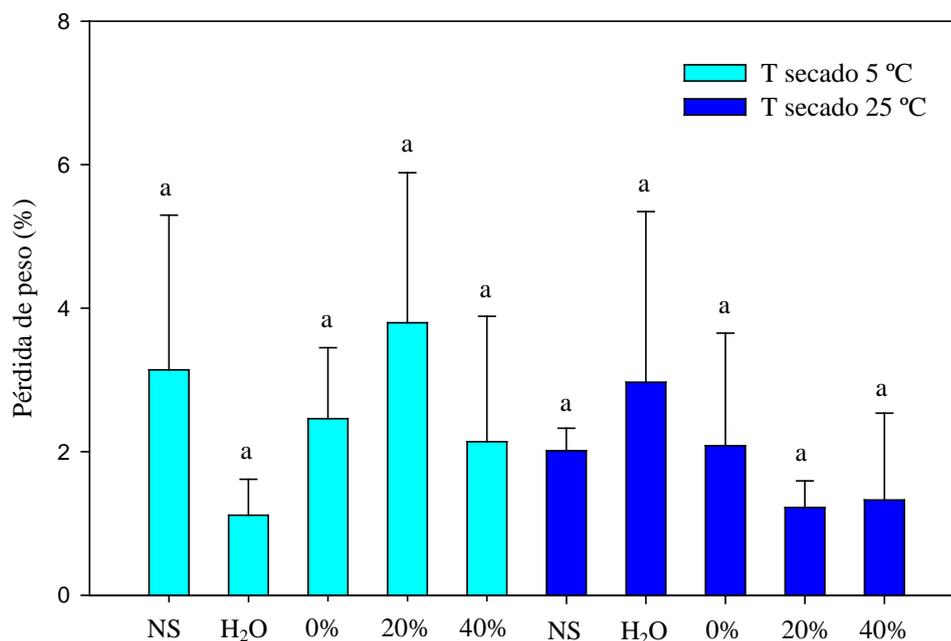


Figura 5.12. Pérdida de peso de frutillas controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW, congeladas/descongeladas. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

La aplicación de otros tratamientos previos a la congelación de frutillas mostró resultados variados. Suutarinen y col. (2000a) trataron frutillas de variedad Jonsok con cloruro de calcio y sacarosa previamente a someterlas a congelación en un freezer industrial a -20 °C sin ventilación mecánica y estudiaron el efecto de dichos tratamientos sobre distintos parámetros de calidad de las frutillas congeladas/descongeladas. La comparación con el grupo de frutillas sumergido en agua y con el control no sumergido reveló que ningún pre-tratamiento afectó la pérdida de peso por liberación de exudado. Galetto y col. (2010) congelaron frutillas variedad Camarosa por inmersión en soluciones de cloruro de calcio y analizaron el efecto del tratamiento previo con pectinmetilesterasa sobre distintas propiedades fisicoquímicas de las frutas. En el caso de la pérdida de peso, el tratamiento previo efectuado no produjo ningún beneficio adicional en comparación con las muestras control. Por otra parte, Velickova y col. (2011) emplearon soluciones de trehalosa y de extracto de proteínas de brotes de trigo como agentes crioprotectores y observaron una disminución de la pérdida de peso de las frutillas congeladas/descongeladas tratadas con ambos compuestos, tanto cuando se aplicaron individualmente como cuando se emplearon combinados.

5.2.1.2. Firmeza

Las Figuras 5.13 y 5.14 muestran los parámetros texturales de frutillas frescas, controles y recubiertas calculados a partir de las curvas de fuerza-deformación obtenidas en el ensayo de penetración.

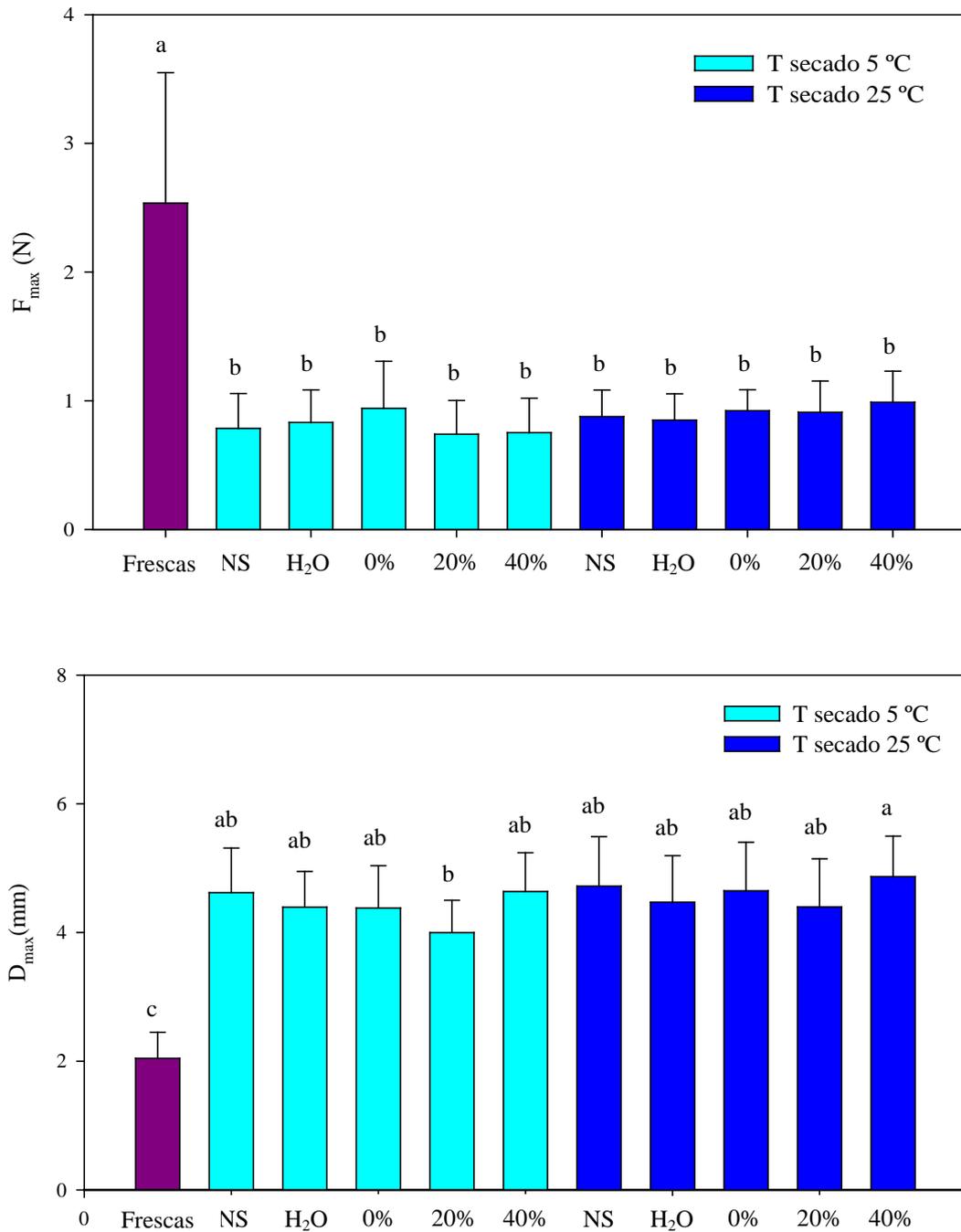


Figura 5.13. Fuerza máxima y deformación máxima de frutillas frescas, controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW, congeladas/descongeladas. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

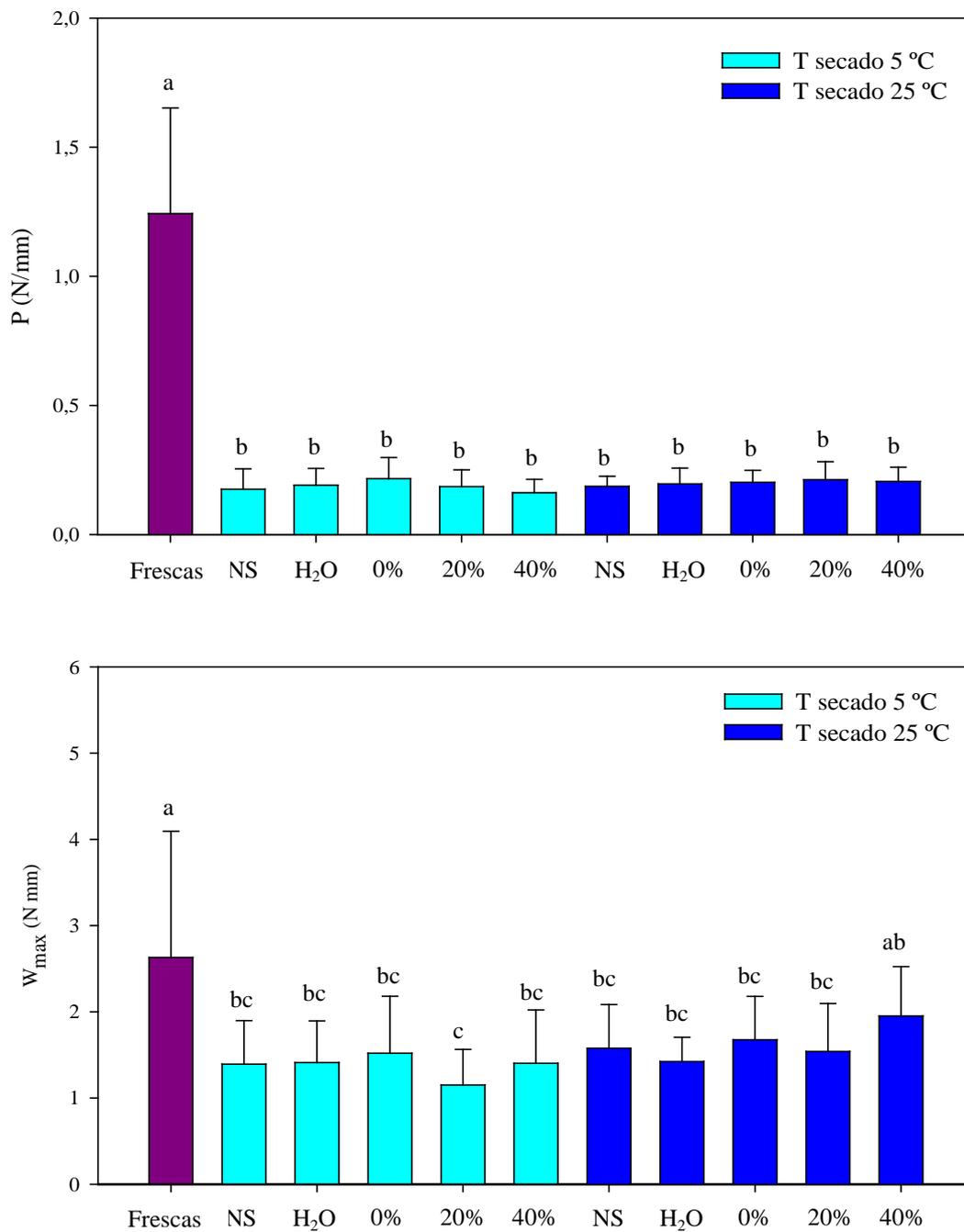


Figura 5.14. Pendiente y trabajo máximo de frutillas frescas, controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW, congeladas/descongeladas. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Las frutillas congeladas/descongeladas mostraron valores de fuerza máxima, pendiente y trabajo máximo significativamente inferiores; y valores de deformación máxima significativamente superiores en comparación con las frutillas frescas. La comparación de los parámetros texturales calculados para los distintos grupos de frutillas recubiertas con aquellos de los grupos controles sumergidos en agua y no sumergidos, reveló que la aplicación de los recubrimientos comestibles no fue efectiva en prevenir el efecto del proceso de congelación sobre la alteración de la textura de las frutillas.

En la presente tesis se observó una correlación entre la disminución de la firmeza de las frutillas y la pérdida de peso de las mismas. Según Galetto (2006), la lisis celular debida a la formación de cristales de hielo durante la congelación produce, entre otros efectos, una pérdida irreversible de turgencia en la estructura de la fruta, y especialmente en frutas con textura delicada, como la frutilla, esto se manifiesta en la pérdida de firmeza. En efecto, como se explicará más adelante, la pérdida de turgencia y como consecuencia la alteración de la forma y tamaño de las células de muestras de frutillas congeladas/descongeladas fue confirmada mediante microscopía óptica.

Han y col. (2004) evaluaron la firmeza de frutillas y mostraron que la aplicación de recubrimientos comestibles a base de quitosano mejoró significativamente la firmeza de las frutas congeladas/descongeladas en comparación con el grupo control sumergido en agua destilada. Así, los autores probaron su hipótesis de que los recubrimientos comestibles controlaron la migración de humedad desde la fruta, preservando la integridad y textura luego de la descongelación. El mejor resultado lo obtuvieron con el recubrimiento que contuvo calcio, probablemente debido a que el calcio puede

interactuar con el ácido péctico en la pared celular para formar pectato de calcio, un compuesto que contribuye a mantener la estructura de la fruta.

En cuanto al efecto de otros tratamientos previos sobre la retención de la firmeza de frutillas congeladas/ descongeladas, Suutarinen y col. (2002a) publicaron que frutillas tratadas con cloruro de calcio y luego congeladas/ descongeladas mostraron valores de firmeza similares al control sin tratar, mientras que las muestras de frutillas tratadas con cloruro de calcio y PME y cloruro de calcio y sacarosa fueron significativamente más firmes en comparación con dicho control. Galetto y col. (2010) observaron que el tratamiento con PME previamente a la congelación por inmersión en solución de cloruro de calcio no fue beneficioso para mantener la firmeza de las frutillas congeladas/descongeladas.

5.2.1.3. Características estructurales evaluadas mediante microscopía óptica

La Figura 5.15 muestra micrografías ópticas de secciones de muestras de frutillas frescas, controles y recubiertas teñidas con azul de toluidina.

Como puede observarse en las micrografías, la comparación con las muestras de frutillas frescas indicó que la estructura celular de las muestras de frutillas congeladas fue dañada como consecuencia del proceso de congelación, observándose una alteración del tamaño y forma de las células y un cierto grado de ruptura celular. La aplicación de las distintas formulaciones de recubrimientos comestibles no fue efectiva en mitigar el daño a nivel de la estructura celular ocasionado por el proceso de congelación.

