



Tesis doctoral:

**Estrategias para preservar arándanos utilizando envases biodegradables**

Doctorando: Julieta Bof

Directora: María Alejandra García

Codirectora: Delia Locaso

## Resumen

La aplicación de nuevas tecnologías para la conservación postcosecha de arándanos tiene un relevante interés regional, ya que el cultivo de esta fruta en la región del NEA representa un 40% de la producción nacional (aprox. 17000 Tn). Este volumen de fruta fresca se destina en su mayor parte al mercado de exportación, encontrándose que las principales causas de pérdidas de calidad de la fruta en los países de destino están asociadas a podredumbres producidas por mohos. Para subsanar este problema, una alternativa natural y sustentable, es utilizar envases biodegradables formulados con componentes activos. Algunos de estos componentes son biopolímeros y compuestos naturales que se obtienen a partir de los residuos generados de la pesca, la agricultura o la ganadería. Desde un punto de vista medio ambiental, el aprovechamiento de residuos resulta de gran interés puesto que se consigue obtener un rédito económico y valorizar estos desechos, reducir su cantidad y por lo tanto los costos y problemas de su eliminación. El quitosano (derivado n-acetilado de la quitina) es un producto que proviene de residuos de la industria pesquera que tiene propiedades antimicrobianas y posee la capacidad de formar películas al igual que el almidón proveniente de maíz, siendo ambos polisacáridos biodegradables y químicamente compatibles. Asimismo para el desarrollo de materiales que adapten sus propiedades, especialmente las mecánicas, a las necesidades de los envases, se incorporan plastificantes siendo los polialcoholes ampliamente utilizados con este fin. Las matrices pueden ser además funcionalizadas por agregado de aditivos específicos. Al respecto, a partir de subproductos de la industria cítrica pueden obtenerse diversos compuestos activos con capacidad antimicrobiana y antioxidante, los que resultan de particular interés en el desarrollo de envases para la conservación de frutas mínimamente procesadas.

En el presente trabajo de Tesis doctoral se desarrollaron y caracterizaron envases biodegradables activos para preservar la calidad de arándanos almacenados en condiciones de refrigeración. Se utilizó una matriz compuesta de biopolímeros (almidón y quitosano) como base de las formulaciones para obtener las películas biodegradables. Se caracterizaron los polisacáridos de partida, ya que se trabajó con tres tipos de quitosano de bajo, medio y alto peso molecular, denominados BPM, MPM y APM respectivamente. Se estudiaron las mezclas de ambos biopolímeros en distintas proporciones de almidón:quitosano, con el fin de seleccionar la formulación que conduce a películas con propiedades de barrera y mecánicas óptimas. Como agente plastificante se empleó glicerol y, como componentes con actividad antimicrobiana, se incorporó aceite esencial de limón o extracto de semillas de pomelo.

La metodología utilizada para analizar las suspensiones formadoras de películas fue mediante ensayos rotacionales y dinámicos con un reómetro Rheo Stress 600 ThermoHaake (Haake, Alemania) utilizando una geometría plato-plato. En el caso de las formulaciones que incluían los compuestos activos, las películas activas se obtenían a partir de emulsiones, cuya estabilidad se evaluó mediante ensayos en un Turbiscan Classic

(Formulacion, Francia) y a través del estudio del tamaño de gota de las emulsiones (Mastersizer 2000, Malvern, Inglaterra). Posteriormente se realizó la caracterización de las películas obtenidas evaluando la microestructura, las propiedades físicoquímicas, ópticas, mecánicas y de barrera, así como la capacidad antimicrobiana y antioxidante.

Las propiedades de las películas que se determinaron fueron: humedad, mediante secado en estufa a 105°C; espesor con medidor de espesores para sustancias no ferrosas Check Line DCN-900 (New York, USA); solubilidad en agua a 25°C; permeabilidad al vapor de agua según Norma ASTM E-96, usando copas de permeación Payme Elcometer 5100 (Manchester, Reino Unido); propiedades mecánicas de tracción y de punción con texturómetro TA.XT2i- Stable Micro Systems (Inglaterra); análisis cuasiestático uniaxial DMA en un equipo Q800 (TA Instruments (New Castle, EUA) con un sistema de refrigeración de N<sub>2</sub> líquido; permeabilidad al oxígeno en un equipo Mocon OXTRAN modelo 2/21 ML (Lippke, Neuwied, Alemania); propiedades térmicas en una termobalanza TGA 1 Stare System (Mettler-Toledo, Inc., Suiza). El análisis térmico se realizó mediante calorimetría diferencial de barrido en un DSC 1 Stare System (Mettler-Toledo, Inc., Suiza).

