

**Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas,
Químicas y Naturales. Secretaría de Investigación y Postgrado.
Doctorado en Ciencias Aplicadas**

Doctoranda
Mgter. Valeria Daiana Trela

Preservación de frutas tropicales (Quinoto, Mora y Carambola) aplicando recubrimientos comestibles

**Tesis de Doctorado presentada para obtener el título de
“Doctor en Ciencias Aplicadas”**

“Este documento es resultado del financiamiento otorgado por el Estado Nacional, por lo tanto queda sujeto al cumplimiento de la Ley N° 26.899”.

Director
Dr. Oscar Alfredo Albani
Co-Directora
Dra. Laura Ana Ramallo

Posadas, Misiones 2022



Esta obra está licenciado bajo Licencia Creative Commons (CC) Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>



Universidad Nacional De Misiones
Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales



PRESERVACIÓN DE FRUTAS TROPICALES (QUINOTO, MORA Y CARAMBOLA) APLICANDO RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES

Por Mgter. Valeria Daiana TRELA

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Exactas, Química y Naturales de la
Universidad Nacional de Misiones para optar al grado académico de

DOCTOR EN CIENCIAS APLICADAS

Posadas, República Argentina

2022

Director

Dr Oscar ALBANI

Co-Directora

Dra. Ana Laura RAMALLO

TRIBUNAL EXAMINADOR (Resolución Consejo Directivo N° 508/19)

Dr. Fernando FELISSIA

Universidad Nacional de Misiones

Dra. Alicia Ester ARES

Universidad Nacional de Misiones

Dra. Olivia Valeria LOPEZ

Universidad Nacional del Sur (Bahía blanca)

DEFENSA ORAL Y PUBLICA (Resolución Consejo Directivo N°)

Posadas, ..., de Marzo de 2022

**PRESERVACIÓN DE FRUTAS TROPICALES (QUINOTO, MORA Y
CARAMBOLA) APLICANDO RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES**

Mgter. Valeria Daiana TRELA

Lugar de desarrollo del trabajo de tesis

Laboratorio de Preservación y Envases - Instituto de Materiales de Misiones UNaM-
CONICET

COMISION DE SUPERVISIÓN (Resolución Consejo Directivo N°)

Dra. María Cristina AREA	Universidad Nacional de Misiones
Dra. María Alicia MARTOS	Universidad Nacional de Misiones
Dra. Olivia Valeria LOPEZ	Universidad Nacional del Sur (Bahía blanca)

CARRERA DE DOCTORADO EN CIENCIAS APLICADAS

Proyecto de Carrera N° 10933/11

Con reconocimiento de la Comisión Nacional de Evaluación y Acreditación
Universitaria (CONEAU) N° 344/11

A mi papá

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en primer lugar a Dios por permitirme que pueda estar hoy donde estoy y a todas las personas que hicieron posible la realización de esta tesis:

Un especial agradecimiento a mi Director Oscar Albani y a mi Codirectora Laura Ramallo por confiar en mí para realizar este trabajo, por brindarme sus conocimientos, dedicación, paciencia y por permitirme trabajar con total libertad pero con apoyo constante.

Al CONICET por otorgarme la Beca Doctoral y ser el sustento financiero para el desarrollo de esta investigación.

A la FCEQyN y UNaM, por formarme académicamente tanto en la carrera de grado como de posgrado.

Al Doctorado en Ciencias Aplicadas, al Tribunal Evaluador, a la Comisión de Seguimiento y en especial, a las secretarías, por su impecable labor administrativa.

Al Ing. Jorge Huk, por brindarme las frutas de carambola y por transmitirme su energía y motivación.

Al Dr. Fernando Felissia, por su paciencia, predisposición y por permitirme realizar las mediciones de propiedades mecánicas de las películas.

Al Dr. Aníbal Slavutsky por su buena predisposición, por guiarme y enseñarme durante la pasantía para realizar medidas experimentales en UNSa,

Al grupo de preservación y envases (Nancy, Pauli, Pame y Ariel). Por brindarme un espacio donde pude compartir no solo experiencias laborales sino también personales, y especialmente por las cálidas charlas y mates.

A Patricia, Sergio y Marta, que desde las cátedras me alentaron y apoyaron siempre.

A mis compañeros de cátedra, Moni, Juli, Gustavo y Juan, por brindarme su apoyo y compañerismo.

A mi familia, mi papá por enseñarme tantas cosas, lástima que muchas me di cuenta tarde. A mi mamá por ser mi ejemplo de lucha constante, por enseñarme a no bajar nunca los brazos. A mis hermanas (Carina, Eliane y Carla) y cuñados por entenderme, apoyarme incondicionalmente, por el cariño y por regalarme los mejores sobrinos del universo. A ustedes, mi infinito amor y gratitud.

A mis queridos abuelos, sinónimo de sabiduría, hoy 4 ángeles. Me enseñaron y demostraron con su ejemplo tantas cosas vitales para la vida.

A mis amigas de la vida: Romi, Yami, Nadia, Pao, Betha, Marian, Su y Ely, por la amistad, comprensión y apoyo continuo.

A mis amigas de la facu (Tania, Cintia, Moni y Marce) por estar siempre, a pesar de la distancia.

A mi familia política, por el cariño, el apoyo y por estar siempre presentes.

A mi compañero de vida, Marito.

A Ciro, maravilloso hijo, tu llegada me demostró el verdadero amor.

.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	I
INDICE.....	II
INDICE DE FIGURAS.....	VII
INDICE DE TABLAS.....	XI
LISTA DE ABREVIATURAS	XIII
RESUMEN	XIV
SUMMARY	XV
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN.....	14
1.1 PLANTEO DEL PROBLEMA.....	14
1.2 OBJETIVOS	14
1.2.1 <i>General</i>	14
1.2.2 <i>Específicos</i>	15
1.3 DESARROLLO DE LA TESIS.....	15
CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO	14
2.1 EL ALMIDÓN	14
2.1.1 <i>Composición química</i>	15
2.1.1.1 Amilosa	15
2.1.1.2 Amilopectina	16
2.1.2 <i>Estructura granular</i>	16
2.1.3 <i>Propiedades fisicoquímicas</i>	18
2.1.3.1 Gelatinización	18
2.1.3.2 Retrogradación	19
2.2 ALMIDÓN DE MANDIOCA	20
2.2.1 <i>Producción de almidón de mandioca en Misiones</i>	21
2.2.2 <i>Situación del almidón modificado de mandioca en Misiones</i>	22
2.3 MODIFICACIÓN QUÍMICA DEL ALMIDÓN	22
2.3.1 <i>Aplicaciones de los almidones modificados</i>	23
2.4 ACETILACIÓN.....	25
2.5 FUNDAMENTO DE LAS TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN DE LOS ALMIDONES	27
2.5.1 <i>Grado de sustitución</i>	27
2.5.2 <i>Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)</i>	27
2.5.3 <i>Solubilidad y poder de hinchamiento</i>	28
2.5.4 <i>Microscopía electrónica de barrido</i>	29
2.5.5 <i>Propiedades de las pastas. Viscoamilógrafo Brabender</i>	29
2.6 PLÁSTICOS: PROBLEMÁTICA AMBIENTAL.....	31
2.6.1 <i>Plásticos biodegradables</i>	32
2.6.2 <i>Composición de películas y recubrimientos biodegradables</i>	32
2.6.3 <i>Películas y recubrimientos a partir de almidón</i>	34
2.6.4 <i>Películas y recubrimientos a partir de almidón acetilado</i>	36
2.7 FUNDAMENTOS DE LAS TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS DE ALMIDÓN	37
2.7.1 <i>Solubilidad</i>	37
2.7.2 <i>Propiedades mecánicas</i>	37