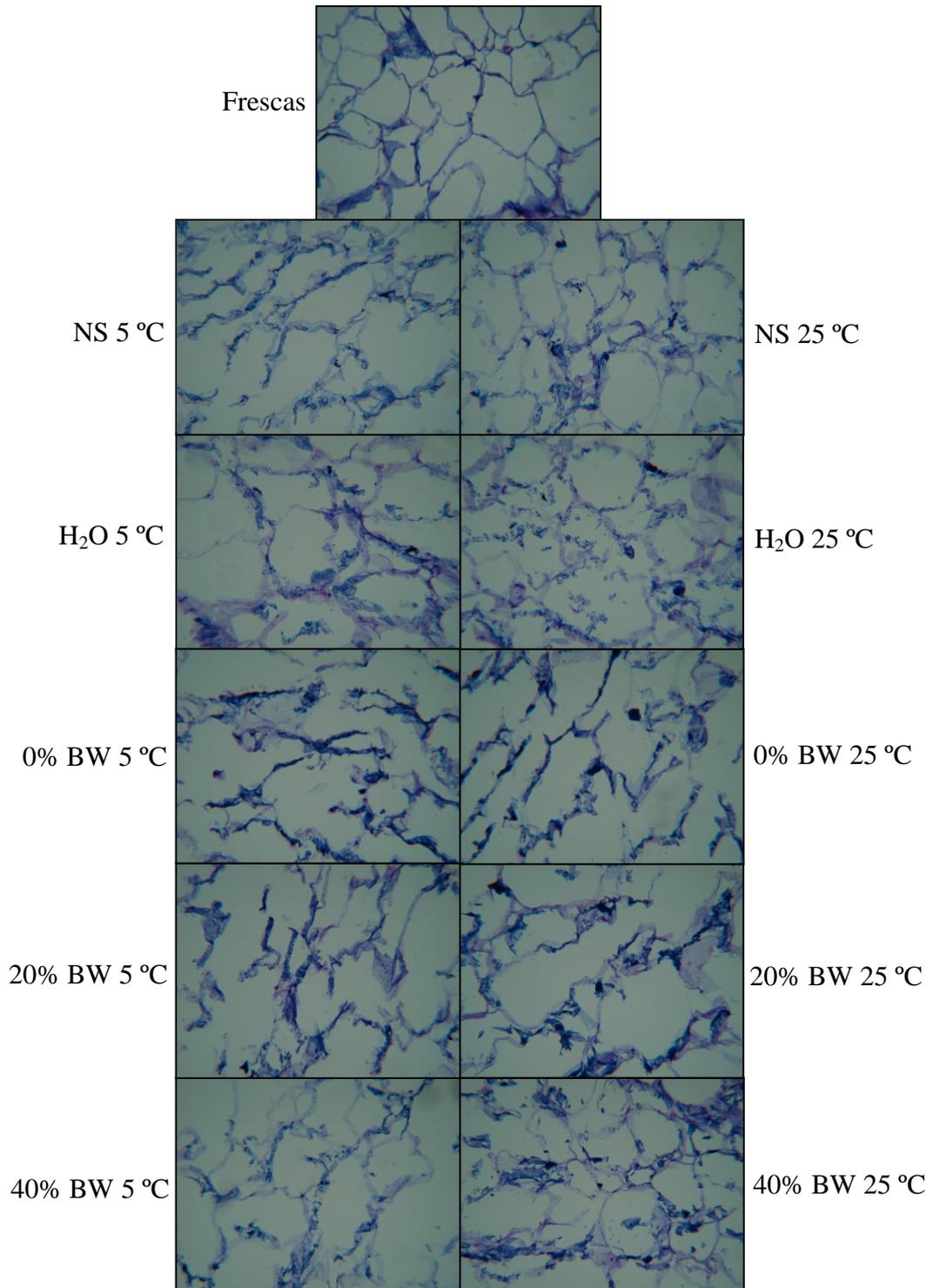


Figura 5.15. Micrográficas ópticas de secciones de frutillas frescas, controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW, congeladas/descongeladas.

El efecto de distintos tratamientos previos a la congelación sobre la microestructura de muestras de frutillas fue estudiado por otros autores.

Suutarinen y col. (2002a) emplearon colorantes específicos para pectina, proteínas y lignina y estudiaron la localización de dichos componentes en muestras de frutillas de variedad Jonsok congeladas en freezer con túnel de nitrógeno líquido a -80 °C, almacenadas durante 2 meses y descongeladas. Los autores compararon muestras de referencia (sin tratar) y tratadas con cloruro de calcio y PME bajo vacío. Ni las proteínas ni la lignina mostraron diferencias entre las muestras. Tanto las células corticales como el tejido vascular de las muestras de referencia mostraron paredes celulares ricas en pectina más deterioradas que las muestras tratadas con cloruro de calcio y PME. Los autores concluyeron que ambos tratamientos presumiblemente estabilizaron la estructura original de las frutillas durante la congelación pero además, también contribuyó a la estabilización observada el tamaño pequeño de la variedad de frutilla empleada en la investigación, dado que las células pequeñas son más resistentes al daño por congelación que las células más grandes.

Van Buggenhout y col. (2008) estudiaron mediante una coloración con azul de toluidina la relación estructura/ procesamiento de tejidos de frutilla infundidos al vacío con PME y calcio y luego congelados bajo diferentes condiciones y mostraron las diferencias entre las células intactas de las muestras no congeladas y las células dañadas en las muestras congeladas. Según dichos autores, independientemente del proceso de congelación efectuado, la formación de cristales de hielo dañó el delicado tejido de las muestras de frutillas. En relación al efecto de los tratamientos previos practicados,

podrían ser convenientes para proteger el tejido sometido a congelación, pero siempre y cuando las condiciones del proceso de congelación sean adecuadamente optimizadas.

Reno y col. (2011) trataron frutillas con soluciones de pectina y cloruro de calcio aplicadas mediante impregnación al vacío y mostraron que la formación de cristales de hielo durante la congelación se inició en el espacio intercelular y resultó en un daño acentuado de la estructura del tejido. Además, las muestras tratadas con la mayor concentración de pectina presentaron una estructura más preservada en comparación con las demás muestras.

5.2.1.4. Color superficial

La Figura 5.16 muestra fotografías digitales representativas de los distintos grupos de frutillas. El análisis de las imágenes digitales permitió obtener los parámetros de color L^* , a^* y b^* representados en las Figuras 5.17, 5.18 y 5.17, respectivamente.

El parámetro L^* mide la luminosidad o brillantez de la muestra, a^* mide la tonalidad del color verde al rojo y b^* las tonalidades de azul a amarillo (Moreno Pérez y col., 2006).

Las muestras de frutillas recubiertas y controles congeladas mostraron valores del parámetro L^* similares a los de las frutillas frescas. Las frutillas congeladas no sumergidas y sumergidas en H_2O (a ambas temperaturas de secado) presentaron valores del parámetro a^* similares a las frescas mientras que la aplicación de las 3 formulaciones de recubrimientos comestibles disminuyó el parámetro a^* de las muestras congeladas, no habiendo diferencias significativas de acuerdo a la

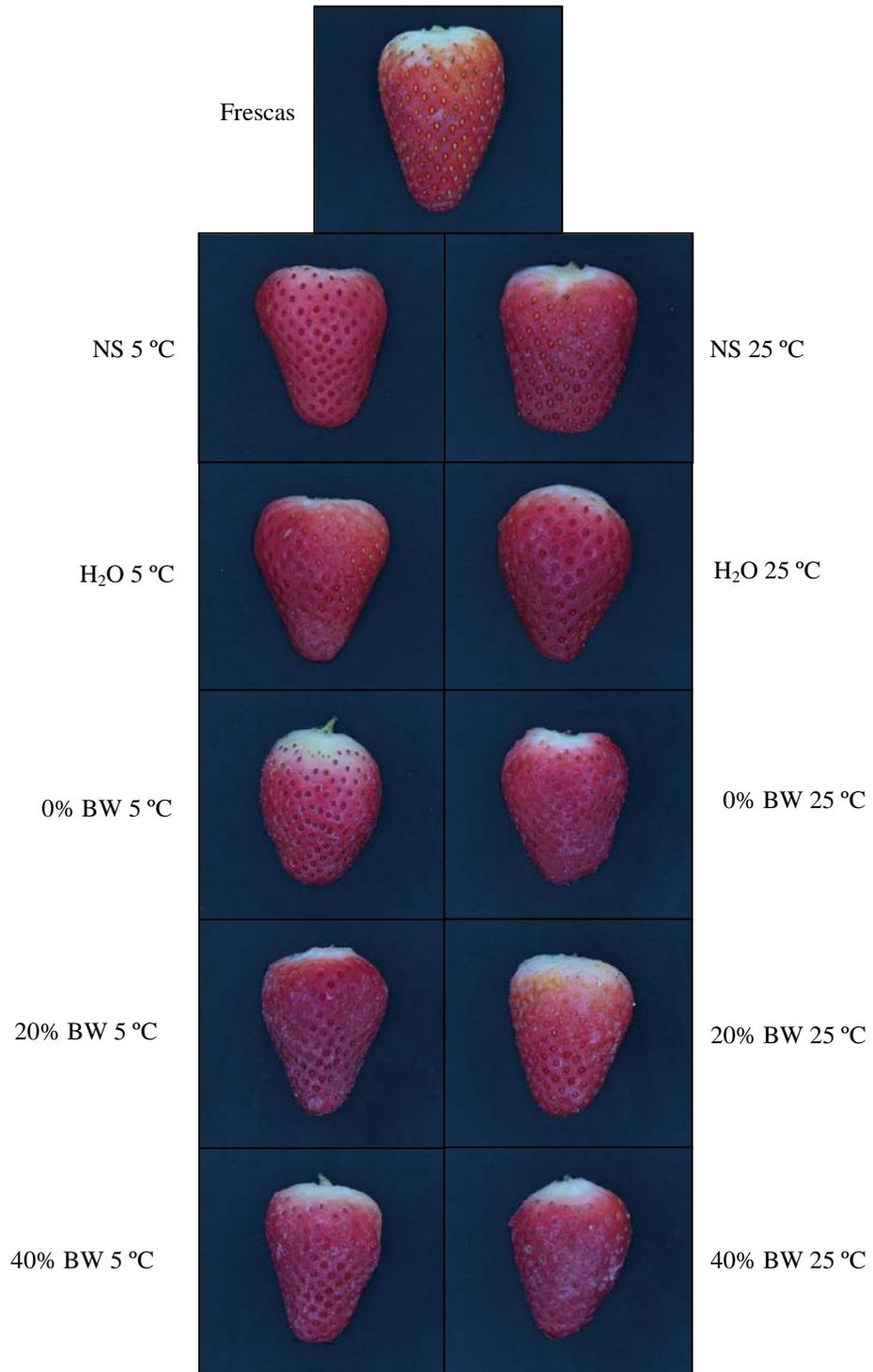


Figura 5.16. Fotografías digitales de frutillas frescas, controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW, congeladas/descongeladas.

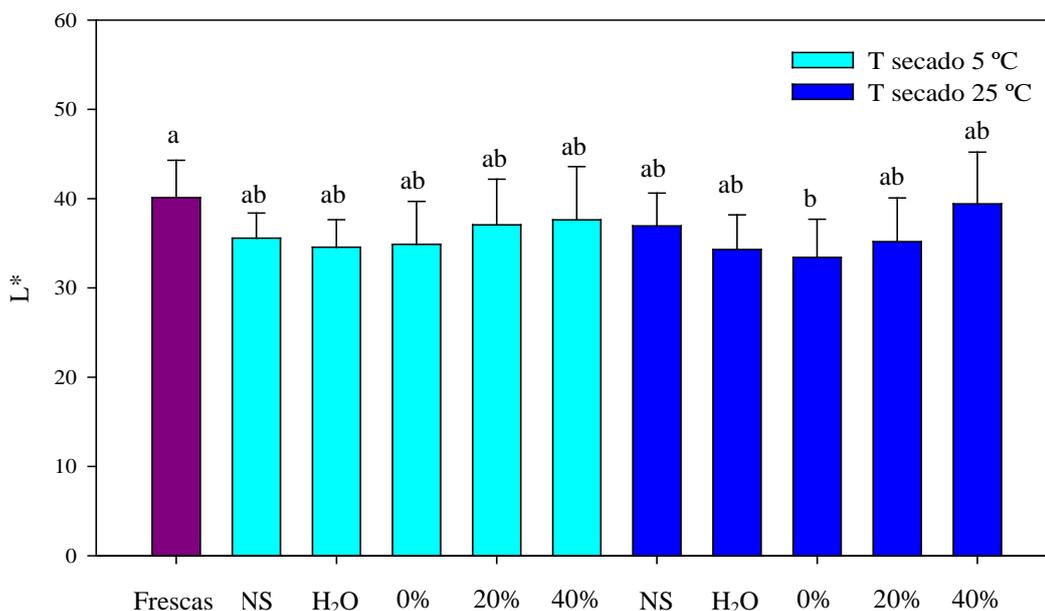


Figura 5.17. Parámetro de color L* de frutillas frescas, controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW, congeladas/descongeladas. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

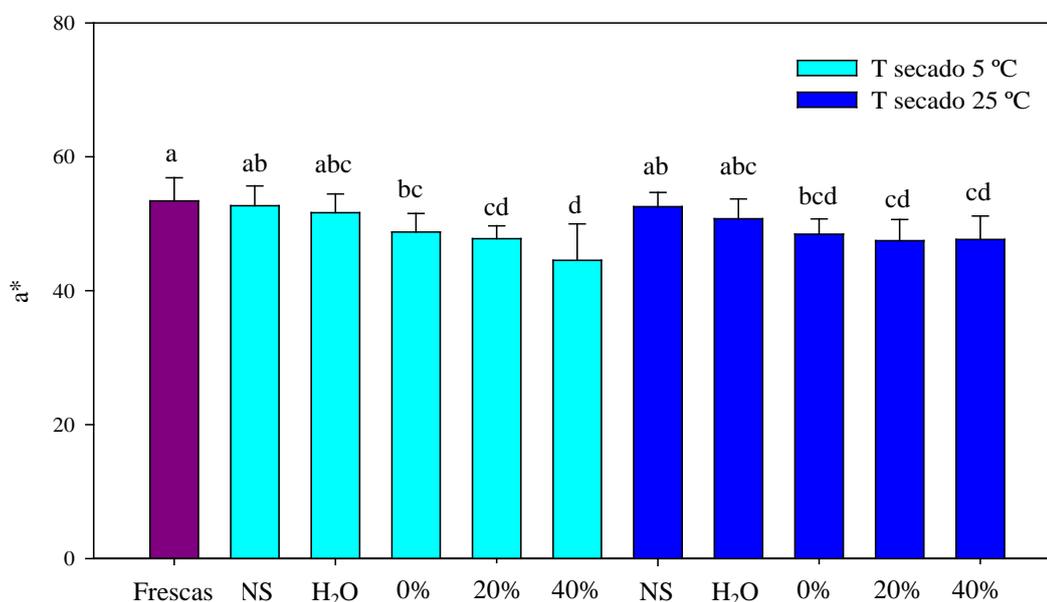


Figura 5.18. Parámetros de color a* de frutillas frescas, controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW, congeladas/descongeladas. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

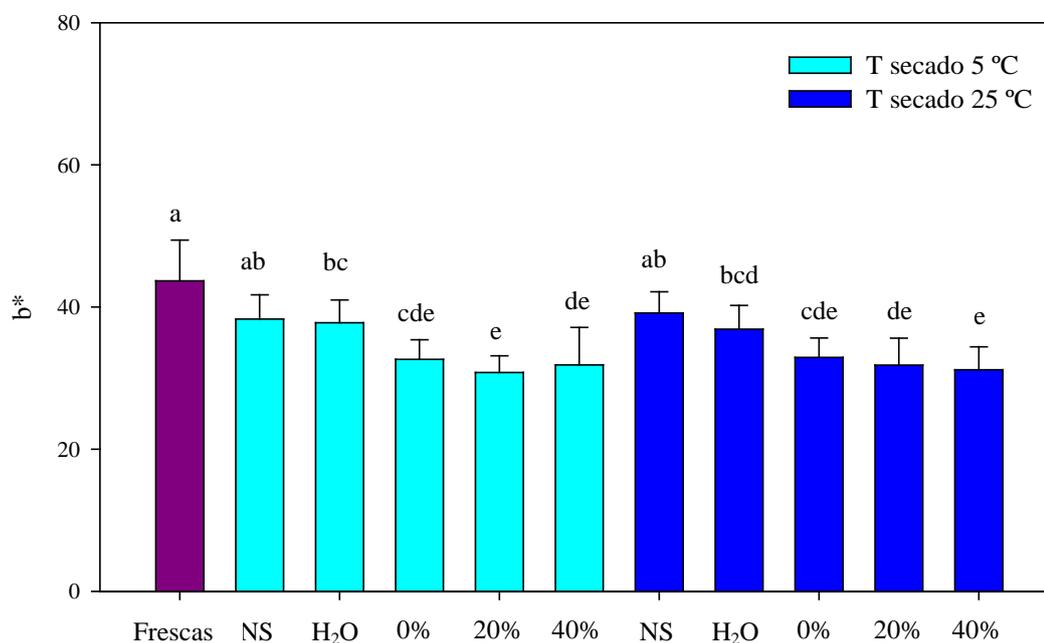


Figura 5.19. Parámetros de color b^* de frutillas frescas, controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW, congeladas/descongeladas. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

composición del recubrimiento aplicado. Esto puede apreciarse en la Figura 5.16, donde las muestras recubiertas se ven menos rojas que las controles debido a la tonalidad que les confiere el recubrimiento a base de proteínas del suero.