Con el fin de estudiar la compatibilidad entre los componentes de las matrices se determinaron los espectros de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) en un espectrofotómetro (Nicolet, iS10 Thermo Scientific, Madison, EEUU). Las propiedades ópticas se evaluaron a través de la medida del color superficial de las películas con un colorímetro triestímulo (CR-300 Minolta, Japón) en el espacio de color CIELAB; la capacidad de barrera al UV-Visible con un espectrofotómetro U-1900 (HITACHI, Japón). El estudio de la microestructura de las matrices desarrolladas se realizó a través de microscopía electrónica de barrido (SEM) en un microscopio JEOL JSM-6300 (Japón).

La actividad antioxidante de las películas activas se evaluó determinando la capacidad antioxidante equivalente del Trolox (TEAC) mientras que la capacidad antimicrobiana se estudió mediante ensayos de halo de inhibición de tres mohos (*Alternaria alternata*, *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium expansum*) y algunas bacterias Gram+ y Gram- (*Listeria innocua* y *Escherichia coli*).

La etapa final comprende ensayos, bajo refrigeración, de arándanos envasados en los materiales diseñados para evaluar el efecto de los mismos sobre los principales atributos de calidad comercial. A tal fin se determinaron el porcentaje de deshidratación mediante pérdida de peso, color superficial con colorímetro triestímulo, porcentaje de deterioro visualmente y firmeza de la fruta mediante ensayo de punción con el texturómetro mencionado anteriormente. Asimismo se determinó la capacidad antimicrobiana frente a los mohos *Botrytis cinerea* y *Alternaria alternata* mediante inoculación artificial.

Las dispersiones formuladas con los dos biopolímeros (almidón de maíz y quitosano) presentaron comportamiento pseudoplástico ( $n < 1$ ) y una viscosidad aparente intermedia a las viscosidades de las formulaciones de un solo componente. Luego del moldeo y secado de las suspensiones, se obtuvieron películas, las que se pudieron separar fácilmente de las placas. La coloración de las películas obtenidas fue levemente amarillenta (parámetro de

cromaticidad  $b^*$  positivo) atribuida a la reacción de Maillard entre grupos amino e hidroxilo del quitosano.

En el estudio de las micrografías SEM de las películas compuestas se observó que las secciones transversales de las mismas eran homogéneas y densas; los cambios evidenciados en los espectros de FTIR demostraron que ambos polímeros son compatibles y que entre ellos se establecen enlaces débiles del tipo puentes de hidrógeno. Esta característica permitió explicar las mejoras observadas en las propiedades de las películas compuestas comparadas con las de las películas de los polímeros individuales.

La permeabilidad al vapor de agua (PVA) de las películas dependió del peso molecular del quitosano empleado, siendo menor cuanto mayor es el PM del quitosano. Asimismo, se observó un efecto sinérgico en las películas compuestas. La solubilidad de los films en agua tuvo una tendencia similar a la PVA. Con respecto a los ensayos de tracción, en general, las películas desarrolladas plastificadas exhibieron un perfil de tensión-deformación típico de los materiales poliméricos dúctiles. El comportamiento mecánico de las películas de quitosano también se vio afectado por su PM. Mientras que las películas formuladas con quitosano APM fueron frágiles y rígidas, debido a que mostraban altos valores de módulo de elasticidad y de resistencia a la tracción y bajos valores de elongación a la ruptura, las formuladas con MPM y BPM resultaron deformables y flexibles.

Cuando se incorporaron los agentes activos en la formulación de las películas, en las micrografías SEM se observó una matriz homogénea en los films con extracto de semillas de pomelo, mientras que en los materiales con aceite esencial de limón se observó la separación de la fase oleosa, sólo a nivel microscópico. Se demostró la capacidad antimicrobiana de los materiales desarrollados.

Si bien la pérdida de peso de los arándanos envasados fue similar a la fruta control, los demás atributos de calidad resultaron aceptables. En los ensayos antimicrobianos *in vitro* e *in vivo* con fruta fresca, se encontró que hubo control del crecimiento fúngico con el uso de películas biodegradables activas, siendo más efectiva la formulación con extracto de semillas de pomelo.

Así, de los resultados obtenidos en el presente trabajo de Tesis doctoral puede concluirse que fue posible obtener materiales compuestos a partir de hidrocoloides, biopolímeros y sus mezclas con aditivos específicos. Los materiales compuestos obtenidos son biodegradables y tienen adecuadas propiedades de resistencia mecánica y a la humedad. Se diseñaron y obtuvieron envases a partir de los materiales formulados que permitieron preservar la calidad de arándanos con la ventaja de su bajo impacto ambiental, permeabilidad selectiva a gases y capacidad antimicrobiana.