2.7.3	<i>Propiedades ópticas</i>	38
2.7.4	<i>Permeabilidad al vapor de agua</i>	39
2.7.5	<i>Medida del ángulo de contacto</i>	40
2.8	RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES	41
2.8.1	<i>Recubrimientos en frutas</i>	42
2.9	CARACTERÍSTICAS DE LAS FRUTAS EMPLEADAS EN LA APLICACIÓN DE RECUBRIMIENTOS A BASE DE ALMIDÓN DE MANDIOCA	43
2.9.1	<i>Carambola</i>	43
2.9.2	<i>Quinoto</i>	44
2.9.3	<i>Mora</i>	45
CAPÍTULO 3: SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE ALMIDÓN ACETILADO DE MANDIOCA		49
3.1	INTRODUCCION	49
3.2	OBJETIVOS:.....	50
3.3	MATERIALES Y MÉTODOS	50
3.3.1	<i>Materia prima</i>	50
3.3.2	<i>Obtención de Almidón acetilado</i>	51
–	Método 1: Acetilación de bajo Grado de Sustitución.	51
–	Método 2: Acetilación de valores medios de Grado de Sustitución.	51
3.3.2.1	Condiciones experimentales de la síntesis del almidón acetilado	52
3.3.3	<i>Caracterización del almidón acetilado</i>	54
3.3.3.1	Determinación del grado de sustitución	54
3.3.3.2	Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier	55
3.3.3.3	Microscopía electrónica de barrido.....	55
3.3.3.4	Isotermas de sorción	56
3.3.3.5	Índice de solubilidad en agua y poder de hinchamiento.....	58
3.3.3.6	Claridad de las pastas	59
3.3.3.7	Propiedades de las pastas. Viscoamilógrafo Brabender.....	59
3.4	RESULTADOS Y DISCUSION	59
3.4.1	<i>Grados de sustitución de los almidones acetilados</i>	59
3.4.2	<i>Caracterización de los almidones acetilados</i>	65
3.4.2.1	Espectrofotometría Infrarrojo con Transformada de Fourier	65
3.4.2.2	Propiedades morfológicas.....	67
3.4.2.3	Índice de solubilidad en agua (ISA) y poder de hinchamiento (PH)	68
3.4.2.4	Isotermas de sorción	72
3.4.2.5	Claridad de las pastas	75
3.4.2.6	Propiedades de las pastas. Viscoamilógrafo Brabender.....	76
3.5	CONCLUSIONES	78
CAPÍTULO 4: OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS DE ALMIDÓN NATIVO Y ACETILADOS		81
4.1	INTRODUCCIÓN	81
4.2	OBJETIVOS.....	82
4.3	MATERIALES Y METODOS	82
4.3.1	<i>Obtención de las películas</i>	82
4.3.2	<i>Obtención de películas de Almidón nativo</i>	82
4.3.2.1	Selección de la concentración adecuada de almidón.....	82

4.3.2.2	Selección de los niveles adecuados de plastificante	82
4.3.3	<i>Obtención de películas de almidón acetilado</i>	83
4.3.4	<i>Obtención de películas mixtas: Almidón nativo-almidón acetilado</i>	83
4.3.5	<i>Caracterización de las películas</i>	83
4.3.5.1	Espesor	83
4.3.5.2	Humedad	83
4.3.5.3	Solubilidad	84
4.3.5.4	Isotermas de sorción	84
4.3.5.5	Propiedades mecánicas	84
4.3.5.6	Permeabilidad al vapor de agua	85
4.3.5.7	Propiedades ópticas	86
4.3.5.8	Medida del ángulo de contacto.....	87
4.3.5.9	Microscopia electrónica de Barrido (SEM)	87
4.4	RESULTADOS Y DISCUSION	87
4.4.1	<i>Obtención de películas</i>	87
4.4.2	<i>Propiedades mecánicas:</i>	89
4.4.2.1	Películas de almidón nativo	89
4.4.2.2	Películas de almidón acetilado	93
	Efecto del glicerol.....	93
4.4.2.3	Películas obtenidas con mezclas de AA/AN.....	96
	Efecto del glicerol.....	96
4.4.3	<i>Efecto del grado de sustitución</i>	97
4.4.4	<i>Contenido de humedad de las películas</i>	99
4.4.5	<i>Solubilidad en agua</i>	100
4.4.5.1	Efecto del contenido de glicerol	100
4.4.5.2	Efecto del Grado de Sustitución	101
4.4.6	<i>Isotermas de sorción</i>	102
4.4.6.1	Efecto del GS en la humedad de equilibrio	102
4.4.6.2	Efecto del glicerol	104
4.4.7	<i>Propiedades ópticas</i>	105
4.4.7.1	Efecto del glicerol	106
4.4.7.2	Efecto del GS	108
4.4.8	<i>Microscopia electrónica de barrido (SEM)</i>	110
4.4.9	<i>Ángulo de contacto</i>	112
4.4.10	<i>Permeabilidad al vapor de agua</i>	113
4.4.10.1	Efecto del contenido de glicerol	113
4.4.10.2	Efecto del grado de sustitución	115
4.5	CONCLUSIONES	116
CAPÍTULO 5: APLICACIÓN DE RECUBRIMIENTOS A FRUTAS		120
5.1	INTRODUCCION	120
5.2	OBJETIVOS	121
5.3	PARTE A: CARAMBOLA.....	122
APLICACIÓN DE RECUBRIMIENTO A BASE DE ALMIDÓN DE MANDIOCA A FRUTAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS		122
5.4	MATERIALES Y METODOS	122
5.4.1	<i>Acondicionamiento de las frutas</i>	122