En el caso del parámetro de cromaticidad b^* , las muestras no sumergidas mostraron valores similares a las frescas. Tanto la inmersión en agua como la aplicación de las distintas formulaciones de recubrimientos comestibles disminuyó el parámetro b^* de las frutillas congeladas.

El color es uno de los atributos más importantes de los alimentos, tanto por su valor estético como por constituir un parámetro para juzgar calidad. En las frutillas, el color rojo está determinado principalmente por dos pigmentos antocianinas: pelagornidin-3-glucósido y cianidin-3-glucósido en proporción 20:1. Estos pigmentos no son químicamente muy estables y pueden cambiar fácilmente si no son protegidos adecuadamente (Torreggiani y col., 1999). El proceso de congelación, al dañar la integridad de las células ocasiona la concentración de constituyentes no acuosos en la fase no congelada. Así, tal fenómeno de concentración puede incrementar las velocidades de reacción, resultando en la disminución del contenido de antocianinas y ácido ascórbico en frutillas almacenadas congeladas (Ngo y col., 2007).

Ali Sahari y col. (2004) estudiaron el efecto del método de congelación y de la temperatura de almacenamiento congelado sobre parámetros como color, textura, aroma e integridad (evaluados sensorialmente), nivel de antocianinas y contenido de ácido ascórbico (entre otras características) de frutillas. El análisis sensorial indicó que las frutillas almacenadas a -18 y -24 °C mantuvieron el grado más alto de calidad, a juzgar por el color, textura, aromas e integridad, mientras que las muestras almacenadas a -12 °C fueron inaceptables. En cuanto al contenido de antocianinas, observaron una disminución del 40,2; 34,3 y 17,6% en el nivel de antocianinas luego de 90 días de almacenamiento congelado a -12, -18 y -24 °C, respectivamente. El efecto del método de congelación se comentará en la siguiente sección.

5.2.2. Efecto de la velocidad de congelación sobre las propiedades fisicoquímicas de las frutillas

5.2.2.1. Pérdida de peso

La Figura 5.20 muestra la pérdida de peso porcentual de frutillas recubiertas y controles sometidas a congelación lenta y rápida. Como puede observarse, el aumento de la velocidad de congelación no tuvo un efecto significativo sobre la pérdida de peso de las frutillas congeladas/descongeladas.

Agnelli y Mascheroni (2002) evaluaron la pérdida de peso, textura y color de distintos productos (frutillas, hamburguesas, milanesas de pollo, hongos y espárragos) sometidos a dos procesos distintos de congelación, congelación convencional en freezer mecánico y congelación en un simulador de freezer crio-mecánico. La congelación crio-mecánica consistió en una primera etapa de inmersión en nitrógeno líquido y una segunda etapa efectuada en un freezer provisto de túnel de aire. Los autores informaron la duración del tratamiento de inmersión en nitrógeno líquido para cada producto estudiado. Es importante destacar que la inmersión en nitrógeno líquido debe ser lo suficientemente breve para evitar que el producto sufra fracturas por la exposición a temperaturas tan bajas. En el caso de las muestras de frutillas, la investigación incluyó frutillas cultivadas en campo y cultivadas en invernadero, con la finalidad de evaluar el efecto de las características iniciales de las frutas. Las frutillas cultivadas en campo congeladas según el método combinado mostraron una pérdida de peso muy inferior a

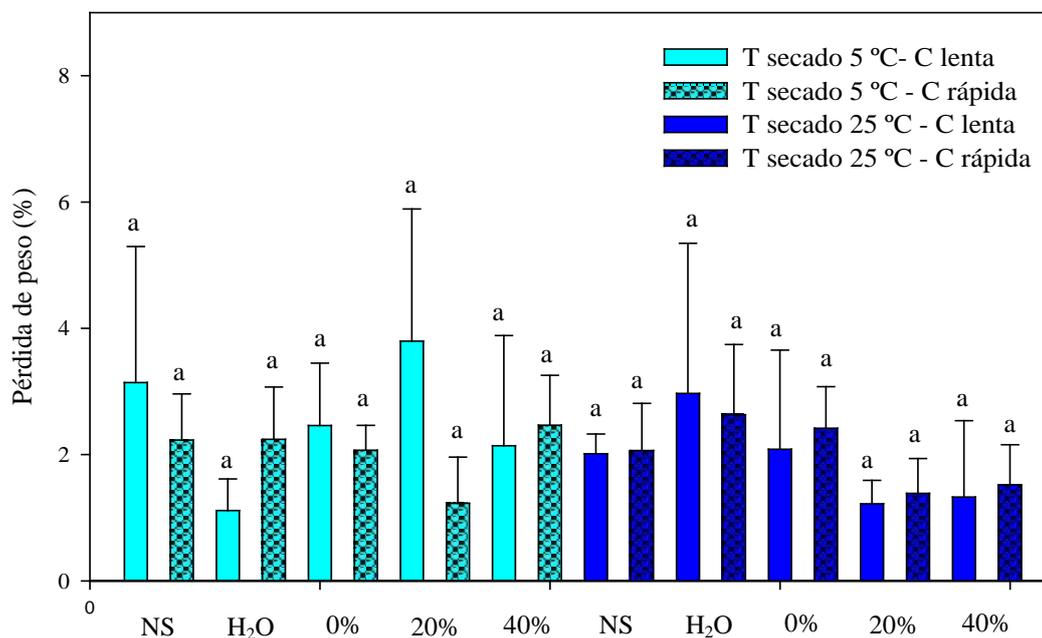


Figura 5.20. Pérdida de peso de frutillas controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW, y sometidas a congelación lenta y rápida.

las congeladas convencionalmente. Por el contrario, las frutillas cultivadas en invernadero mostraron pérdidas de peso similares con ambos métodos de congelación.

5.2.2.2. Firmeza

Las Figuras 5.21 y 5.22 muestran los valores de los parámetros fuerza máxima, deformación máxima, pendiente y trabajo máximo de frutillas recubiertas y controles sometidas a congelación lenta y rápida, normalizados respecto del promedio de las respectivas frutillas frescas.

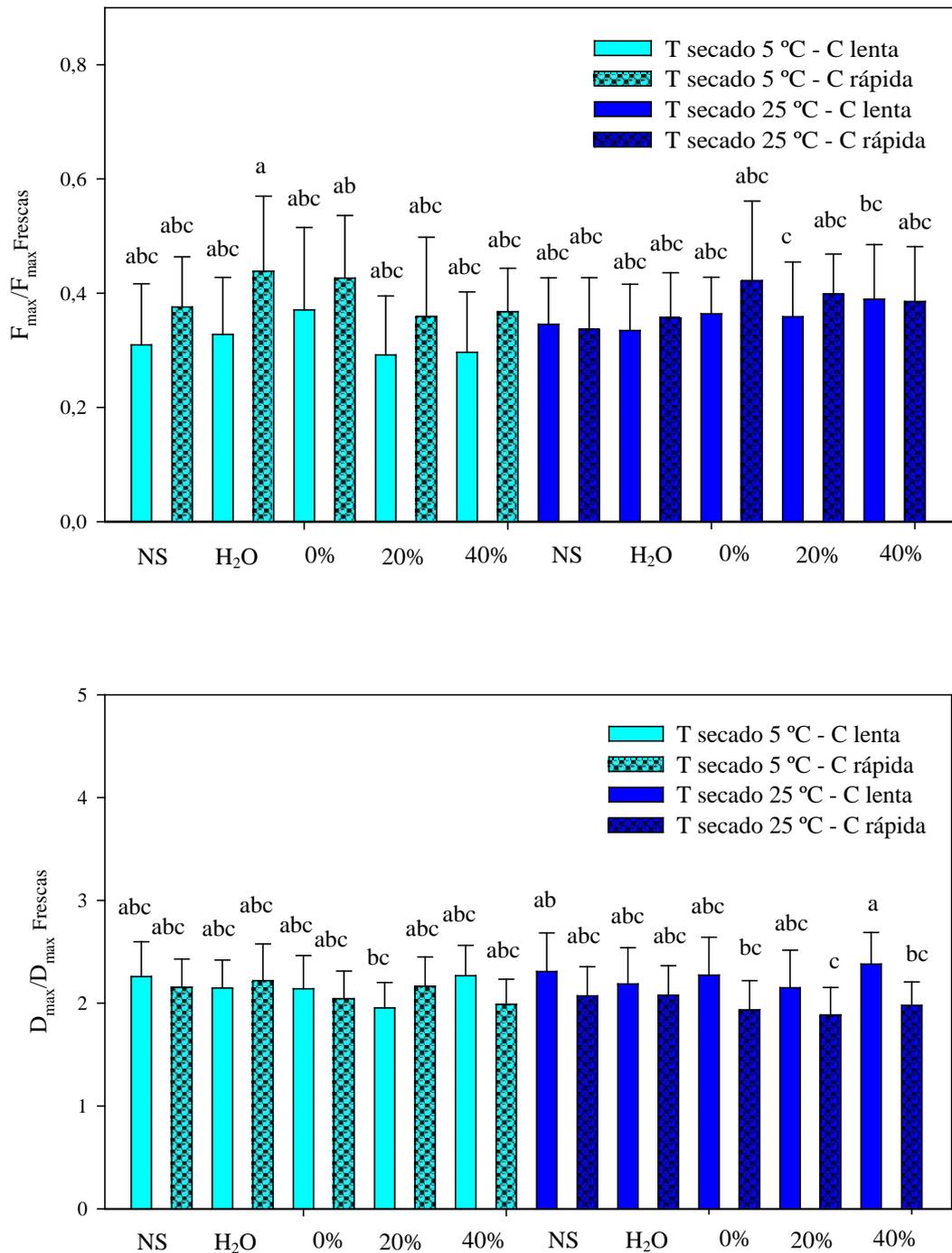


Figura 5.21. Fuerza máxima y deformación máxima de frutillas controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW y sometidas a congelación lenta y rápida.

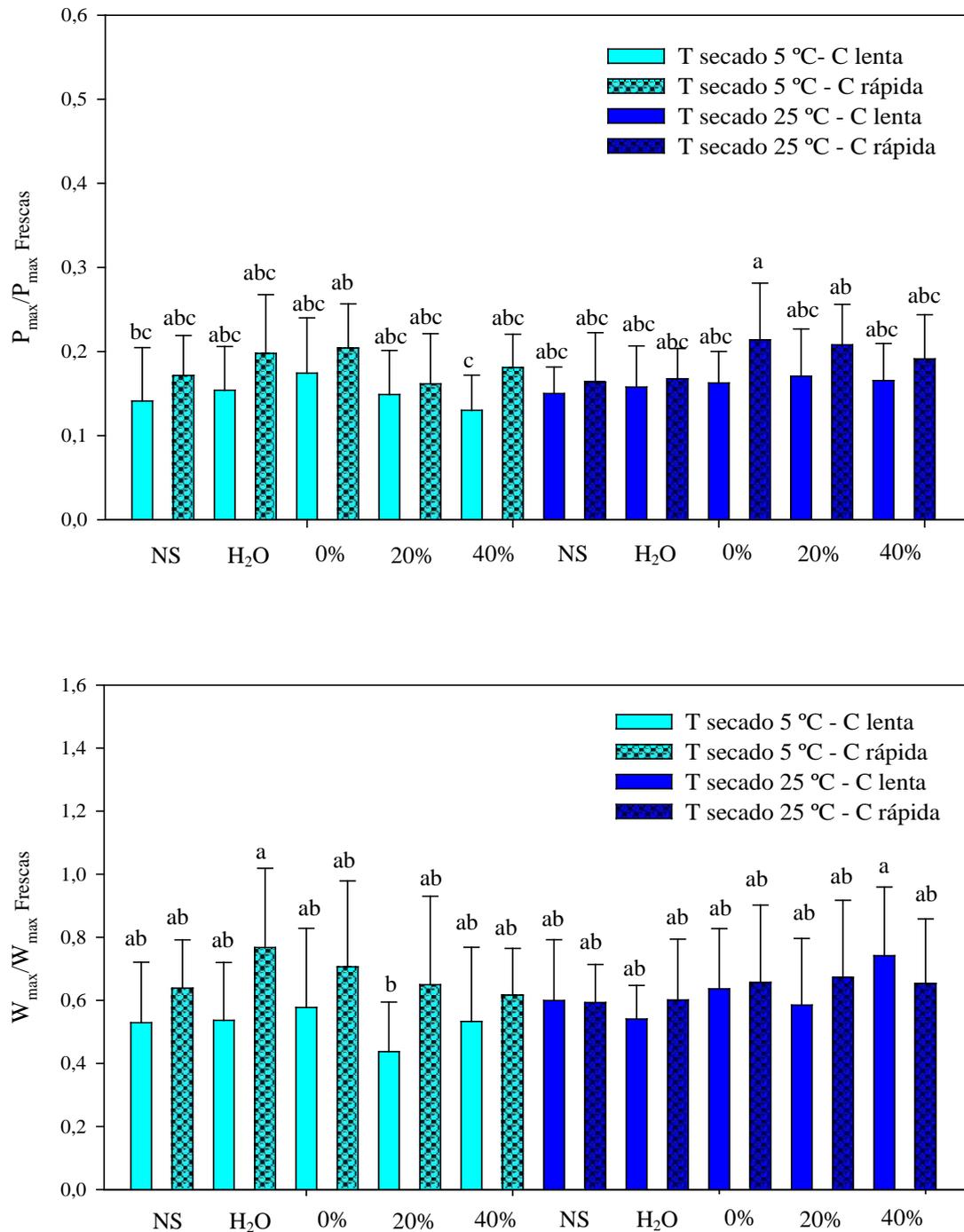


Figura 5.22. Pendiente y trabajo máximo de frutillas controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW sometidas a congelación lenta y rápida.

El aumento de la velocidad de congelación no tuvo efecto significativo sobre ningún parámetro evaluado en el ensayo de penetración.

Agnelli y Mascheroni (2002) mostraron el efecto del tipo de congelación sobre la fuerza de compresión de frutillas cultivadas en campo y en invernadero. Los resultados obtenidos fueron similares a los hallados en el caso de la pérdida de peso. Las frutillas cultivadas en campo (de mayor firmeza inicial) congeladas en el freezer crio-mecánico mantuvieron la firmeza en mayor extensión que las congeladas en el freezer mecánico. Por otra parte, el tipo de tratamiento no afectó la firmeza de las frutillas cultivadas en invernadero (de menor firmeza inicial). La principal ventaja de la congelación crio-mecánica sería la formación de una corteza durante la inmersión en el nitrógeno líquido que le otorgaría una dureza superficial al alimento así congelado. Sin embargo, los resultados estuvieron supeditados a las características iniciales de la fruta, dadas en general por la variedad, el grado de maduración y las condiciones de cultivo entre otras.

Chassagne-Berces y col. (2010) congelaron manzanas y mangos siguiendo tres protocolos diferentes de congelación: a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ en una cámara común, a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ en una cámara bajo convección de nitrógeno gaseoso, y a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ por inmersión en nitrógeno líquido. En la investigación incluyeron además, dos variedades de manzanas y dos niveles de madurez distintos de una de las variedades. Para evaluar la textura de la frutas efectuaron ensayos de penetración y compresión, a partir de los cuales obtuvieron los parámetros firmeza y módulo de Young, respectivamente. Independientemente del producto estudiado y del método de congelación efectuado, los dos parámetros texturales analizados disminuyeron significativamente después de la congelación. Además, el impacto de los distintos protocolos de congelación sobre los parámetros

texturales fue muy superior para las manzanas que para los mangos. Estos resultados podrían relacionarse con la diferencia de textura entre manzanas y mangos en el estado fresco, a mayor firmeza de la fruta fresca, mayor la degradación de la textura luego de la congelación. Como conclusión general, los autores informaron que la variación de los parámetros texturales estuvo fuertemente relacionada con el tipo de fruta, en menor proporción con la variedad de manzana y levemente con el nivel de madurez de las muestras de manzanas.

Otro objetivo planteado por Chassagne-Berces y col. (2010) fue discriminar los distintos protocolos de congelación mediante los dos parámetros de textura. En el caso de las muestras de manzanas, la firmeza y el módulo de Young revelaron que la menor degradación de la textura ocurrió cuando las muestras se congelaron a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Para los otros dos protocolos se observaron diferencias de acuerdo a la medición de textura considerada: la congelación a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ causó una firmeza superior y un menor módulo de Young que la inmersión en nitrógeno líquido. Esto refleja que cada método de análisis brinda distinta información: la prueba de penetración evalúa el comportamiento de fractura local mientras que la compresión es una medición general de la deformabilidad del tejido en su totalidad. Así, la fractura indeseable producida durante la inmersión en nitrógeno líquido podría ser la causa de la mayor pérdida de firmeza observada en las muestras congeladas por inmersión en nitrógeno líquido evaluada mediante la prueba de penetración. Además, si bien la congelación por inmersión en nitrógeno líquido determina la formación de cristales de hielo pequeños, la recristalización de los cristales puede haber resultado en las diferencias observadas entre las muestras congeladas a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ y las sumergidas en nitrógeno líquido. En el caso de las muestras de mango, sólo la

prueba de compresión hizo posible discriminar los tres protocolos de congelación. La congelación a -80 °C, como en el caso de las muestras de manzana, llevó a la menor degradación de textura. No hubo diferencias significativas entre las muestras congeladas a -20 °C y las sumergidas en nitrógeno líquido.

5.2.2.3. Características estructurales evaluadas mediante microscopía óptica

La Figura 5.23 muestra micrografías ópticas de secciones de muestras de frutillas frescas, controles y recubiertas teñidas con azul de toluidina.

Para comparación con los distintos grupos de frutillas sometidas a congelación lenta ver la Figura 5.15. A partir de la comparación con las micrografías de las frutillas frescas, puede observarse que la estructura celular de las frutillas congeladas fue dañada por el proceso de congelación, pero la alteración del tamaño y la forma de las células fue menor que en el caso de las muestras sometidas a congelación lenta.

Las muestras de frutillas recubiertas con las distintas formulaciones de recubrimientos comestibles mostraron una estructura similar en comparación con los controles sumergidos en agua y no sumergidos.

Van Buggenhout y col. (2008) infundieron mitades de frutillas con PME y calcio como tratamiento previo y luego las congelaron lenta, rápida, criogénicamente y mediante congelación por alta presión. Los resultados obtenidos indicaron que el tejido de las muestras de frutillas fue distorsionado en mayor proporción cuando fue congelado lentamente. Cuando se aplicaron condiciones criogénicas el tejido se mantuvo más intacto en comparación con otros métodos de congelación. Las

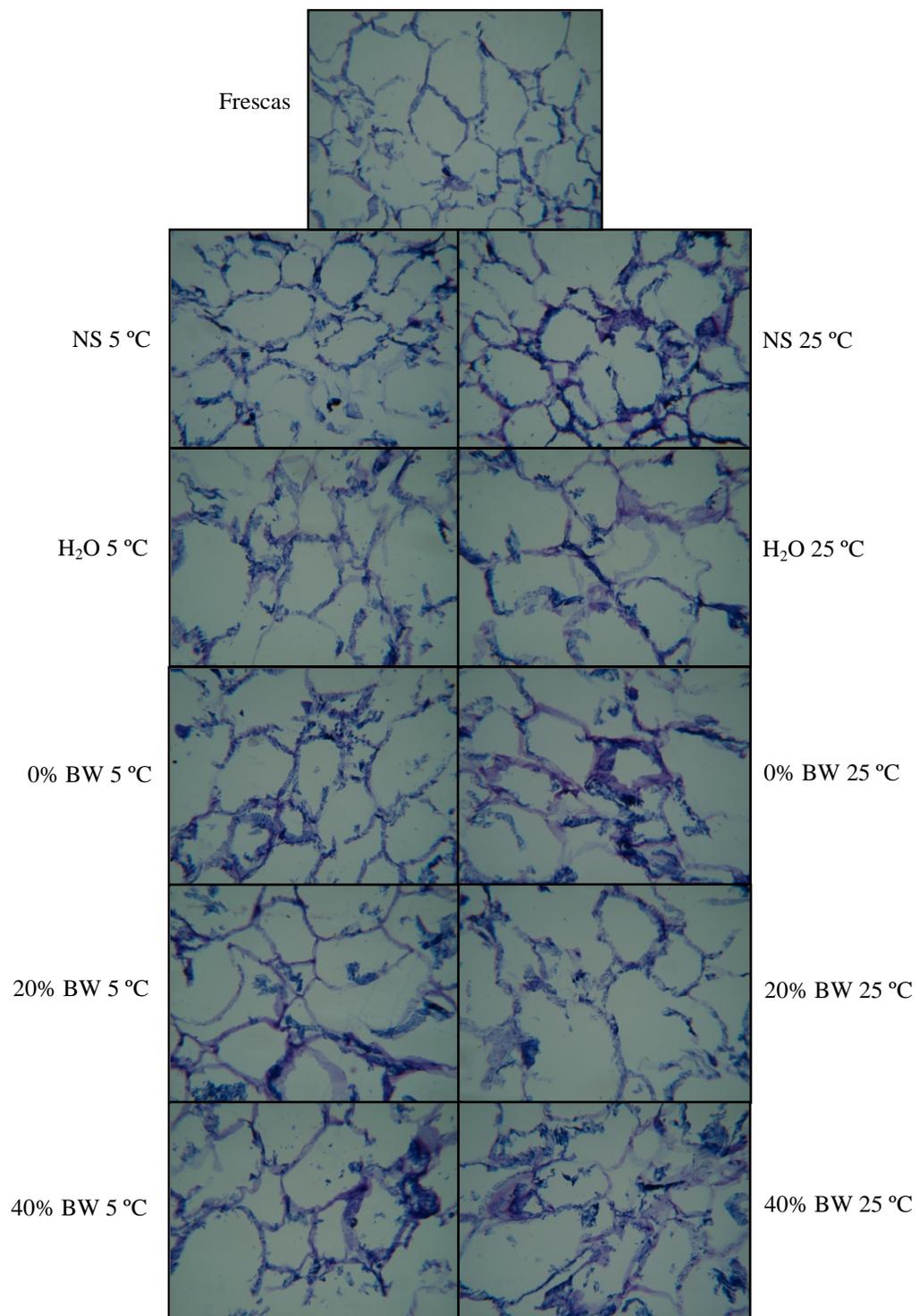


Figura 5.23. Micrografías ópticas de secciones de frutillas frescas, controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW y sometidas a congelación rápida.

micrografías ilustraron claramente que los cristales de hielo formados durante la congelación lenta dañaron más el tejido comparado a las condiciones rápida y criogénica. Así, se sugirió que incrementando la velocidad de congelación se previene la formación de cristales de hielo extracelulares grandes, normalmente formados durante procesos lentos de congelación. Aunque las paredes celulares de tejidos de frutillas congelados por alta presión estuvieron intactas, el tejido fue dañado seriamente a causa de burbujas de aire presentes en las muestras, presumiblemente forzadas hacia el tejido en la etapa de compresión durante el proceso de congelación. La infusión con PME y calcio no fueron efectivas para preservar el tejido de frutilla congelado lentamente pero cuando se combinó con congelación rápida, criogénica o HPSF dichos tratamientos previos parecieron ser más efectivos, mostrando células más o menos intactas y un buen contacto entre células vecinas.

5.2.2.4. Color superficial

La Figura 5.24 muestra fotografías digitales representativas de los distintos grupos de frutillas sometidas a congelación rápida. Para comparación con los distintos grupos de frutillas sometidas a congelación lenta ver la Figura 5.16.

El análisis de las imágenes digitales de las frutillas congeladas lenta y rápidamente permitió obtener los parámetros de color L^* , a^* y b^* representados en las Figuras 5.25, 5.26 y 5.27 normalizados respecto del promedio del grupo de frutillas frescas, respectivamente. El aumento de la velocidad de congelación no tuvo efecto significativo sobre los parámetros L^* y a^* de las frutillas controles ni recubiertas.

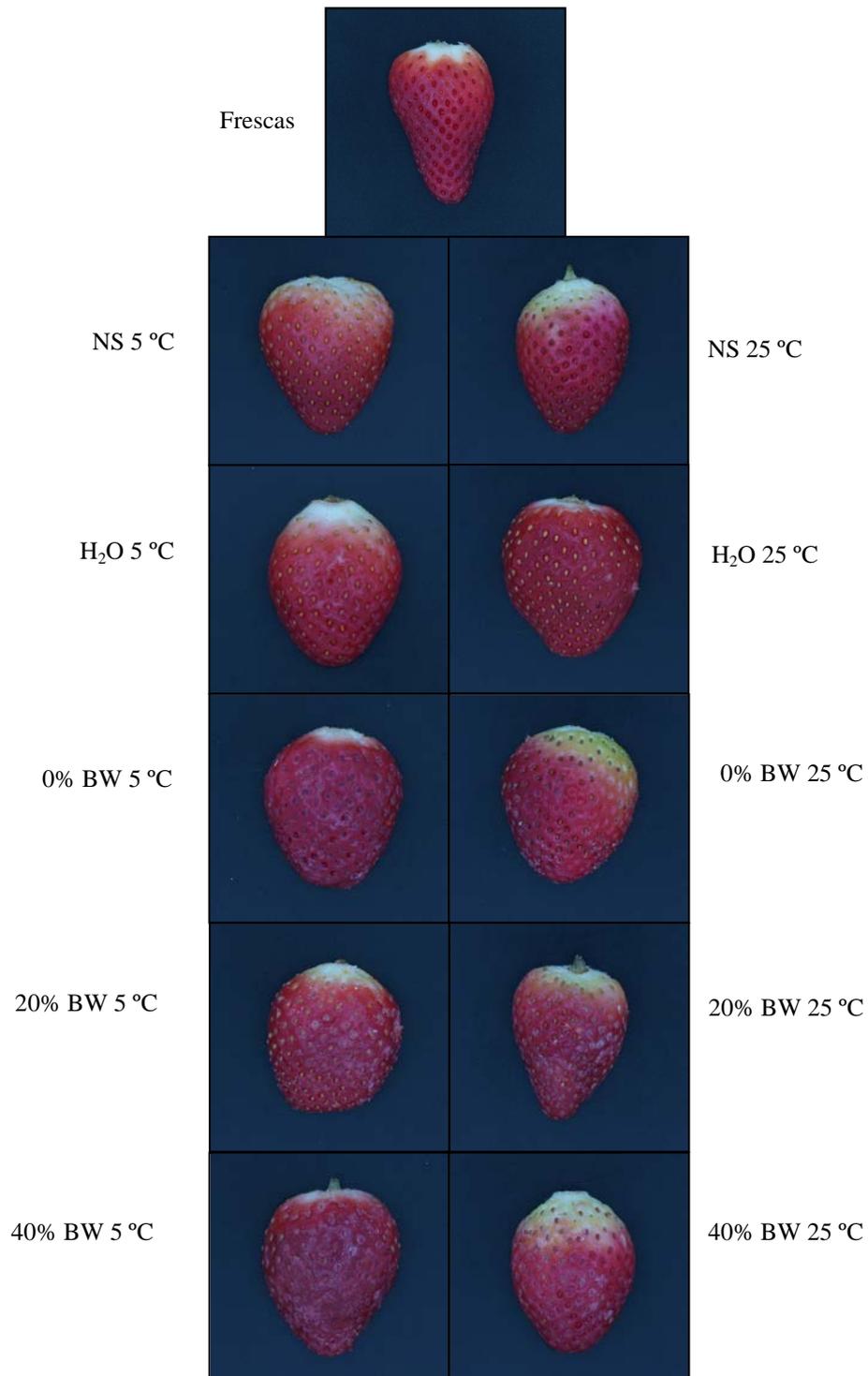


Figura 5.24. Fotografías digitales de frutillas frescas, controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW y sometidas al proceso de congelación rápida.

Las muestras no sumergidas a 25 °C y las recubiertas con soluciones de WPC +0% de BW a 25 °C mostraron una disminución significativa en el parámetro b* cuando aumentó la velocidad de congelación.

Agnelli y Mascheroni (2002) observaron que las frutillas cultivadas en campo y en invernadero congeladas mostraron valores de los parámetros de color L*, a* y b* inferiores en comparación con las respectivas frutillas frescas. Sin embargo, el aspecto general observado mediante inspección visual simple de las frutillas congeladas en el freezer criomecánico mostró un mejor color (color rojo claro y aspecto brillante) que aquellas congeladas convencionalmente (de apariencia más oscuras). Contrariamente, Ali Sahari y col. (2004) observaron que el aumento en la velocidad de congelación no afectó el color de frutillas congeladas/descongeladas

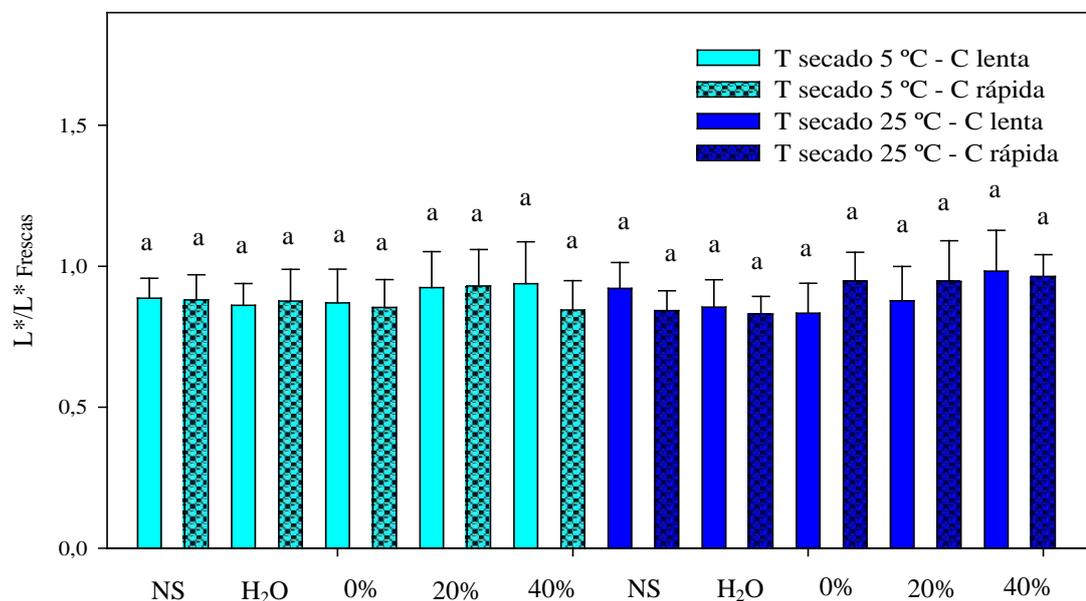


Figura 5.25. Parámetro de color L* de frutillas controles y recubiertas con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW a 5 y 25 °C sometidas a congelación lenta y rápida.