5.4.2	<i>Aplicación del recubrimiento</i>	122
5.4.3	<i>Ensayos de caracterización</i>	123
5.4.3.1	<i>Pérdida de masa</i>	123
5.4.3.2	<i>Sólidos solubles totales</i>	123
5.4.3.3	<i>Medición de pH</i>	123
5.4.3.4	<i>Parámetros de color</i>	123
5.5	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	125
5.5.1	<i>Pérdida de peso y apariencia de las frutas recubiertas</i>	125
5.5.2	<i>Contenido de agua</i>	127
5.5.3	<i>Sólidos solubles totales</i>	128
5.5.4	<i>pH</i>	129
5.5.5	<i>Color</i>	130
5.6	PARTE B: QUINOTOS	133
APLICACIÓN DE RECUBRIMIENTOS A BASE DE ALMIDON ACETILADO DE MANDIOCA EN FRUTAS ENTERAS		133
5.7	MATERIALES Y MÉTODOS	133
5.7.1	<i>Selección y acondicionamiento de las frutas</i>	133
5.7.2	<i>Preparación y aplicación del recubrimiento</i>	133
5.7.3	<i>Evaluación de textura</i>	133
5.7.4	<i>Ángulo de contacto y tensión superficial crítica de las soluciones filmogénicas sobre la superficie de quinoto</i>	134
5.8	RESULTADOS	135
5.8.1	<i>Pérdida de peso y apariencia</i>	135
5.8.2	<i>Sólidos solubles totales</i>	137
5.8.3	<i>Firmeza:</i>	138
5.8.4	<i>Variación del color</i>	139
5.8.5	<i>Ángulo de contacto y tensión superficial crítica</i>	142
5.9	CONCLUSIONES	144
CAPÍTULO 6: CONCLUSIONES GENERALES		147
CAPÍTULO 7: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		150
INFORMACION COMPLEMENTARIA		160
8.1	RECOMENDACIONES PARA TRABAJOS FUTUROS	161
8.2	PRODUCCIONES CIENTIFICAS	162
	<i>Publicaciones en revistas</i>	162
	<i>Publicaciones en congresos</i>	162
8.3	PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN DENTRO DE LOS CUALES SE DESARROLLÓ LA TESIS	164
8.4	BECA OBTENIDA EN EL DESARROLLO DE LA TESIS	165
8.5	ANEXOS	166
	<i>ANEXO I: Capítulo IX- CAA - Almidón</i>	166
	<i>ANEXO II: Capítulo XVIII- CAA – Almidones modificados</i>	167
	<i>ANEXO III: Informe de Re-evaluación de los derivados de almidón. Autoridades europeas de seguridad alimentaria.</i>	169
	<i>ANEXO IV: Solubilidad de almidones</i>	172
	<i>ANEXO V: Poder de hinchamiento de almidones</i>	173

<i>ANEXO VI: Solubilidad de películas obtenidas a partir de almidón acetilado puro y mezclas (50:50) con almidón nativo.....</i>	<i>174</i>
<i>ANEXO VII: Medidas del ángulo de contacto de películas medidas del lado expuesto al aire y del lado de la placa</i>	<i>175</i>

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1: Estructura de amilosa y amilopectina.....	15
Figura 2.2: Esquema de la estructura lamelar de un gránulo de almidón. (A) Láminas microcristalinas separadas por anillos de crecimiento amorfo. (B) Vista ampliada de las regiones amorfas y cristalinas	17
Figura 2.3: Representación esquemática de una sección de amilopectina que indica el patrón de los enlaces del tipo α -(1 \rightarrow 4) de las cadenas y los puntos de ramificación con enlaces del tipo α -(1 \rightarrow 6).	18
Figura 2.4: Curva de viscosidad en función de la temperatura de una suspensión acuosa de almidón durante la gelatinización térmica.....	19
Figura 2.5: Plantación de mandioca	20
Figura 2.6: Reacción química de acetilación del almidón	26
Figura 2.7: Esquema del almidón nativo (3 -OH disponibles) y almidón acetilado totalmente sustituido (GS=3)	26
Figura 2.8: Diferentes moléculas según el rango de número de onda.....	28
Figura 2.9: Perfil de viscosidad de almidón de mandioca nativo obtenido con un viscoamilografo Brabender.....	30
Figura 2.10: Curva tensión vs deformación de una película de almidón de mandioca nativo, donde se observan los parámetros: tensión a la ruptura (σ), porcentaje máximo de elongación (ϵ) y módulo elástico (E)	38
Figura 2.11: Gota de líquido sobre una superficie sólida en estado de equilibrio	41
Figura 2.12: Fotografía de la fruta de carambola.....	44
Figura 2.13: Fotografía de frutas de quinoto.....	45
Figura 2.14: Fotografía de frutas de mora.....	46
Figura 3.1: Diagrama de flujo de los métodos de acetilación (Método 1: bajos GS; Método 2: medios GS)	52
Figura 3.2: Variación del GS en función de la concentración de anhídrido acético	61
Figura 3.3: Variación del GS respecto a la concentración de NaOH	63
Figura 3.4: Variación del GS respecto al tiempo de reacción.....	64
Figura 3.5: Espectro FTIR de almidones de mandioca nativo y acetilados	66
Figura 3.6: Micrografías SEM de almidones de mandioca nativo (AN) y acetilados (AA0,41, AA0,89, AA1,28) con diferentes magnificaciones (A) 229X; (B) 457X y (C) 1140X.....	67
Figura 3.7: Índice de solubilidad en agua a distintas temperaturas para almidones de mandioca nativo y acetilados.....	69
Figura 3.8: Poder de hinchamiento a distintas temperaturas para almidones de mandioca nativo y acetilados	70

Figura 3.9: Índice de solubilidad en agua y poder de hinchamiento de almidones de mandioca nativo y acetilados con diferentes GS a distintas temperaturas.....	71
Figura 3.10: Isotermas de adsorción de almidones de mandioca nativo y acetilados.....	73
Figura 3.11: Amilogramas de A) almidón nativo, almidones acetilados B) GS=0,04, C) GS=0,08 y D) GS=0,88. Las curvas azules representan la variación de viscosidad y la roja la temperatura durante el ensayo	78
Figura 4.1: Fotografías de probeta de película de almidón (A) y película preparada para realizar el ensayo mecánico (B).....	85
Figura 4.2: Celdas utilizadas para las determinaciones de permeabilidad al vapor de agua.....	85
Figura 4.3: Dispersiones con diferentes concentraciones de almidón de mandioca nativo. A) 4%; b) 5% y C) 6%.....	88
Figura 4.4: A) Dispersión de almidón sobre placa de acrílico. B) Película desmoldada. Almidón de mandioca nativo (4%).....	88
Figura 4.5: Película obtenida con almidón acetilado GS igual a 1,28.....	89
Figura 4.6: Perfiles mecánicos de películas de almidón nativo con diferentes concentraciones de glicerol.....	90
Figura 4.7: Influencia del contenido de glicerol sobre las propiedades mecánicas de almidón de mandioca. A) Esfuerzo máximo de ruptura y B) %Elongación.	92
Figura 4.8: Influencia del contenido de glicerol sobre la tensión a la ruptura (σ) de películas de almidón Nativo y acetilado A) GS=0,04 y B) GS=0,22.....	94
Figura 4.9: Influencia del contenido de glicerol sobre la elongación de películas de almidón Nativo y acetilado A) GS=0,04 y B) GS=0,22	95
Figura 4.10: Influencia del contenido de glicerol sobre la tensión a la ruptura (σ) de películas de AN, AA y mezclas de AN/AA. A) GS=0,04 y B) GS=0,22	96
Figura 4.11: Influencia del contenido de glicerol sobre la elongación de películas de AN, AA y mezclas de AN/AA. A) GS=0,04 y B) GS=0,22	97
Figura 4.12: Efecto del grado de sustitución en la fuerza de ruptura de películas de almidón acetilado. A)20% glicerol y B)30% glicerol	98
Figura 4.13: Efecto del grado de sustitución el % de Elongación en películas de almidón acetilado. A)20% glicerol y B)30% glicerol	99
Figura 4.14: Contenido de humedad de las películas de AN y AA con diferentes GS.....	100
Figura 4.15: Solubilidad de películas de almidón nativo y almidones acetilados con GS 0,22 en función del contenido de glicerol	101
Figura 4.16: Solubilidad de películas de AN y AA con diferentes GS.....	102
Figura 4.17: Isotermas de sorción (25°C) de películas obtenidas a partir de almidón de mandioca nativo (AN) y acetilados (AA) con distintos y 20% de glicerol	104