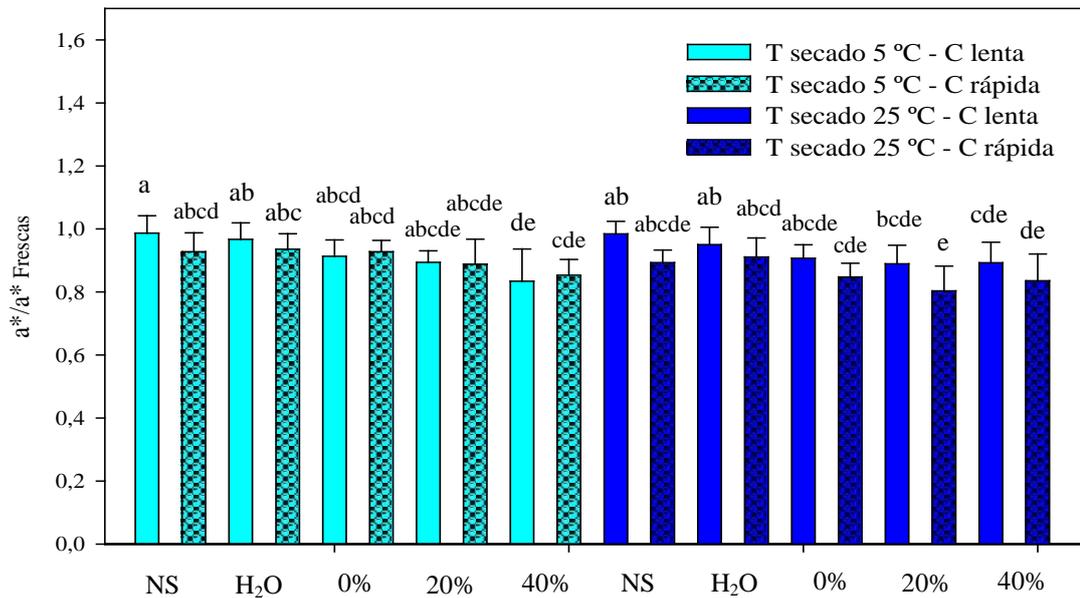


Figura 5.26. Parámetros de color a^* de frutillas controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW sometidas a congelación lenta y rápida.

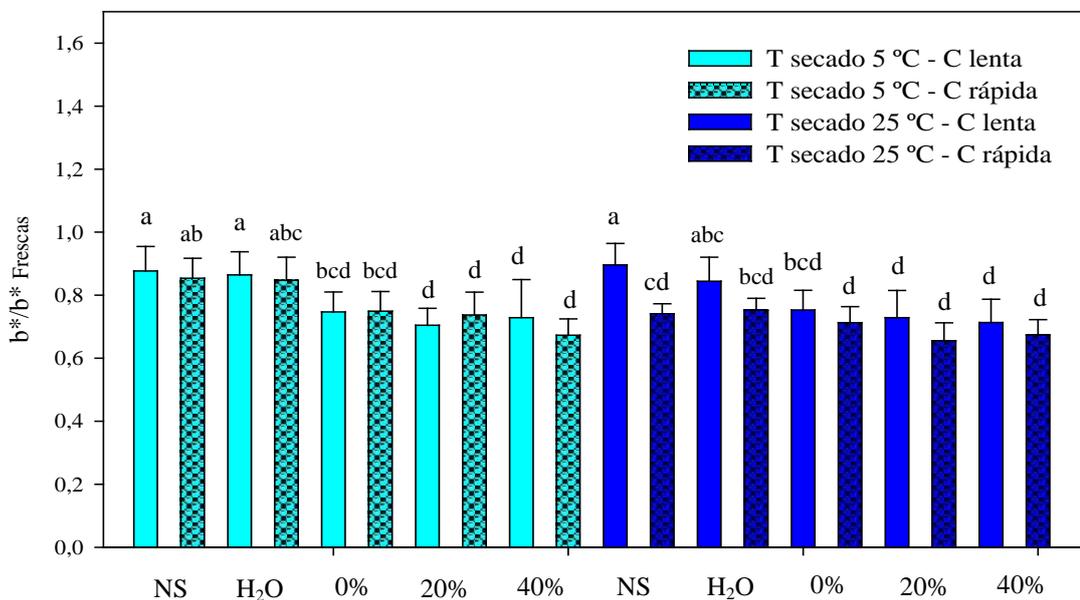


Figura 5.27. Parámetros de color b^* de frutillas controles y recubiertas a 5 y 25 °C con soluciones formadoras de recubrimientos comestibles a base de WPC formuladas con 0, 20 y 40% de BW sometidas a congelación lenta y rápida.

Chassagne-Berces y col. (2010) mostraron cambios de color significativos en muestras de manzanas y mangos luego de someterlas a congelación/ descongelación. El impacto del proceso de congelación fue superior para las manzanas que para los mangos. En el caso de las manzanas, el parámetro L^* disminuyó y los parámetros a^* y b^* se incrementaron, mientras que en las muestras de mango, a^* disminuyó luego de la congelación. El comportamiento diferente de las muestras fue atribuido a los distintos compuestos químicos formados luego de la descongelación de manzanas y mangos, polifenoles y carotenoides, respectivamente. Los cambios de color observados dependieron de la variedad de manzana pero no del grado de madurez inicial de la fruta. Los parámetros de color de las muestras de manzana y mango variaron levemente de acuerdo al procedimiento de congelación.

5.3. Correlación de las propiedades fisicoquímicas de las películas comestibles preformadas y las características de las frutillas con recubrimientos comestibles sometidas al proceso de congelación

En la presente investigación, se trabajó con proteínas del suero como material base formador de las películas comestibles y los recubrimientos. A pesar de que dichas proteínas poseen propiedades nutricionales y funcionales excelentes; presentan la capacidad de formación de recubrimientos y películas transparentes, flexibles y solubles en agua y además constituyen barreras muy buenas frente a la migración de oxígeno, aromas y lípidos, las películas y recubrimientos a base de proteínas del suero constituyen una barrera poco eficiente frente a la transmisión de humedad, deficiencia que podría ser superada incluyendo en la formulación un componente lipídico. Es así

que el agregado de BW constituyó una alternativa efectiva para mejorar las propiedades de barrera frente a la migración de vapor de agua de las películas comestibles a base de WPC (Figura 5.2). Esta característica de las películas preformadas a base de WPC con el agregado de BW fue conservada en la mayoría de las formulaciones, luego de someterlas al proceso de congelación (Tabla 5.4). Las películas comestibles a base de WPC mantuvieron su solubilidad parcial en agua (Tabla 5.4) y su capacidad de adsorción de humedad luego del proceso de congelación (Figura 5.11). Esto es importante dado que los cambios de temperatura durante el proceso de congelación pueden humedecer la superficie de las frutillas debido a la condensación de humedad, con lo cual el recubrimiento podría solubilizarse. En efecto, Baldwin y col. (1999) observaron la solubilización parcial de recubrimientos comestibles aplicados a mangos y como consecuencia la generación de una textura resbaladiza, que pudo retornar a su situación normal luego de un nuevo secado.

Además es importante remarcar que no se encontraron en la bibliografía analizada antecedentes referidos al estudio de las propiedades fisicoquímicas de películas obtenidas a temperaturas de secado inferiores a la temperatura ambiente. En particular, teniendo en cuenta la potencial aplicación de los recubrimientos comestibles a base de WPC (con o sin agregado de BW) para la conservación de frutas frescas y congeladas. El estudio del efecto de la temperatura de secado sobre las propiedades fisicoquímicas de las películas indicó que la WVP de las mismas se mantuvo (en la formulación sin BW) e incluso mejoró (en las formulaciones con BW) cuando el secado se efectuó a baja temperatura (Figura 5.2) y las películas obtenidas a ambas temperaturas mostraron en general un comportamiento similar en cuanto a sus características de barrera al

someterse al proceso de congelación (Tabla 5.4). Además, si bien las formulaciones con BW presentaron mayor solubilidad cuando el secado se efectuó a 5 °C, mantuvieron su integridad del mismo modo que lo hicieron las películas obtenidas a 25 °C (Figura 5.3) y, en comparación con dichas películas, su solubilidad no fue afectada por el proceso de congelación (Tabla 5.4). Del mismo modo, las películas obtenidas a 5 °C mostraron un comportamiento similar frente a la sorción de humedad que las formadas a 25 °C (Figura 5.4), el cual conservaron luego de la congelación/descongelación (Figura 5.11).

Los resultados resumidos con anterioridad indicarían que las películas comestibles a base de WPC (con y sin BW) permanecieron funcionales y conservaron su integridad luego del proceso de congelación. Sin embargo, los recubrimientos comestibles aplicados a las muestras de frutillas, sometidas luego al proceso de congelación, no fueron efectivos en prevenir la pérdida de humedad de las frutas. Este hecho puso de manifiesto las diferencias de comportamiento entre las películas preformadas y los recubrimientos aplicados a un fruto. Por ejemplo, la distribución del recubrimiento en la superficie del fruto y, especialmente, la capacidad de éste de formar una capa continua y/o penetrar en los poros del fruto afecta la funcionalidad de los mismos (Hagenmaier y Baker, 1993). Además, otros factores como la morfología de la piel del fruto afectan notablemente los procesos de transferencia de materia del fruto recubierto (Amarante y col., 2001).

En cuanto a las propiedades mecánicas, las películas congeladas mostraron en general un comportamiento similar a las controles tanto en el ensayo de punción como en el de tracción (Tablas 5.8 y 5.9). Sin embargo, cuando las muestras de frutillas se sometieron al ensayo de penetración, el cual como refiere Bourne (2002) evalúa el

comportamiento de fractura local de un producto, la aplicación de un tratamiento superficial como lo es un recubrimiento comestible no mostró un efecto significativo. Posiblemente, el recubrimiento comestible formado sobre las muestras de frutillas fue de un espesor tal que no afectó la respuesta de las frutas a la penetración.

Si bien las propiedades fisicoquímicas de las películas comestibles preformadas y su comportamiento frente al proceso de congelación fueron prometedoras, los resultados obtenidos en las determinaciones de pérdida de peso y penetración y las alteraciones estructurales evidenciadas mediante microscopía óptica revelan el deterioro estructural y textural debido a la pérdida de turgencia por deshidratación de las frutillas, fenómeno que no pudo ser atenuado por el tratamiento con las distintas formulaciones de recubrimientos comestibles.

Capítulo 6

CONCLUSIONES

El estudio de las propiedades fisicoquímicas de las películas comestibles autoportadas demostró el efecto beneficioso del agregado de BW sobre las características de barrera, la solubilidad en agua y la capacidad de sorción de humedad de las películas. Por el contrario, el efecto del agregado de BW sobre las propiedades mecánicas fue negativo, confirmando la importancia de la adecuada formulación de las soluciones formadoras de películas y recubrimientos comestibles, en vista de los requisitos impuestos por la aplicación de los mismos.

La posibilidad de emplear películas y recubrimientos comestibles a temperaturas inferiores a la ambiente, evitando así la necesidad de someter al producto a cambios de temperatura, fue confirmada analizando el efecto de la disminución de la temperatura de secado sobre las propiedades fisicoquímicas de las películas autoportadas. Dicho efecto dependió de la propiedad considerada. La eficiencia como barrera frente a la migración de humedad, quizás la propiedad más importante para disminuir fenómenos como la pérdida de peso por deshidratación superficial, fue mejorada. La solubilidad en agua y la resistencia frente a la tracción aumentaron al disminuir la temperatura de secado. La capacidad de sorción de humedad en general fue similar a la de las películas obtenidas a 25 °C y la respuesta frente a la punción no fue afectada.

Además, la tolerancia de las películas al proceso de congelación, en vista de una posible aplicación a productos congelados/descongelados, se confirmó descartando la presencia de fracturas y perforaciones y observando el efecto de dicho proceso sobre las propiedades fisicoquímicas de las películas autoportadas. A pesar de que dicho efecto dependió tanto de la formulación como de la temperatura de secado, los resultados

obtenidos indicaron que las películas permanecieron funcionales luego del proceso de congelación.

Si bien las propiedades fisicoquímicas de las películas autoportadas congeladas/descongeladas fueron prometedoras, la aplicación de los recubrimientos comestibles a base de WPC como tratamiento previo a la congelación de frutillas no evidenció efectos positivos. Este hecho puso de manifiesto las diferencias de comportamiento entre las películas preformadas y los recubrimientos aplicados a un fruto. El daño observado a nivel de la forma y tamaño de las células fue de tal severidad que no pudo ser atenuado por la aplicación de un tratamiento superficial como lo son los recubrimientos comestibles. Ante los antecedentes del efecto del proceso de congelación sobre la estructura de tejidos tan delicados como el de las frutillas, se estudió la posibilidad de aumentar la velocidad de congelación para mejorar dicho proceso y así tratar de potenciar el efecto de la aplicación de los recubrimientos. Sin embargo, si bien la estructura de las frutillas fue menos alterada, el tratamiento previo efectuado no previno el daño por congelación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abbott, J.A.; Harker, F.R. 2002. Texture. En:

<http://www.ba.ars.usda.gov/hb66/021texture.pdf>

Agnelli, M. E.; Mascheroni, R.H. 2001. Cryomechanical freezing. A model for the heat transfer process. *Journal of Food Engineering*, 47: 263–270.

Agnelli, M.E.; Mascheroni, R.H. 2002. Quality evaluation of foodstuffs frozen in a cryomechanical freezer. *Journal of Food Engineering*, 52: 257–263.

Aguilera, J.M.; Stanley, D.W. 1999. Food Structuring. En: *Microstructural principles of food processing and engineering*. Editado por K. Ruby. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland, Estados Unidos.

Aked, J. 2002. Maintaining the post-harvest quality of fruits and vegetables. En: *Fruit and vegetable processing: improving quality*. Editado por W.M.F. Jongen. CRC Press LLC, Boca Raton, Estados Unidos.

Alcántara, C.R.; Rumsey, T.R.; Krochta, J.M. 1998. Drying rate effect on the properties of whey protein films. *Journal of Food Process Engineering*, 21: 387-405.

Ali Sahari, M.; Mohsen Boostani, F.; Zohreh Hamidi, E. 2004. Effect of low temperature on the ascorbic acid content and quality characteristics of frozen strawberry. *Food Chemistry*, 86: 357-33.

Alonso, J., Rodríguez, T.Y Canet, W. 1995. Effect of calcium pretreatments on the texture of frozen cherries. Role of pectinesterase in the changes in the pectic materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43: 1011-1016.

- Amarante, C.; Banks, N.H.; Ganesh, S. 2001. Relationship between character of skin cover of coated pears and permeance to water vapour and gases. *Postharvest Biology and Technology*, 21(3): 291-301.
- Anker, M.; Berntsen, J.; Hermansson, A.; Stading, M. 2002. Improved water vapor barrier of whey protein films by addition of an acetylated monoglyceride. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3: 81-92.
- ASTM. 2005. Standard test methods for water vapor transmission of materials. E 96/E 96M. En: *Annual Book of ASTM Standards*. American Society for Testing and Materials, Filadelfia, Estados Unidos.
- Atarés, L.; Bonilla, J.; Chiralt, A. 2010. Characterization of sodium caseinate-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. *Journal of Food Engineering*, 100: 678-687.
- Ayranci, E.; Tunc, S. 2004. The effect of edible coatings on water and vitamin C loss of apricots (*Armeniaca vulgaris Lam.*) and green peppers (*Capsicum annuum L.*). *Food Chemistry*, 87(3): 339-342.
- Balagtas, J.V.; Hutchinson, F.M.; Krochta, J.M.; Sumner, D.A. 2003. Anticipating market effects of new uses for whey and evaluating returns to research and development. *Journal of Dairy Science*, 86: 1662-1672.
- Baldwin, E.A.; Burns, J.K.; Kazokas, W.; Brecht, J.K.; Hagenmaier, R.D.; Bender, R.J.; Pesis, E. 1999. Effect of two edible coatings with different permeability characteristics on mango (*Mangifera indica L.*) ripening during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 17: 215-226.

- Baldwin, E.A. 2007. Surface treatments and edible coatings in food preservation. En: Handbook of food preservation, Segunda edición. Editado por M.S. Rahman. CRC Press LLC, Boca Raton, Estados Unidos.
- Banerjee, R.; Chen, H. 1995. Functional properties of edible films using whey protein concentrate. *Journal of Dairy Science*, 78: 1673-1683.
- Barón, C.G. 2010. Comercialización de frutillas en el MCBA. Simposio Internacional de frutas finas. INTA Famaillá, Tucumán.
- Barreiro, P.; Ruiz-Altisent, M. 1996. Propiedades mecánicas y calidad de frutos. Definiciones y medidas instrumentales. *Fruticultura profesional*, 77: 48-51.
- Berruto, R; Busato, P. 2009. Logistics and postharvest handling of locally grown produce. En: *Postharvest handling: a systems approach*, Segunda edición. Editado por W.J. Florkowski; R. Shewfelt; B. Brueckner; S.E. Prusia. Academic Press, Estados Unidos.
- Bertuzzi, M.A.; Armada, M.; Gottifredi, J.C. 2007. Physicochemical characterization of starch based films. *Journal of Food Engineering*, 82: 17–25.
- Biquet, B.; Labuza, T.P. 1988. Evaluation of the moisture permeability characteristics of chocolate films as an edible moisture barrier. *Journal of Food Science*, 53(4): 989-998.
- Bonaduce, I.; Colombini, M.P. 2004. Characterization of beeswax in works of art by gas chromatography–mass spectrometry and pyrolysis–gas chromatography–mass spectrometry procedures. *Journal of Chromatography A*, 1028: 297–306.

- Bonnaillie, L.M.; Tomasula, P.M. 2008. Whey protein fractionation. En: Whey processing, functionality and health benefits. Editado por C.I. Onwulata; P. J. Huth. IFT Press, Wiley & Sons, Ltd. Publication, Iowa, Estados Unidos
- Bourne, M.C. 2002. Principles of objective texture measurement. En: Food texture and viscosity: concept and measurement. Segunda edición. Editor: M.C. Bourne. Academic Press, Estados Unidos.
- Brindle, L.P.; Krochta, J.M. 2008. Physical properties of whey protein-hydroxypropylmethylcellulose blend edible films. *Journal of Food Science*, 73(9): 446-454.
- Cagri, A.; Ustunol, Z.; Ryser, E.T. 2001. Antimicrobial, mechanical, and moisture barrier properties of low pH whey protein-based edible films containing p-aminobenzoic or sorbic acids. *Journal of Food Science*, 66(6): 865-870.
- Caner, C.; Aday, M.S. 2009. Maintaining quality of fresh strawberries through various modified atmosphere packaging. *Packaging Technology and Science*, 22(2): 115-122.
- Castelló, M.L.; Fito, P.J.; Chiralt, A. 2005. Effect of osmotic dehydration and vacuum impregnation on respiration rate of cut strawberries. *LWT-Food Science and Technology*, 39: 1171-1179.
- Chandra, P.K.; Sobral, P.J.D.A. 2000. Calculation of viscoelastic properties of edible films: Application of three models. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, 20(2): 250-256.

- Chassagne-Berces, S.; Fonseca, F.; Citeau, M.; Marin, M. 2010. Freezing protocol effect on quality properties of fruit tissue according to the fruit, the variety and the stage of maturity. *Food Science and Technology*, 43 (9): 1441-1449.
- Chen, C.H; Lai, L.S. 2008. Mechanical and water vapor barrier properties of tapioca starch decolorized hsian-tsao leaf gum films in the presence of plasticizer. *Food Hydrocolloids*, 22: 1584-1595.
- Cheyne, A.; Barnes, J.; Gedney, S.; Wilson, D.I. 2005. Extrusion behaviour of cohesive potato starch pastes: II. Microstructure–process interactions. *Journal of Food Engineering*, 66: 13–24.
- Chillo, S.; Flores, S.; Mastromatteo, M.; Conte, A.; Gerschenson, L.; Del Nobile, M.A. 2008. Influence of glycerol and chitosan on tapioca starch-based edible film properties. *Journal of Food Engineering*, 88: 159–168
- Chirife, J.; Iglesias, H.A. 1978. Equations for fitting water sorption isotherms of foods: Part 1 a review. *Journal of Food Technology*, 13: 159-174.
- Cho, S.Y.; Rhee, C. 2002. Sorption characteristics of soy protein films and their relation to mechanical properties. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 35: 151–157.
- Civello, P.M. 1995. Maduración de frutillas (*Fragaria ananassa*, Duch.). Aspectos bioquímicos. Tesis doctoral, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires.
- Civello, P.M.; Martínez, G.A.; Chaves, A.R.; Añón, M.C. 1997. Heat treatments delay ripening and postharvest decay of strawberry fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(12): 4589-4594.

- Cordenunsi, B.R.; Nascimento, J.R.O.; Lajolo, F.M. 2003. Physico-chemical changes related to quality of five strawberry fruit cultivars during cool-storage. *Food Chemistry*, 83: 167–173.
- Coughlan, K.; Shaw, N.B.; Kerry, J.F.; Kerry, J.P. 2004. Combined effects of proteins and polysaccharides on physical properties of whey protein concentrate–based edible films. *Journal of Food Science*, 69(6): 271-275.
- Coupland, J.N.; Shaw, N.B.; Monahan, F.J.; O’Riordan, E.D.; O’Sullivan, M. 2000. Modeling the effect of glycerol on the moisture sorption behavior of whey protein edible films. *Journal of Food Engineering*, 43: 25-30.
- Dangaran, K.; Krochta, J.M. 2008. Whey protein films and coatings. En: *Whey processing, functionality and health benefits*. Editado por C. I. Onwulata; P. J. Huth. Wiley & Sons, Ltd., Publication, Iowa, Estados Unidos.
- Dangaran, K; Tomasula, P.M.; Qi, P. 2009. Structure and function of protein-based edible films and coatings. En: *Edible films and coatings for food applications*. Editado por M.E. Embuscado; K.C. Huber. Springer, Nueva York, Estados Unidos.
- Darrow, G.M. 1966. The strawberry species. En: *The strawberry: history, breeding and physiology*. En: www.nal.usda.gov/pgdic/strawberry/book
- Day, B.P.F. 2005. Modified atmosphere packaging (MAP) and the safety and quality of fresh fruit and vegetables. En: *Improving the safety of fresh fruit and vegetables*. Editado por W. Jongen. CRC Press, Boca Raton, Estados Unidos.

- De Ancos, B.; Sánchez-Moreno, C.; De Pascual-Teresa, S.; Cano, M.P. 2006. Fruit freezing principles. En: Handbook of fruit and fruit processing. Editado por Y. H. Hui. Blackwell Publishing, Iowa, Estados Unidos.
- Debeaufort, F.; Voilley, A. 1995. Effect of surfactants and drying rate on barrier properties of emulsified edible films. *International Journal of Food Science and Technology*, 30: 183-190.
- Debeaufort, F.; Quezada-Gallo, J.A.; Delporte, B.; Voilley, A. 2000. Lipid hydrophobicity and physical state effects on the properties of bilayer edible films. *Journal of Membrane Science*, 180: 47–55.
- Debeaufort, F.; Voilley, A. 2009. Lipid-based edible films and coatings. En: Edible films and coatings for food applications. Editado por M.E. Embuscado; K.C. Huber. Springer, Nueva York, Estados Unidos.
- Delgado, A.E.; Rubiolo, A.C. 2005. Microstructural changes in strawberry after freezing and thawing processes. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 38(2), 135-142.
- Del-Valle, V.; Hernández-Muñoz, P.; Guarda, A.; Galotto, M.J. 2005. Development of a cactus-mucilage edible coating (*Opuntia ficus indica*) and its application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shelf-life. *Food Chemistry*, 91: 751-756.
- Denavi, G.; Tapia-Blácido, D.R.; Añón, M.C.; Sobral, P.J.A.; Mauri, A.N.; Menegalli, F.C. 2009. Effects of drying conditions on some physical properties of soy protein films. *Journal of Food Engineering*, 90: 341–349.

- de Wit, J.; Klarenbeek, G. 1984. Effects of various heat treatments on structure and solubility of whey proteins. *Journal of Dairy Science*, 67: 2701-2710.
- Documentos FAO. 2005. La cera de abejas - Un producto útil y valioso. En:
<http://www.fao.org/docrep/008/y5110s/y5110s07.html>
- Donhowe, I. G.; Fennema, O. 1993. The effects of solution composition and drying temperature on crystallinity, permeability, and mechanical properties of methylcellulose films. *Journal of Food Processing and Preservation*, 17: 231-246.
- Duan, J.; Jiang, Y.; Cherian, G.; Zhao, Y. 2010. Effect of combined chitosan-krill oil coating and modified atmosphere packaging on the storability of cold-stored lingcod (*Ophiodon elongates*) fillets. *Food Chemistry*, 122(4): 1035-1042.
- Durango, A.M.; Soares, N.F.F.; Andrade, N.J. 2006. Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots. *Food Control*, 17: 336–341.
- Duvetter, T.; Van Loey, A.; Smout, C.; Verlent, I.; Nguyen, B.L.; Hendrickx, M. 2005. *Aspergillus aculeatus* pectin methylesterase: study of the inactivation by temperature and pressure and the inhibition by pectin methylesterase inhibitor. *Enzyme and Microbial Technology*, 36: 385–390.
- El Ghaouth, H.; Arul, J.; Ponnampalam, R.; Boulet, M. 1991. Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries. *Journal of Food Science*, 56(6): 1618-1620.

- 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: 393–400.
- Fabra, M.J.; Talens, P.; Chiralt, A. 2010. Water sorption isotherms and phase transitions of sodium caseinate-lipid films as affected by lipid interactions. *Food Hydrocolloids*, 24: 384-391.
- Fabra, M.J.; Hambleton, A.; Talens, P.; Debeaufort, F.; Chiralt, A. 2011. Effect of ferulic acid and α -tocopherol antioxidants on properties of sodium caseinate edible films. *Food Hydrocolloids*, 25(6): 1441-1447.
- Fairley, P.; Monahan, F.J.; German, J.B.; Krochta, J.M. 1996. Mechanical properties and water vapor permeability of edible films from whey protein isolate and sodium dodecyl sulfate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 438-443.
- Fan, W.; Sun, J.; Chen, Y.; Qiu, J.; Zhang, Y.; Chi, Y. 2009. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Food Chemistry*, 115(1): 66-70.
- FAOSTAT, 2009. En:
<http://faostat.fao.org/>
- Fernández, L.; Castellero, C.; Aguilera, J.M. 2005. An application of image analysis to dehydration of apple discs. *Journal of Food Engineering*, 67: 185–193.

- Ferreira, M.D.; Brecht, J.K.; Sargent, S.A.; Aracena, J.J. 1994. Physiological responses of strawberry to film wrapping and precooling methods. Florida State Horticultural Society, 107: 265-269.
- Fito, P.; Chiralt, A. 2000. Vacuum impregnation of plant tissues. En: Minimally processed fruits and vegetables. Editado por S.M. Alzamora; M.S. Tapia; A. Lopez-Malo. Aspen Publishers Inc., Maryland, Estados Unidos.
- Flores, S.K.; Costa, D.; Yamashita, F.; Gerschenson, L.N.; Grossmann, M.V. 2010. Mixture design for evaluation of potassium sorbate and xanthan gum effect on properties of tapioca starch films obtained by extrusión. Materials Science and Engineering, 30: 196–202.
- Galetto, C.D.; Verdini, R.A.; Rubiolo, A.C. 2005. Influencia del tratamiento con calcio y pectinmetilesterasa sobre la textura y los componentes estructurales de frutillas. X Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Mar del Plata, Argentina.
- Galetto, C.D. 2006. Efecto del tratamiento previo con pectinmetilesterasa sobre la calidad de frutillas congeladas por inmersión en solución de cloruro de calcio. Tesina de Licenciatura en Biotecnología, Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Santa Fe, Argentina.
- Galetto, C.D, Verdini, R.A, Rubiolo, A.C. 2006. Influencia del tratamiento con calcio y pectinemtilesterasa sobre la textura y los componentes estructurales de frutillas. Trabajos del X CYTAL - 1er Simposio Internacional de Nuevas tecnologías. “Apertura a nuevos procesos, productos e ideas: camino al futuro” Editado por

- Ciencia Actual, Buenos Aires. Argentina, 1er Edición. Volumen 1, Tomo 1, Marzo de 2006, p: 210-217.
- Galetto, C.D, Verdini, R.A, Zorrilla, S.E, Rubiolo, A.C. 2007. Evaluación de parámetros físicos y químicos en frutillas almacenadas refrigeradas pre-tratadas con calcio y pectinmetilesterasa. Libro de resúmenes XI Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Asociación Argentina de Tecnólogos Alimentarios. Buenos Aires, Argentina. Publicación en CD-ROM, 10p.
- Galetto, C.D.; Verdini, R.A.; Zorrilla, S.E.; Rubiolo, A.C. 2010. Freezing of strawberries by immersion in CaCl₂ solutions. Food Chemistry, 123: 243-248.
- García, J.M.; Aguilera, C.; Albi, M.A. 1995. Postharvest heat treatment on spanish strawberry (*Fragaria x ananassa* Cv. Tudla). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 43: 1489-1492.
- García, J.M.; Herrera, S.; Morilla, A. 1996. Effects of postharvest dips in calcium chloride on strawberry. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44(1): 30-33.
- García, M.A.; Martino, M.N.; Zaritsky, N.E. 1998. Starch based coatings effect on refrigerated strawberry (*Fragaria ananassa*) quality. Journal of the Science and Food Agriculture, 76: 411-420.
- García, M.A.; Martino, M.N.; Zaritzky, N.E. 2000. Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coatings. Journal of Food Science, 65(6): 941-947.

- García, M.A.; Pinotti, A.; Martino, M.N.; Zaritzky, N.E. 2009. Characterization of starch and composite edible films and coatings. En: Edible films and coatings for food applications. Editado por M.E. Embuscado; K.C. Huber. Springer, Nueva York, Estados Unidos.
- Gennadios, A.; Weller, C.L. 1994. Moisture adsorption by grain protein films. *Biological Systems Engineering*, 37(2): 535-539.
- Gennadios, A.; Weller, C.L.; Gooding, C.H. 1994. Measurement errors in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. *Journal of Food Engineering*, 21: 395-409.
- George, M. 2006. Future developments in frozen food packaging. En: Handbook of frozen food processing and packaging. Editado por. D. Sun. CRC Press, Boca Raton, Estados Unidos.
- Geysen, S.; Verlinden, B.E.; Nicolai, B.M. 2005. Thermal treatments of fresh fruit and vegetables. En: Improving the safety of fresh fruit and vegetables. Editado por W. Jongen. CRC Press, Boca Raton, Estados Unidos.
- Glantz, S.A.; Slinker, B.K. 1990. Primer of applied regression and analysis of variance. McGraw-Hill Inc., Nueva York, Estados Unidos.
- Gómez-Guillén, M.C.; Ihl, M.; Bifani, V.; Silva, A.; Montero, P. 2007. Edible films made from tuna-fish gelatin with antioxidant extracts of two different murta ecotypes leaves (*Ugni molinae Turcz*). *Food Hydrocolloids*, 21: 1133–1143.