Figura 4.18: Isotermas de adsorción de películas de almidón acetilado (GS=0,11) con diferentes contenidos de glicerol (20 y 30%).....	105
Figura 4.19: Película de almidón nativo de mandioca con 20% glicerol.....	106
Figura 4.20: Espectro de absorción de luz UV-Visible de almidón nativo con diferentes concentraciones de glicerol (20 y 30% de glicerol).....	107
Figura 4.21: Espectro de absorbancia de almidón acetilado (GS=0,10) con diferentes concentraciones de glicerol.....	107
Figura 4.22: Influencia del grado de sustitución en la opacidad de películas conteniendo 20 y 30% de glicerol.....	108
Figura 4.23: Influencia del grado de sustitución en la barrera al UV de películas conteniendo 20 y 30% de glicerol.....	109
Figura 4.24: Influencia del grado de sustitución en la transparencia de películas conteniendo 20 y 30% de glicerol.....	109
Figura 4.25: Espectro de absorbancia de películas de almidones: Nativo (AN) y acetilados(AA) con distintos GS y 20% glicerol.....	110
Figura 4.26: Películas obtenidas de almidón de mandioca nativo (A) y acetilados con diferentes GS: 0,17 (B); 0,41 (C) y 1,04 (D).....	110
Figura 4.27: Imágenes SEM del corte transversal de películas de almidón nativo (A) y almidones acetilados GS 0,11 (B); GS 0,90 (C) y GS 1,04 (D).....	111
Figura 4.28: Ángulo de contacto de películas obtenidas a partir de almidones nativo y acetilados con diferentes GS y 20% de glicerol.....	112
Figura 4.29: Efecto de la concentración de glicerol en la permeabilidad de películas de almidón al 4%.....	114
Figura 4.30: Efecto de grado de sustitución en la permeabilidad al vapor de agua de las películas..	116
Figura 5.1: Círculo de cromaticidad en Sistema CIEL *a*b*.....	124
Figura 5.3: Pérdida de peso de rodajas de carambola recubiertas con almidón de mandioca al 4, 5 y 6% con 1,5% de glicerol durante el almacenamiento en refrigeración.....	125
Figura 5.4: Fotografías de rodajas de carambola recubiertas con almidón de mandioca, día 0 (fotos a la izquierda) y luego de los 12 días de almacenamiento a temperatura de 8°C (fotos a la derecha).	127
Figura 5.5: Variación del contenido de agua de las frutas durante el almacenamiento.....	128
Figura 5.6: Evolución del parámetro L* en frutas de carambola sin recubrir (control) y recubiertas con AN (4, 5 y 6%) durante el almacenamiento a 8°C.....	131
Figura 5.7: Evolución del parámetro a* en frutas de carambola sin recubrir (control) y recubiertas con AN (4, 5 y 6%) durante el almacenamiento a 8°C.....	131
Figura 5.8: Evolución del parámetro b* en frutas de carambola sin recubrir (control) y recubiertas con AN (4, 5 y 6%) durante el almacenamiento a 8°C.....	132
Figura 5.2: Fotografía de la medición del ángulo de contacto sobre la superficie de quinoto.....	134

Figura 5.9: Pérdida de peso de frutas de quinoto con y sin recubrimiento durante el almacenamiento a 8°C. Control: fruta sin recubrir, AN: recubrimiento con almidón nativo, AA0,08: recubrimiento con almidón acetilado (GS=0,08) y AA0,90: recubrimiento con almidón acetilado (GS=0,90).....	136
Figura 5.10: Frutos de quinoto al final del almacenamiento (31 días a 8°C). Control (C), recubrimiento con almidón nativo (AN), recubrimiento con almidón acetilado (AA0,08) y recubrimiento con almidón acetilado (AA0,9).....	137
Figura 5.11: Sólidos solubles totales de fruta fresca antes de recubrir (AR) al día 0 y frutas: Control, recubrimiento con almidón nativo (AN), recubrimientos con almidón acetilado (GS=0,08) y (GS=0,90) a los 31 días de almacenamiento a 8°C.....	138
Figura 5.12: Fuerza máxima de fruta fresca antes de recubrir (AR) al día 0 y frutas: Control, recubrimiento con almidón nativo (AN), recubrimientos con almidón acetilado (GS=0,08) y (GS=0,90) a los 31 días de almacenamiento a 8°C.....	138
Figura 5.13: Evolución del parámetro L* en frutas de quinoto sin recubrir (control) y recubiertas con AN, AA0,08 y AA0,90 durante el almacenamiento a 8°C.....	139
Figura 5.14: Evolución del parámetro a* en frutas de quinoto sin recubrir (control) y recubiertas con AN, AA0,08 y AA0,90 durante el almacenamiento a 8°C.....	140
Figura 5.15: Evolución del parámetro b* en frutas de quinoto sin recubrir (control) y recubiertas con AN, AA0,08 y AA0,90 durante el almacenamiento a 8°C.....	140
Figura 5.16: Regresión lineal para el cálculo de las tensiones superficiales del quinoto.....	143
Figura 8.1: Viscosidad de las pastas de almidón nativo (AN) y almidones acetilados (AA0,04; AA0,08 y AA0,20).....	174
Figura 8.2: Ángulo de contacto de películas con 20% Glicerol del lado expuesto al aire y a la placa.	175
Figura 8.3: Ángulo de contacto de películas con 30% Glicerol del lado expuesto al aire y a la placa.	175

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1: <i>Propiedades generales de diferentes almidones.....</i>	14
Tabla 2.2: <i>Características de almidones usados en la industria alimentaria.....</i>	16
Tabla 2.3. <i>Propiedades y aplicaciones de almidones modificados</i>	24
Tabla 3.1. <i>Condiciones experimentales de las reacciones de acetilación empleando los métodos 1 y 2 de acetilación</i>	53
Tabla 3.2: <i>Actividades de agua de soluciones saturadas de diferentes sales.....</i>	56
Tabla 3.3: <i>Grado de sustitución (GS) y porcentaje de grupos acetilo (GA%) de almidones de mandioca acetilados obtenidos por el método 1</i>	60
Tabla 3.4. <i>Grado de sustitución y porcentaje de grupos acetilos de almidones acetilados obtenidos mediante el método 2, variando la concentración de catalizador.....</i>	62
Tabla 3.5. <i>Grado de sustitución y porcentaje de grupos acetilos de almidones acetilado variando el tiempo de reacción</i>	64
Tabla 3.6. <i>Señales características de FTIR de almidones nativos</i>	65
Tabla 3.7: <i>Parámetros de ajuste del modelo de GAB de las isotermas de sorción a 25 °C de almidones de mandioca nativo y acetilados.....</i>	74
Tabla 3.8: <i>Claridad de las pastas de almidones de mandioca nativo y acetilados</i>	75
Tabla 3.9: <i>Propiedades de las pastas de almidones de mandioca nativo y acetilados.....</i>	76
Tabla 4.1. <i>Tensión a la ruptura (σ_r), deformación máxima a la ruptura (ϵ_{max}) y módulo elástico (E) de las películas de almidón nativo con diferentes concentraciones de glicerol (0 a 50%).....</i>	90
Tabla 4.2: <i>Isotermas de sorción (25°C) de películas obtenidas a partir de almidón de mandioca nativo (AN) y acetilado (AA) con 20% de glicerol</i>	103
Tabla 4.3: <i>Parámetros de isotermas de sorción (25°C) de películas obtenidas a partir de almidón de mandioca acetilado con GS 0,11 con diferentes concentraciones de glicerol.....</i>	105
Tabla 4.4. <i>Propiedades ópticas de películas de almidón nativo y almidón acetilado (GS=0,10) con diferentes concentraciones de glicerol.....</i>	106
Tabla 4.5. <i>Velocidad de transmisión de vapor de agua y Permeabilidad al vapor de agua de películas de AN con diferentes concentraciones de glicerol.....</i>	114
Tabla 4.6: <i>Velocidad de transmisión de vapor de agua y Permeabilidad al vapor de agua de películas de AN y AA con 20% glicerol.....</i>	115
Tabla 5.2: <i>Variación de los sólidos solubles de rodajas de carambola recubiertas con almidón de mandioca durante el almacenamiento</i>	129
Tabla 5.3: <i>Variación de pH de rodajas de carambola recubiertas con almidón de mandioca durante el almacenamiento.....</i>	130
Tabla 5.4: <i>Parámetros de coloración HUE, CHOMA de rodajas de carambola recubiertas con almidón de mandioca al día 0 y 12 de almacenamiento a 8°C.....</i>	132

Tabla 5.1: Componentes de tensión superficial de los líquidos puros.....	135
Tabla 5.5: Valores promedio \pm Variación Standard del parámetro a^* de color de frutas de quinotos durante el almacenamiento	141
Tabla 5.6: Valores promedio \pm Variación Standard de los parámetros HUE, CHOMA y ΔE de color de quinotos durante el periodo de almacenamiento	141
Tabla 5.7: Ángulo de contacto de las soluciones patrones sobre las superficies de quinotos y las películas.....	142
Tabla 5.8: Tensión superficial crítica (γ_c), tensión superficial (γ_{sv}) y componentes polares (γ_{S^P}) y dispersivas (γ_{S^d}) de quinoto y películas de almidón.....	143
Tabla 8.1: Solubilidad en agua de almidón nativo y acetilados con diferentes grados de sustitución a distintas temperaturas	172
Tabla 8.2: Poder de hinchamiento de almidón nativo y acetilados con diferentes grados de sustitución a distintas temperaturas	173

LISTA DE ABREVIATURAS

AA: Almidón Acetilado

AN: Almidón Nativo

aw: actividad de agua

CAA: Código Alimentario Argentino

FTIR: Infrarrojo con transformada de Fourier

GA%: Porcentaje de grupos acetilos

GS: Grado de Sustitución

HR: Humedad Relativa

ISA: Índice de solubilidad en agua

PH: Poder de hinchamiento

P: Permeabilidad al vapor de agua

SEM: Microscopía electrónica de barrido

UB: Unidades Brabender

Vmax: Viscosidad máxima

VPC: Viscosidad de la pasta caliente

VPF: Viscosidad de la pasta fría

VWTR: Velocidad de transmisión de vapor de agua

RESUMEN

En Argentina, la provincia de Misiones, es la que posee mayor producción de mandioca y la industria del “almidón” y sus derivados representan una regular fuente de ingresos en la explotación agraria de la provincia. El almidón puede ser utilizado en la formulación de películas y como material de recubrimientos en frutas, para prolongar su vida útil y resulta interesante por ser económico, abundante, biodegradable y comestible.

En el presente trabajo de tesis se desarrolla la síntesis de almidón acetilado de mandioca de grados de sustitución (GS) bajos e intermedios (menores a 1,5; correspondiente al rango de solubilidad en agua). Para ello se utilizaron dos métodos de acetilación, uno para obtener GS bajos, hasta 0,17; y otro para GS más elevados, entre 0,41 y 1,36.

A los almidones acetilados se les realizó una caracterización morfológica, funcional y físico-química. La determinación del GS se realizó mediante métodos químicos y la formación del acetato se confirmó con medidas de FTIR.

Los almidones acetilados fueron empleados en la obtención de películas mediante el método de moldeo y deshidratación. Se evaluó el efecto del grado de sustitución del almidón acetilado y las concentraciones de polímero y plastificante sobre las propiedades mecánicas, morfológicas y de transporte (permeabilidad) de las películas resultantes. Los resultados permitieron seleccionar ciertas formulaciones para ser aplicadas como recubrimiento en frutas.

Los recubrimientos comestibles se aplicaron a tres tipos de frutas con características totalmente diferentes con el fin de evaluar su comportamiento durante su conservación a temperatura de refrigeración. La aplicación de estos recubrimientos resultó satisfactorio en frutas de carambola (mínimamente procesadas) y frutas enteras de quinotos, en cambio, no fue satisfactoria en frutas de mora.

PALABRAS CLAVES

Almidón de mandioca, Almidón acetilado de mandioca, Películas, Recubrimiento comestible, Quinoto, Carambola.

SUMMARY

In Argentina, Misiones the province is the one with the highest production of cassava, and the "starch" industry and its derivatives represent a regular source of income in the agricultural production. Starch can be used in the formulation of films and as a coating material in fruits, to prolong its shelf life and is interesting because it is cheap, abundant, biodegradable and edible.

In this thesis work, the synthesis of acetylated cassava starch with low and intermediate degrees of substitution (DS) (less than 1.5 corresponding to the range in which the polymer is soluble in water) is developed. For this, two acetylation methods were used, one to obtain low DS, up to 0.17, and the other for higher DS, between 0.41 and 1.36.

The acetylated starches underwent a morphological, functional and physicochemical characterization. The determination of the DS was carried out by chemical methods and the formation of the acetate was confirmed with FTIR measurements.

Acetylated starches were used to obtain films by casting method. The effect of DS of acetylated starch and the concentrations of polymer and plasticizer on the mechanical, morphological and transport (permeability) properties of the resulting films were analyzed. The results made it possible to select certain formulations to be applied as a coating on fruits.

The edible coatings were applied to three types of fruits that have totally different characteristics in order to evaluate their behavior during their conservation at refrigeration temperature. The application of these coatings was satisfactory in carambola fruits (minimally processed) and whole kumquat fruits, on the other hand, it was not satisfactory in blackberry fruits.

KEY WORDS

Cassava starch, Acetylated cassava starches, Edible coating, Kumquat, Carambola.

CAPÍTULO 1:

INTRODUCCION

1. INTRODUCCIÓN

1.1 PLANTEO DEL PROBLEMA

En los últimos años, creció la preocupación por el cuidado del medio ambiente y como consecuencia resulta de interés el desarrollo de materiales biodegradables para la obtención de envases y recubrimientos de alimentos en reemplazo de materiales derivados del petróleo. Es por eso, que en el desarrollo de esta tesis, se plantea obtener películas, como un estudio previo al desarrollo de envases flexibles, y recubrimientos comestibles para mantener las propiedades de frutas durante mayor tiempo de conservación, a partir de un recurso renovable y de gran disponibilidad en nuestra provincia, el almidón de mandioca. Estos materiales resultarían ser biodegradables, comestibles y conocidos en la actualidad, como “materiales verdes”.