- Gontard, N.; Guilbert, S.; Cuq, J.L. 1993. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. *Journal of Food Science*, 58(1): 206-211.
- Gontard, N.; Marchesseau, S.; Cuq, J.L.; Guilbert, S. 1995. Water vapour permeability of edible bilayer films of wheat gluten and lipids. *International Journal of Food Science and Technology*, 30: 49-56.
- Gounga, M.E.; Xu, S.; Wang, Z. 2007. Whey protein isolate-based edible films as affected by protein concentration, glycerol ratio and pullulan addition in film formation. *Journal of Food Engineering*, 83: 521–530.
- Greener, I.; Fennema, O. 1989. Evaluation of edible, bilayer films for use as moisture barriers for food. *Journal of Food Science*, 54(6): 1400-1406.
- Greener I.K, Fennema, O. 1994. Edible films and coatings: characteristics, formation, definitions and testing methods . En: *Edible coatings and films to improve food quality*. Editado por J.M Krochta; E.A Baldwin; M. Nisperos-Carriedo. Technomic Publishing Company, Lancaster, Estados Unidos.
- Guilbert, S.; Gontard, N.; Gorris, L.G.M. 1996. Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 29: 10-17.
- Hagenmaier, R.D.; Baker, R.A. 1993. Reduction in gas exchange of citrus fruit by wax coatings. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41: 283-287.
- Han, C.; Zhao, Y.; Leonard, S.W.; Traber, M.G. 2004. Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries

- (*Fragaria × ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). *Postharvest Biology and Technology*, 33: 67-78.
- Han, J.H.; Gennadios, A. 2005. Edible films and coatings: a review. En: *Innovations in Food Packaging*. Editado por J. Han. Elsevier Science & Technology Books.
- Han, C.; Lederer, C.; McDaniel, M.; Zhao, Y. 2005. Sensory evaluation of fresh strawberries (*Fragaria ananassa*) coated with chitosan-based edible coatings. *Journal of Food Science*, 70(3): 172-178.
- Han, J.H.; Seo, G.H.; Park, L.M.; Kim, G.N.; Lee, D.S. 2006. Physical and mechanical properties of pea starch edible films containing beeswax emulsions. *Journal of Food Science*, 71(6): 290-296.
- Hernández-Muñoz, P.; Almenar, E.; Ocio, M.J.; Gavara, R. 2006. Effect of calcium dips and chitosan coatings on postharvest life of strawberries (*Fragaria x ananassa*). *Postharvest Biology and Technology*, 39: 247-253.
- Hershko, V.; Nussinovitch, A. 1998. Relationship between hydrocolloid coating and mushroom structure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(8): 2988-2997.
- Hettiarachchy, N.S.; Eswaranandam, S. 2005. Edible films and coatings from soybean and other protein sources. En: *Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Sixth Edition, Six Volume*. Editado por F. Shahidi. John Wiley & Sons, Inc.
- Jangchud, A.; Chinnan, M. S. 1999a. Properties of peanut protein film: sorption isotherm and plasticizer effect. *LWT - Food Science and Technology*, 32: 89-94.

- Jangchud, A.; Chinnan, M.S. 1999b. Peanut protein film as affected by drying temperature and pH of film forming solution. *Journal of Food Science*, 64(1): 153-157.
- Jooyandeh, H. 2011. Whey protein films and coatings: A review. *Pakistan Journal of Nutrition*, 10(3): 296-301.
- Jowitt, R.; Wagstaffe, J.P. 1989. The certification of the water content of microcrystalline cellulose (MCC) at 10 water activities. CRM 302. Commission of the European Communities. Community Bureau of Reference.
- Kader, A.A. 1980. Prevention of ripening in fruits by use of controlled atmospheres. *Food Technology*: 51-54.
- Kader, A.A.; Zarogy, D.; Kerbel, E.L. 1989. Modified atmosphere packaging of fruit and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 28(1): 1-29.
- Kamper, S.L.; Fennema, O. 1984a. Water vapor permeability of edible bilayer films. *Journal of Food Science*, 49: 1478-1481.
- Kamper, S.L.; Fennema, O. 1984b. Water vapor permeability of an edible, fatty acid, bilayer film. *Journal of Food Science*, 49: 1482-1484.
- Kamper, S.L.; Fennema, O. 1985. Use of an edible film to maintain water vapor gradients in foods. *Journal of Food Science*, 50: 382-384.
- Kang, H.J.; Jo, C.; Kwon, J.H.; Kim, J.H.; Chung, H.J.; Byun, M.W. 2007. Effect of a pectin-based edible coating containing green tea powder on the quality of irradiated pork patty. *Food Control*, 18: 430-435.

- Kang, S.P.; East, A.R.; Trujillo, F.J. 2008. Colour vision system evaluation of bicolour fruit: A case study with 'B74' mango. *Postharvest Biology and Technology*, 49: 77–85.
- Karbowiak, T.; Debeaufort, F.; Voilley, A. 2007. Influence of thermal process on structure and functional properties of emulsion-based edible films. *Food Hydrocolloids*, 21: 879-888.
- Kester, J.J., Fennema, O. 1986. Edible films and coatings: A review. *Food Technology*, 40(12): 47-49.
- Kester, J.J.; Fennema, O. 1989. An edible film of lipids and cellulose ethers: barrier properties to moisture vapor transmission and structural evaluation. *Journal of Food Science*, 54(6): 1383-1389.
- Kim, J.S.; Ustunol, Z. 2001. Solubility and moisture sorption isotherms of whey-protein-based edible films as influenced by lipid and plasticizer incorporation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 4388-4391.
- Krochta, J.M.; Baldwin, E.A.; Nisperos-Carriedo, M. 1994. Edible coatings and films to improve food quality. Editores Krochta, J. M., E.A. Baldwin, M. O. Nisperos-Carriedo. CRC Press LLC, Boca Raton, Estados Unidos. pp ix-x.
- Krochta, J.M. 2002. Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities. En: *Protein-based films and coatings*. Editado por A. Gennadios. CRC Press LLC, Boca Raton, Estados Unidos.
- Labuza. T.P.; Contreras-Medellin. R. 1981. Prediction of moisture protection requirements for foods. *Cereal Foods World*, 26(7): 335.

- Labuza, T.P.; Altunakar, B. 2007. Water activity prediction and moisture sorption isotherms. En: Water activity in foods. Fundamentals and applications. Editado por G.V. Barbosa-Cánovas; A.J. Fontana; Jr.,S.J. Schmidt; T.P. Labuza. IFT Press, Iowa, Estados Unidos.
- La carta de color it8. 2008. Cartas de color, ¿Qué son y para qué sirven? En:
En:http://www.hugorodriguez.com/index_cartas-color.php
- Lacroix, M.; Ouattaraa, B.; Saucierb, L.; Girouxa, M.; Smoragiewicz, W. 2004. Effect of gamma irradiation in presence of ascorbic acid on microbial composition and TBARS concentration of ground beef coated with an edible active coating. *Radiation Physics and Chemistry*, 71: 71–75.
- Landmann, W.; Lovegren, N.V.; Feuge, R.O. 1960. Permeability of some fat products to moisture. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 37:1-4.
- Lara, I.; García, P.; Vendrell, M. 2004. Modifications in cell wall composition after cold storage of calcium-treated strawberry (*Fragaria x ananassa Dutch.*) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 34: 331-339.
- Le Tien, C.; Vachon, C.; Mateescu, A.; Lacroix, M. 2001. Milk protein coatings prevent oxidative browning of apples and potatoes. *Journal of Food Science*, 66(4): 512-516.
- León, K.; Mery, D.; Pedreschi, F.; León, J. 2006. Color measurement in L*a*b* units from RGB digital images. *Food Research International*, 39: 1084–1091.

- Lewis, M.J. 2006. Thermal processing. En: Food processing handbook. Editado por: J.G. Brennan. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Alemania.
- Li, B.; Sun, D. 2002a. Novel methods for rapid freezing and thawing of foods. A review. *Journal of Food Engineering*, 54: 175-182.
- Li, B.; Sun, D. 2002b. Effect of power ultrasound on freezing rate during immersion freezing of potatoes. *Journal of Food Engineering*, 55(3): 277-282.
- Lin S.Y.D; Krochta J.M. 2005. Whey protein coating efficiency on surfactant-modified hydrophobic surfaces. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 5018-23.
- Lin, D.; Zhao, Y. 2007. Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 6: 60-75.
- López Camelo, A.F. 2004. Harvest. En: Manual for the preparation and sale of fruits and vegetables. From field to market. *FAO Agricultural Services Bulletin*, 151.
- Louda, J.W.; Li, J.; Liu, L. ; Winfree, M.N.; Baker, E.W. 1998. Chlorophyll-*a* degradation during cellular senescence and death. *Organic Geochemistry*, 29(5-7): 1233-1251.
- Main, GL; Morris, JR; Wehunt, EJ. 1986. Effect of preprocessing treatments on the firmness and quality characteristics of whole and sliced strawberries after freezing and thermal processing. *Journal of Food Science*, 51(2): 391-394.

- Mali, S.; Grossmann, M.V.E.; García, M.A.; Martino, M.N.; Zaritzky, N.E. 2005. Mechanical and thermal properties of yam starch films. *Food Hydrocolloids*, 19: 157–164.
- Marcuzzo, E.; Sensidoni, A.; Debeaufort, F.; Voilley, A. 2010. Encapsulation of aroma compounds in biopolymeric emulsion based edible films to control flavour release. *Carbohydrate Polymers*, 80: 984–988.
- Martelli, S.M.; Moore, G.; Silva Paes, S.; Gandolfo, C.; Borges Laurindo, J. 2006. Influence of plasticizers on the water sorption isotherms and water vapor permeability of chicken feather keratin films. *LWT - Food Science and Technology*, 39(3): 292-301.
- McHugh, T.H.; Avena-Bustillos, R.; Krochta, J.M. 1993. Hydrophilic edible films: modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *Journal of Food Science*, 58(4): 899-903.
- McHugh T. H.; Krochta, J.M. 1994. Dispersed phase particle size effects on water vapor permeability of whey protein-beeswax edible emulsion films. *Journal of Food Processing and Preservation*, 18: 173-188.
- McHugh, T.H.; Aujard, J.F.; Krochta, J.M. 1994. Plasticized whey protein edible films: water vapor permeability properties. *Journal of Food Science*, 59(2): 416-419.
- McHugh, T.H. 1996. Effects of macromolecular interactions on the permeability of edible films. En: *Macromolecular Interactions in Food Technology*. Editada por N. Parris; A. Kato; L.K. Creamer; J. Pearce. American Chemical Society, Estados Unidos.

- McHugh, T.H.; Senesi, E. 2000. Apple wraps: a novel method to improve the quality and extend the shelf life of fresh-cut apples. *Journal of Food Science*, 65(3): 480-485.
- Médici, S. 2011. Cera de Abeja: Composición, características físico-químicas, control de calidad y exigencias del mercado externo. En:
<http://www.noticiasapicolas.com/cera.html>
- Mehinagic, E.; Royer, G.; Bertrand, D.; Symoneaux, R.; Laurens, F.; Jourjon, F. 2003. Relationship between sensory analysis, penetrometry and Visible-NIR spectroscopy of apples belonging to different cultivars. *Food Quality and Preference*, 14: 473-484.
- Mehinagic, E.; Royer, G.; Symoneaux, R.; Bertrand, D.; Jourjon, F. 2004. Prediction of de sensory quality of apples by physical measurement. *Postharvest Biology and Technology*, 34(3), 257-269.
- Mei, Y.; Zhao, Y.; Yang, J.; Furr, H.C. 2002. Using edible coating to enhance nutritional and sensory qualities of baby carrots. *Journal of Food Science*, 67(5): 1964-1968.
- Mei, Y.; Zhao, Y. 2003. Barrier and mechanical properties of milk protein-based edible films containing nutraceuticals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 1914-1918.
- Mendoza, F.; Aguilera, J.M. 2004. Application of image analysis for classification of ripening bananas. *Journal of Food Science*, 69(9): 474-477.
- Mendoza, F.; Dejmek, P.; Aguilera, J.M. 2007. Colour and image texture analysis in

- classification of commercial potato chips. *Food Research International*, 40: 1146–1154.
- Meza, B.E. 2009. Estudio del efecto de la congelación sobre las características físicas y químicas de sistemas elaborados con proteínas del suero. Tesis Doctoral, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe.
- Mishra, V.K.; Gamage, T.V. 2007. Postharvest handling and treatments of fruits and vegetables. En: *Handbook of food preservation*, Segunda edición. Editado por M.S. Rahman. CRC Press, Boca Raton, Estados Unidos.
- Modise, D.M. 2008. Does freezing and thawing affect the volatile profile of strawberry fruit (*Fragaria×ananassa* Duch.)? *Postharvest Biology and Technology*, 50: 25–30.
- Moreno Pérez, E. del C.; Martínez Damián, M.T.; Reyes López, D.; Pérez Mercado, C.A.; Peña Lomelí, A.; Espinosa Robles, P. 2006. Intensidad de color y contenido de antocianinas en chille guajillo (*Capsicum annuum* L.). *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 12(1): 135-140.
- Morillón, V.; Debeaufort, F.; Blond, G.; Capelle, M.; Voilley, A. 2002. Factors affecting the moisture permeability of lipid-based edible films: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42(1): 67-89.
- Municipalidad de Coronda, 2006.
- En: <http://www.coronda.gov.ar/html/ciudad/frutilla.html>.
- Navarro-Tarazaga, M.L.; Sothornvit, R.; Pérez-Gago, M.B. 2008. Effect of plasticizer type and amount on hydroxypropil methylcellulose-beeswax edible film

- properties and postharvest quality of coated plums (*cv. Angeleno*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 9502-9509.
- Nesvadba, P. 2008. Thermal properties and ice crystal development in frozen foods. En: *Frozen food science and technology*. Editado por J.A. Evans. Blackwell Publishing Ltd. Oxford, Reino Unido.
- Ngo, T.; Wrolstad, R.E.; Zhao, Y. 2007. Color quality of oregon strawberries. Impact of genotype, composition, and processing. *Journal of Food Science*, 72(1): 25-32.
- Noguchi, H. 1981. Hydratation around hydrophobic groups. En: *Water activity: influences on food quality*. Editado por L.B. Rockland; G.F. Stewart. Academic Press, Inc., New York, Estados Unidos.
- Nussinovitch, A.; Lurie, S. 1995. Edible coatings for fruits and vegetables. *Postharvest News and Information*, 6: 53-57.
- Nunes, M.C.N.; Brecht, J.K.; Morais, A.M.M.B.; Sargent, S.A. 1995. Physical and chemical quality characteristics of strawberries after storage are reduced by a short delay to cooling. *Postharvest Biology and Technology*, 6(1): 17-28.
- Osés, J.; Fernández-Pan, I.; Mendoza, M.; Maté, J.I. 2009. Stability of the mechanical properties of edible films based on whey protein isolate during storage at different relative humidity. *Food Hydrocolloids*, 23(1): 125-131.
- Oszmianski, J., Wojdyło, A.; Kolniak, J. 2009. Effect of L-ascorbic acid, sugar, pectin and freeze-thaw treatment on polyphenol content of frozen strawberries. *LWT - Food Science and Technology*, 42(2): 581-586.