Las películas a base de almidón se han considerado particularmente porque presentan características físicas similares a los polímeros sintéticos: transparentes, inodoros, insípidos, semipermeables al CO₂ y resistentes al paso del O₂. Sin embargo, sin el agregado de otros componentes, presentan malas propiedades mecánicas, como fragilidad y rigidez excesiva. La adición de plastificantes reduce la rigidez de las películas pero aumenta la permeabilidad al vapor de agua. Una alternativa para mejorar las propiedades del almidón son las modificaciones químicas que implican la incorporación de materiales hidrófobos en la matriz del almidón. Debido a esto, la acetilación resulta una alternativa de modificación del almidón, donde los grupos hidroxilo (hidrofílicos) son sustituidos por grupos acetilos (hidrofóbicos). En este trabajo se plantea la síntesis de almidones acetilados de mandioca de grados de sustitución en un rango que sean soluble en agua, con el fin de evaluar su aplicación en la obtención de películas biodegradables y recubrimientos comestibles en frutas de la región.

De esta manera, los resultados contribuirían al conocimiento respecto al comportamiento de los acetatos de almidón de mandioca en el rango de GS donde es soluble en sistemas acuosos.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 General

Desarrollar películas y recubrimientos biodegradables a partir de almidón nativo y acetilado de mandioca para prolongar la vida útil de frutas frescas de la región, específicamente quinoto, mora y carambola.

1.2.2 Específicos

Para cumplir este objetivo general se pretenden satisfacer los siguientes objetivos particulares:

- 1) Obtener almidón modificado de mandioca por medio del método de acetilación a diferentes grados de acetilación.
- 2) Caracterizar y evaluar las propiedades químicas y físicas.
- 3) Comparar dichas propiedades del almidón acetilado a diferentes grados de modificación con el almidón sin modificar.
- 4) Desarrollar películas biodegradables a partir de combinaciones de almidón nativo y acetilado por método de moldeo y deshidratación, empleando glicerol como plastificante.
- 5) Caracterizar las películas obtenidas evaluando el efecto de la composición de las formulaciones sobre las propiedades de los materiales.
- 6) Evaluar y seleccionar la película más conveniente según sus propiedades físico-químicas, mecánicas y de transporte para aplicar como recubrimiento en frutas tropicales.
- 7) Estudiar el efecto de los recubrimientos de almidón nativo/acetilado durante el almacenamiento de las frutas, sobre distintos indicadores de calidad mediante técnicas instrumentales (pérdida de peso, textura, pH, parámetros de color, acidez titulable, contenido de sólidos solubles).

1.3 DESARROLLO DE LA TESIS

En esta Tesis se presenta la obtención de almidón acetilado de mandioca, se evalúa la influencia de diversas variables de síntesis sobre el grado de sustitución de los almidones resultantes. Luego se evalúa el efecto del grado de sustitución sobre características físicas, químicas, morfológicas y funcionales de los almidones obtenidos. Además, se estudia la aplicación de estos almidones acetilados en la obtención de películas, donde se evalúa la concentración de glicerol como plastificante y el grado de sustitución del almidón en las propiedades mecánicas, de transporte y físicas de las mismas. También se estudia la aplicación de los almidones como recubrimiento de frutas regionales, y se evalúan los cambios en las características de las frutas durante su conservación.

CAPÍTULO 2:

MARCO TEÓRICO

2. MARCO TEÓRICO

2.1 EL ALMIDÓN

Después de la celulosa, el almidón, es probablemente el polisacárido más abundante e importante desde el punto de vista comercial. Es el principal material de almacenamiento de carbohidratos en muchas plantas superiores (Liu, 2005). En la planta, el almidón se encuentra en forma de complejas partículas llamadas gránulos, que contienen alrededor de 0,06-0,8% de proteínas; 0,05-0,8% de lípidos; 0,07-1,4% de cenizas y el resto está compuesto por almidón. La forma, el tamaño, la estructura y la composición química de los gránulos son las características que más afectan a las propiedades funcionales del almidón y la variación de estas características, depende de la especie de la que se ha obtenido (Guerra Della Valle, 2007).

Las fuentes más importantes de almidón son los granos de cereales, semillas de leguminosas y tubérculos. La Tabla 2.1 muestra el contenido de almidón (% de materia seca) en algunos materiales vegetales para uso alimentario.

Tabla 2.1: Propiedades generales de diferentes almidones

Cultivo	Viscosidad relativa	Claridad de la pasta	Lípidos (%)	Proteína (%)
Maíz	Media	Opaco	0,8	0,35
Maíz ceroso	Media alta	Muy opaco	0,2	0,25
Maíz de alta amilosa	Muy baja	Opaco	-	0,5
Papa	Muy alta	Claro	0,1	0,1
Mandioca	Alta	Claro	0,1	0,1
Trigo	Baja	Opaco	0,9	0,4

Fuente: (Fennema, 2000)

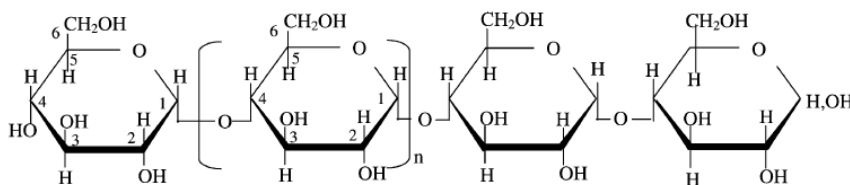
El Código Alimentario Argentino (CAA) diferencia los términos almidón y fécula según el lugar donde se encuentran los gránulos en las plantas. De esta manera, se denomina almidón cuando se lo extrae de órganos aéreos de las plantas, y fécula, a los que se encuentran en las partes subterráneas (raíces, tubérculos, rizomas). En el desarrollo de la presente tesis, se utilizará el término almidón de manera indistinta, haciendo referencia a su denominación química (*Información complementaria: Anexo I*).

2.1.1 Composición química

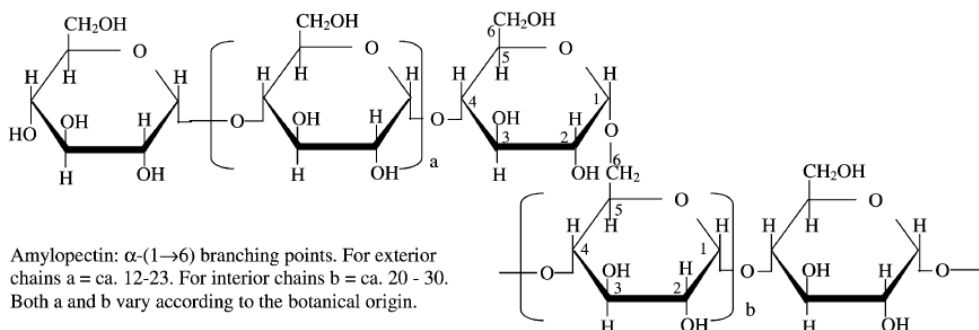
El almidón está constituido por unidades de glucosa dispuestas en dos componentes: amilosa y amilopectina. Su proporción varía de un tipo a otro según el origen botánico del almidón. Estas macromoléculas se caracterizan por su grado de polimerización o ramificación, lo cual afecta su comportamiento frente a los procesos de degradación (FAO, 2007) y representan aproximadamente el 98-99% del peso seco. El contenido de humedad de los almidones oscila aproximadamente entre 10-12% (cereales) y entre 14-18% (algunas raíces y tubérculos). Los lípidos y las proteínas tienen el potencial de moderar la funcionalidad del almidón (Tester y col., 2004).

2.1.1.1 Amilosa

La amilosa es una cadena lineal de unidades de α -D-glucopiranosilo unidas por el 99% de enlaces α -(1 \rightarrow 4), aunque existen también moléculas que poseen unas pocas ramificaciones en posición α -(1 \rightarrow 6) y representan el 0,3-0,5% de los enlaces (Figura 2.1). Las moléculas de amilosa tienen pesos moleculares alrededor de 10^5 - 10^6 g/mol (Tester y col., 2004). Adquiere una conformación tridimensional helicoidal, donde cada vuelta de la hélice consta de seis moléculas de glucosa. Los almidones que contienen menor del 15% de amilosa se denominan “cerosos” (céreos), los almidones normales entre 20-35% y los almidones altos en amilosa, mayores a 40%.



Amylose: α -(1 \rightarrow 4)-glucan; average n = ca. 1000. The linear molecule may carry a few occasional moderately long chains linked α -(1 \rightarrow 6).



Amylopectin: α -(1 \rightarrow 6) branching points. For exterior chains a = ca. 12-23. For interior chains b = ca. 20 - 30. Both a and b vary according to the botanical origin.

Figura 2.1: Estructura de amilosa y amilopectina.

Fuente: Tester y Col. (2004)

2.1.1.2 Amilopectina

La amilopectina es una molécula más grande y con más ramificaciones que la amilosa. Su peso molecular está comprendido entre 10^7 – 10^8 g/mol. Las ramas están unidas al tronco central (semejante a la amilosa) por enlaces α -D-(1,6), localizadas cada 15-25 unidades lineales de glucosa (Figura 2.1). Los enlaces de ramificación α -(1→6) constituyen alrededor del 5% de los enlaces, mientras que el 95% corresponde a los enlaces α -(1→4) (Tester y col., 2004). Las ramas de las moléculas toman la forma de un racimo y se presentan como dobles hélices. Algunos almidones están formados exclusivamente por amilopectina, y se les conoce como almidones céreos.

El gran tamaño y naturaleza ramificada de la amilopectina reduce la movilidad de los polímeros e interfiere su tendencia a orientarse y permitir niveles significantes de enlaces de hidrógeno. Como resultado, las soluciones acuosas de amilopectina se caracterizan por su claridad y estabilidad como medida de la resistencia a gelificarse durante el almacenamiento. Además, no forman películas tan fuertes y flexibles como la amilosa (Badui, 2006).

En la Tabla 2.2 se presentan los contenidos de amilosa y amilopectina de diferentes fuentes botánicas de almidón, además de la temperatura de gelatinización y tamaño de los gránulos.

Tabla 2.2: Características de almidones usados en la industria alimentaria

<i>Tipo</i>	<i>Amilopectina (%)</i>	<i>Amilosa (%)</i>	<i>Temperatura de gelatinización (°C)</i>	<i>Tamaño del gránulo (μm)</i>
Maíz	69-74	26-31	62-72	5-25
Maíz rico en amilosa	20-45	55-80	67-80	5-25
Papa	73-77	18-27	58-67	5-100
Arroz	83	17	62-78	2-5
Mandioca	82	18	51-65	5-35
Maíz céreo	99-100	0-1	63-72	5-25
Trigo	76	24	58-64	11-41

(Fuente: Badui, 2006)

2.1.2 Estructura granular

Los gránulos poseen una estructura rígida y están conformados por capas concéntricas o excéntricas de amilosa y amilopectina, ubicadas radialmente. Además de esos dos componentes mayoritarios, contienen generalmente pequeñas cantidades de proteínas y lípidos. El origen del gránulo se puede determinar por la forma, el tamaño y la posición del

hilum (punto de crecimiento original del gránulo). Los gránulos de almidón de tubérculos son voluminosos y de forma ovalada, generalmente con un hilum excéntrico. En cambio, los gránulos de almidón de cereales tales como maíz, avena, y arroz, tienen formas poligonales o redondas.

El tamaño de los gránulos varía de 2 a 100 μm , dependiendo del origen botánico. Además, tienen la particularidad que cuando se les irradia con luz polarizada forman la conocida cruz de malta debido a que poseen dos índices de refracción, que se conoce también como birrefringencia, debido a las contribuciones amorfas y cristalinas de la estructura del gránulo. La región cristalina está formada por cadenas de racimos de amilopectina, mientras que la región amorfa por puntos ramificados de la amilopectina y por amilosa (Figura 2.2).

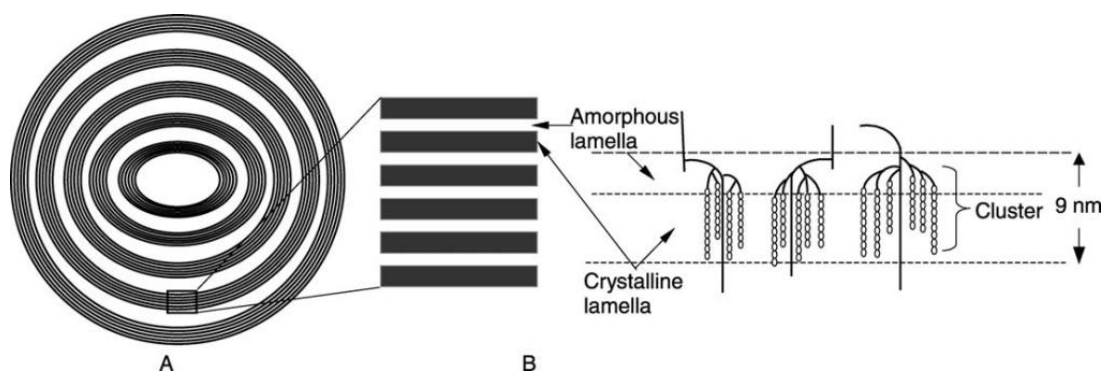


Figura 2.2: Esquema de la estructura lamelar de un gránulo de almidón. (A) Láminas microcristalinas separadas por anillos de crecimiento amorfo. (B) Vista ampliada de las regiones amorfas y cristalinas

(Fuente: Tester y col., 2004)

Los gránulos de almidón, vistos bajo el microscopio óptico, tienen una estructura estratificada particular, debido a los llamados "anillos de crecimiento", que se extienden desde el hilum hacia la superficie de gránulos (como las capas de una cebolla). La amilosa no parece tener ningún efecto significativo sobre la cristalinidad en almidones normales y cerosos (que pueden estar prácticamente libres de amilosa), los cuales presentan una fuerte birrefringencia. Sin embargo, en los almidones con alto contenido de amilosa, la misma puede contribuir significativamente a la cristalinidad, aunque la naturaleza exacta de los polimorfos cristalinos puede ser diferente. Para almidones ricos en amilopectina, se entiende que el origen de la cristalinidad se debe al entrelazamiento de las cadenas exteriores de tipo A y B₁ en forma de doble hélice (Figura 2.3). Estos se asocian para formar regiones ordenadas o "laminillas cristalinas". Las dobles hélices que forman las láminas cristalinas del anillo de subcrecimiento, representan regiones de 5 nm de espesor intercaladas con regiones de

ramificación amorfa de 2 nm de longitud (Tester y col., 2004). Alrededor del 70% de la masa de un gránulo de almidón se considera amorfa y un 30% como cristalino.