- Ozdemir, M.; Floros, J.D. 2008a. Optimization of edible whey protein films containing preservatives for mechanical and optical properties. *Journal of Food Engineering*, 84: 116–123.
- Ozdemir, M.; Floros, J.D. 2008b. Optimization of edible whey protein containing preservatives for water vapor permeability, water solubility and sensory characteristics. *Journal of Food Engineering*, 86: 215-224.
- Park, S.Y.; Marsh, H.S.; J.W.Rhim. 2002. Characteristics of different molecular weight chitosan films affected by the type of organic solvents. *Journal of Food Science*, 67(1): 194-197.
- Park, H.J. 2003. Edible coatings. En: *Food preservation techniques*. Editado por P. Zeuthen; L. Bogh-Sorensen. CRC Press, LLC., Boca Raton, Estados Unidos.
- Park, S.I.; Daeschel, M.A.; Zhao, Y. 2004. Functional properties of antimicrobial lysozyme–chitosan composite films. *Journal of Food Science*, 69(8): 215-221.
- Park, S.I.; Zhao, Y. 2004. Incorporation of a high concentration of mineral or vitamin into chitosan-based films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(7): 1933-1939.
- Park, S.; Stan, S.D.; Daeschel, M.A.; Zhao, Y. 2005. Antifungal coatings on fresh strawberries (*Fragaria × ananassa*) to control mold growth during cold storage. *Journal of Food Science*, 70(4): 202-207.
- Parris, N.; Coffin, D.R. 1997. Composition factors affecting the water vapor permeability and tensile properties of hydrophilic zein films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 1596-1599.

- Pavlath, A.E.; Orts, W. 2009. Edible films and coatings: why, what, and how? En: Edible films and coatings for food applications. Editado por M.E. Embuscado; K.C. Huber. Springer, Nueva York, Estados Unidos.
- Pérez-Gago, M.B.; Nadaud, P.; Krochta, J.M. 1999. Water vapor permeability, solubility, and tensile properties of heat-denatured versus native whey protein films. *Journal of Food Science*, 64(6): 1034-1037.
- Pérez-Gago, M.B.; Krochta, J.M. 2000. Drying temperature effect on water vapor permeability and mechanical properties of whey protein-lipid emulsion films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 2689-2692.
- Pérez-Gago, M.B.; Krochta, J.M. 2001. Lipid particle size effect on water vapor permeability and mechanical properties of whey protein/beeswax emulsion films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 996-1002.
- Pérez-Gago, M.B.; Krochta, J.M. 2002. Formation and properties of whey protein films and coatings. En: Protein-based films and coatings. Editado por A. Gennadios. CRC Press LLC, Boca Raton, Estados Unidos.
- Pérez-Gago, M.B.; Serra, M.; Alonso, M.; Mateos, M.; del Río, M.A. 2003. Effect of solid content and lipid content of whey protein isolate-beeswax edible coatings on color change of fresh-cut apples. *Journal of Food Science*, 68(7): 2186-2191.
- Pérez-Gago, M.B.; Serra, M.; Alonso, M.; Mateos, M.; del Río, M.A. 2005. Effect of whey protein- and hydroxypropyl methylcellulose-based edible composite

- coatings on color change of fresh-cut apples. *Postharvest Biology and Technology*, 36: 77–85.
- Pérez-Gago, M.B.; Serra, M.; del Río, M.A. 2006. Color change of fresh-cut apples coated with whey protein concentrate-based edible coatings. *Postharvest Biology and Technology*, 39: 84-92.
- Pinotti, A.; García, M.A.; Martino, M.N.; Zaritzky, N.E. 2007. Study on microstructure and physical properties of composite films based on chitosan and methylcellulose. *Food Hydrocolloids*, 21: 66–72.
- Polito, V.S.; Larson, K.D.; Pinney, K. 2002. Anatomical and histochemical factors associated with bronzing development in strawberry fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 127(3): 355–357.
- Pombo, M.A.; Dotto, M.C.; Martínez, G.A.; Civello, P.M. 2009. UV-C irradiation delays strawberry fruit softening and modifies the expression of genes involved in cell wall degradation. *Postharvest Biology and Technology*, 51(2): 141-148.
- Qin, Y.; Teixeira da Silva, J.A.; Zhang, L.; Zhang, S. 2008. Transgenic strawberry: state of the art for improved traits. *Biotechnology Advances*, 26: 219-232.
- Rahman, M.S.; Velez-Ruiz. 2007. *Food Preservation by Freezing*. En: *Handbook of food preservation*, Segunda edición. Editado por M.S. Rahman. CRC Press. Boca Raton, Estados Unidos.
- Raybaudi-Massilia, R.M.; Mosqueda-Melgar, J.; Martín-Belloso, O. 2008. Edible alginate-based coating as carrier of antimicrobials to improve shelf-life and

- safety of fresh-cut melon. *International Journal of Food Microbiology*, 121: 313-327.
- Reno, M.J.; Prado, M.E.; Resende, J. 2011. Microstructural changes of frozen strawberries submitted to pre-treatments with additives and vacuum impregnation. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 31(1): 247-256.
- Ribeiro, C., Vicente, A.A.; Teixeira, J.A.; Miranda, C. 2007. Optimization of edible coating composition to retard strawberry fruit senescence. *Postharvest Biology and Technology*, 44: 63-70.
- Rivera, J.M. 2008. Deterioro poscosecha de las frutas y hortalizas frescas por hongos y bacterias. Fundación Hondureña de investigación agrícola. Hoja técnica nº 1, Segunda edición.
- Saccone, K. 2004. Caracterización de la zona de Coronda como productora de frutillas. Subsecretaría de producción y medio ambiente. Municipalidad de Coronda, Santa Fe, Argentina.
- Sebti, I.; Coma, V. 2002. Active edible polysaccharide coating and interactions between solution coating compounds. *Carbohydrate Polymers*, 49: 139-144.
- Seydim, A.C.; Sarikus, G. 2006. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Research International*, 39: 639-644.
- Shellhammer, T.H.; Krochta, J.M. 1997. Whey protein emulsion film performance as affected by lipid type and amount. *Journal of Food Science*, 62(2): 390-394.

- Skurtys, O.; Acevedo, C.; Pedreschi, F.; Enrione, J.; Osorio, F.; Aguilera, J.M. 2010. Food hydrocolloid edible films and coatings. Series: Food Science and Technology.
- Smithers, G.W.; Copeland, A.D. 1997. International whey conference. Trends in Food Science and Technology, 9: 119–123.
- Sobral, P.J.A.; Menegalli, F.C.; Hubinger, M.D.; Roques, M.A. 2001. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. Food Hydrocolloids, 15:423-432.
- Song, Y.; Liu, L.; Shen, H.; You, H.; Luo, Y. 2011. Effect of sodium alginate-based edible coating containing different anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*). Food Control, 22: 608-15.
- Sothornvit, R.; Krochta, J. M. 2000. Water vapor permeability and solubility of films from hydrolyzed whey protein. Journal of Food Science, 65(4): 700-703.
- Sun, D.; Li, B. 2003. Microstructural change of potato tissues frozen by ultrasound-assisted immersion freezing. Journal of Food Engineering, 57: 337–345.
- Suutarinen, J.; Heiska, K.; Moss, P., Autio, K. 2000a. The effect of calcium chloride and sucrose prefreezing treatments on the structure of strawberry tissues. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, 33 (2):89-102.
- Suutarinen, J.; Honkapää, K.; Heiniö, R.L.; Autio, K; Morkkila, M. 2000b. The effect of different prefreezing treatments on the structure of strawberries before and after jam making. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, 33(3): 188-201.

- Suutarinen, J; Honkapaää, K; Heiniö, RL; Autio, K; Mustranta, A; Kappinen, S; Kiutamo, H; Liukkonen-Lija, H; Mokka, M. 2002a. Effects of calcium chloride-based prefreezing treatments on the quality factors of strawberry jams. *Journal of Food Science*, 67(2): 884-894.
- Suutarinen, J; Honkapaää, K; Heiniö, RL; Mustranta, A; Liukkonen-Lija, H; Mokka, M. 2002b. Modelling calcium chloride-based and pectin methylesterase prefreezing treatments of strawberries and jams. *Journal of Food Science*, 67(3): 1240-1248.
- Talcott, S.T. 2007. Chemical components of berry fruits. En: *Berry fruit. Value-added products for health promotion*. Editado por Y. Zhao. CRC Press. Boca Raton, Estados Unidos.
- Talens, P.; Martínez-Navarrete, N.; Fito, P.; Chiralt, A. 2001. Changes in optical and mechanical properties during osmodehydrofreezing of kiwi fruit. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3: 191-199.
- Talens, P.; Krochta, J.M. 2005. Plasticizing effects of beeswax and carnauba wax on tensile and water vapor permeability properties of whey protein films. *Journal of Food Science*, 70(3), 239-243.
- Talja, R.A.; Helén, H.; Roos, Y.H.; Jouppila, K. 2008. Effect of type and content of binary polyol mixtures on physical and mechanical properties of starch-based edible films. *Carbohydrate Polymers*, 71: 269–276.

- Tanada-Palmu, P.S.; Grosso, C.R.F. 2005. Effect of edible wheat gluten-based films and coatings on refrigerated strawberry (*Fragaria ananassa*) quality. *Postharvest Biology and Technology*, 36: 199–208.
- Tapia-Blácido, D.; Sobral, P.; Menegalli, F. 2005. Effect of drying temperature and relative humidity on the mechanical properties of amaranth flour films plasticized with glycerol. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 212: 249–256.
- Torreggiani, D.; Forni, E.; Guercilena, I.; Maestrelli, A.; Bertolo, G.; Archer, G.P.; Kennedy, C.J.; Bone, S; Blond, G.; Contreras-Lopez, E.; Champion, D. 1999. Modification of glass transition temperature through carbohydrates additions: effect upon colour and anthocyanin pigment stability in frozen strawberry juices. *Food Research International*, 32: 441-446.
- Tulipani, S.; Mezzetti, B.; Capocasa, F.; Bompadre, S.; Beekwilder, J.; Ric de Vos, C.H.; Capanoglu, E.; Bovy, A.; Battino, M. 2008. Antioxidants, phenolic compounds, and nutritional quality of different strawberry genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 696–704.
- Tunick, M.H. 2008. Whey protein production and utilization: a brief history. En: *Whey processing, functionality and health benefits*. Editado por C.I. Onwulata; P.J. Huth. IFT Press., Iowa, Estados Unidos.
- Tydeman, E.A.; Parker, M.L.; Faulks, R.M.; Cross, K.L.; Fillery-Travis, A.; Gidley, M.J.; Rich, G.T.; Waldron, K.W. 2010. Effect of carrot (*Daucus carota*) microstructure on carotene bioaccessibility in the upper gastrointestinal tract. 2.

- In vivo digestions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 9855–9860.
- Tzoumaki, M.V.; Biliaderis, C.G.; Vasilakakis, M. 2009. Impact of edible coatings and packaging on quality of white asparagus (*Asparagus officinalis*, L.) during cold storage. *Food Chemistry*, 117: 55–63.
- Ustunol, Z. 2009. Edible films and coatings for meat and poultry. En: *Edible films and coatings for food applications*. Editado por M.E. Embuscado; K.C. Huber. Springer, Nueva York, Estados Unidos.
- Valla, J.J. 1995. *Botánica. Morfología de las plantas superiores*. Edición novena. Editorial Hemisferio Sur S.A.
- Van Buggenhout, S.; Grauwet, T.; Van Loey, A. 2008. Structure processing relation of vacuum infused strawberry tissue frozen under different conditions. *European Food Research and Technology*, 226: 437-448.
- Vanin, F.M.; Sobral, P.J.A.; Menegalli, F.C.; Carvalho, R.A.; Habitante, A.M.Q.B. 2005. Effects of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin-based films. *Food Hydrocolloids*, 19: 899–907.
- Vargas, M.; Albors, A.; Chiralt, A.; González-Martínez, C.; 2006. Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan–oleic acid edible coatings. *Postharvest Biology and Technology*, 41: 164–171.
- Vargas, M.; Albor, A.; Chiralt, A.; González-Martínez, C. 2008. Characterization of chitosan–oleic acid composite films. *Food Hydrocolloids*, 23(2): 536-547.

- Vargas, M.; Albors, A.; Chiralt, A.; González-Martín, C. 2009a. Characterization of chitosan-oleic acid composite films. *Food Hydrocolloids*, 23(2): 536-547.
- Vargas, M.; Chiralt, A.; Albors, A.; González-Martínez, C. 2009b. Effect of chitosan-based edible coatings applied by vacuum impregnation on quality preservation of fresh-cut carrot. *Postharvest Biology and Technology*, 51: 263–271.
- Velázquez de la Cruz, G.; Torres, J.A.; Martín-Polo, M.O. 2001. Temperature effect on the moisture sorption isotherms for methylcellulose and ethylcellulose films. *Journal of Food Engineering*, 48: 91-94.
- Velickova, E.; Tylewicz, U.; Dalla Rosa, M.; Winkelhausen, E.; Kuzmanova, S; Gómez Galindo, F. 2011. Effect of vacuum infused cryoprotectants on the freezing tolerance of strawberry tissues. *LWT - Food Science and Technology*. En Prensa.
- Verdini, R.A. 2002. Estudio de la variación de los parámetros químicos y físicos durante la maduración de quesos blandos conservados por congelación. Tesis de Doctorado en Química. Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe.
- Vicente, A.R.; Martínez, G.A.; Civello, P.M; Chaves, A.R. 2002. Quality of heat-treated strawberry fruit during refrigerated storage. *Postharvest Biology and Technology*, 25: 59-71.
- Vicente, A.R; Costa, M.L; Martínez, G.A; Chavez, A.R; Civello, P.M. 2005. Effect of heat treatments on cell wall degradation and softening in strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 38: 213–222.

- Villegas, R.; O'Connor, T.P.; Kerry, J.P.; Buckley, D.J. 1999. Effect of gelatin dip on the oxidative and color stability of cooked ham and bacon pieces during frozen storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 34: 385–389.
- Vojdani, F.; Torres, A. 1989. Potassium sorbate permeability of methylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose multi-layer films. *Journal of Food Processing and Preservation*, 13: 417–430.
- Vojdani, F.; Torres, A. 1990. Potassium sorbate permeability of methylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose coatings. Effects of fatty acids. *Journal of Food Science*, 55(3): 841–846.
- Vu, K.D.; Hollingsworth, R.G.; Leroux, E.; Salmieri, S.; Lacroix, M. 2011. Development of edible bioactive coating based on modified chitosan for increasing the shelf life of strawberries. *Food Research International*, 44: 198–203.
- Wu, Y.; Weller, C.L.; Hamouz, F.; Cupett, S.L.; Schnepf, M. 2002. Development and application of multicomponent edible coatings and films. A review. *Advances in Food and Nutrition Research*, 44: 347-394.
- Yam, K.L.; Papadakis, S.E. 2004. A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. *Journal of Food Engineering*, 61: 137–142.
- Yang, L.; Paulson, A.T.; Nickerson, M.T. 2010. Mechanical and physical properties of calcium-treated gellan films. *Food Research International*, 43: 1439–1443.

- Zaritzky, N.E. 2000. Factors affecting the stability of frozen foods. En: Managing frozen foods. Editado por C.J. Kennedy. CRC Press. Woodhead Publishing. Cambridge, Inglaterra.
- Zhang, Y.; Han, J.H. 2008. Sorption isotherm and plasticization effect of moisture and plasticizers in pea starch film. *Journal of Food Science*, 73(7): 313-324.
- Zhang, M.; Chen, S. 2010. Application of modified atmosphere packaging of Fruit and vegetables in China. En:
www.worldfoodscience.org
- Zilli, I. 2010. Perfil de la principal zona productora de la provincia. Coronda: nuevas variedades de frutilla hacen perder terrero a la Camarosa. Nota diario El Litoral, 27 de julio de 2010.
- Zinoviadou, K.G.; Koutsoumanis, K.P.; Biliaderis, C.G. 2009. Physico-chemical properties of whey protein isolate films containing oregano oil and their antimicrobial action against spoilage flora of fresh beef. *Meat Science*, 82(3): 338-345.
- Zivanovic, S.; Chi, S.; Draughon, A.E. 2005. Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. *Journal of Food Science*, 70(1): 45-51.