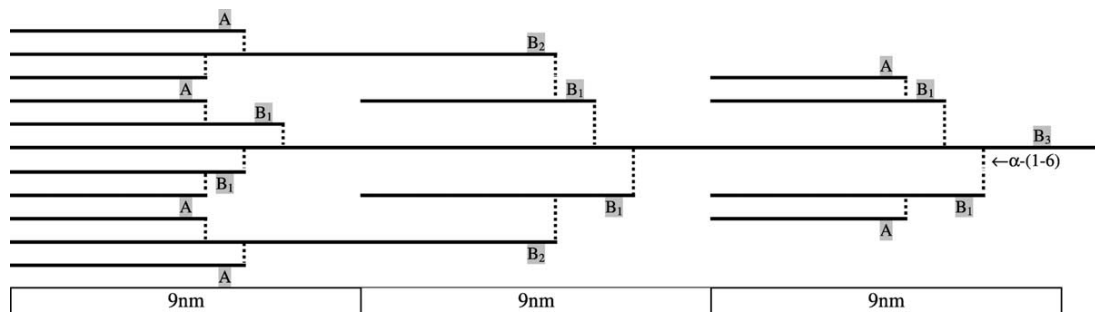


Figura 2.3: Representación esquemática de una sección de amilopectina que indica el patrón de los enlaces del tipo α -(1 \rightarrow 4) de las cadenas y los puntos de ramificación con enlaces del tipo α -(1 \rightarrow 6)

(Fuente: Tester y col., 2004)

2.1.3 Propiedades fisicoquímicas

2.1.3.1 Gelatinización

Como se mencionó anteriormente, los gránulos de almidón poseen una estructura altamente organizada y de gran estabilidad por las interacciones presentes entre los dos polímeros que lo constituyen, es por eso que tienen la característica de ser insolubles en agua fría. Sin embargo, a medida que se calientan, empieza un proceso lento de absorción de agua en las zonas intermicelares amorfas, que son las menos organizadas y las más accesibles, ya que los puentes de hidrógeno no son tan numerosos ni rígidos como en las áreas cristalinas. En la fase inicial, al incrementarse la temperatura, los gránulos retienen más agua y comienzan a hincharse aumentando su volumen, pero sin afectar la viscosidad. De esta manera, se hidrata la parte amorfa del gránulo, donde los enlaces son más susceptibles al rompimiento y luego, la parte cristalina.

Al llegar a ciertas temperaturas, cercanas a 65°C, dependiendo de cada tipo de almidón (Tabla 2.2), el gránulo alcanza su volumen máximo. Si se administra más calor, el gránulo hinchado, incapacitado para retener el líquido, se rompe parcialmente y la amilosa y amilopectina, fuertemente hidratadas, se dispersan en el seno de la disolución. En este punto se pierde la estructura original y la birrefringencia del gránulo, provocando un aumento de la viscosidad. A todo este proceso se le llama gelatinización, y es una transición de un estado ordenado (estructura cristalina) a otro desordenado en el que se absorbe calor. En la Figura 2.4 se muestra esquemáticamente el aumento de volumen de los gránulos contra el aumento de la viscosidad de la dispersión acuosa. Una vez que los gránulos se rompen, la viscosidad

se reduce hasta alcanzar un valor estable en el que se genera un gel cuyas características físicas y químicas son diferentes según el almidón de que se trate (Badui, 2006).

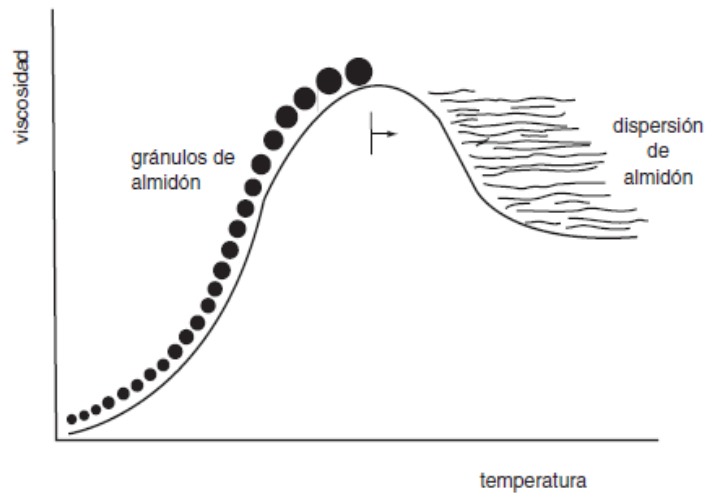


Figura 2.4: Curva de viscosidad en función de la temperatura de una suspensión acuosa de almidón durante la gelatinización térmica

Fuente: Badui (2006)

La temperatura de gelatinización es aquella en la que se alcanza el máximo de viscosidad y se pierden la birrefringencia y el patrón de difracción de rayos X. Esta temperatura es en realidad un intervalo, ya que los gránulos tienen diferente composición y grado de cristalinidad aunque provengan de la misma fuente botánica. Por esta razón se llega a presentar una diferencia de 8 a 12°C, teniendo como promedio 10°C entre la temperatura de gelatinización de los primeros gránulos y la de los últimos. Este parámetro también se ve muy afectado por la presencia de diversos compuestos químicos que favorecen o inhiben los puentes de hidrógeno (Badui, 2006).

2.1.3.2 Retrogradación

La retrogradación representa la pérdida de solubilidad del almidón y la precipitación espontánea, que puede darse cuando se enfrían y dejan en reposo las pastas de almidón. En soluciones diluidas, las moléculas de almidón tienden a precipitar, y este material insoluble es cada vez más difícil de redissolver por calentamiento. La retrogradación del almidón cocido incluye a los dos polímeros constituyentes, pero la amilosa sufre este fenómeno mucho más rápido que la amilopectina. Por lo tanto, si una solución concentrada de amilosa se calienta y se enfría rápidamente hasta alcanzar la temperatura ambiente, se forma un gel rígido y

reversible, pero si las soluciones son diluidas, se vuelven opacas y precipitan cuando se dejan reposar y enfriar lentamente.

La velocidad de retrogradación depende de diversas variables, entre las que se encuentran: la relación amilosa/amilopectina, las estructuras de las moléculas de amilosa y amilopectina que vienen determinadas por la fuente botánica del almidón, la temperatura, la concentración de almidón y la presencia de otros ingredientes (Fennema, 2000).

Cada almidón tiene una tendencia diferente a la retrogradación, lo cual está relacionado con su contenido de amilosa. Este proceso, es más difícil que lo desarrolle la amilopectina, debido a que sus ramificaciones impiden la formación de puentes de hidrógeno entre moléculas adyacentes; sin embargo, si las soluciones de almidón se congelan y se descongelan continuamente, se produce su insolubilización. Las fracciones de amilosa o las secciones lineales de amilopectina que retrogradan, forman zonas con una organización cristalina muy rígida que, para romperse y permitir la gelatinización del almidón, requiere alta energía (Badui, 2006).

2.2 ALMIDÓN DE MANDIOCA

La mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) es una planta originaria de América Tropical, que se desarrolla bien en suelos pobres y ácidos, se la conoce también como yuca, manioc, kaspé o cassava (Figura 2.5). En el mundo se cultiva en distintas regiones de América, Asia y África, donde es el principal alimento de 300 millones de personas, siendo consumido históricamente por los sectores de menores ingresos.



Figura 2.5: Plantación de mandioca

Fuente: Cuadernillo producción de mandioca y sus usos, INTA, 2008.

Se cultiva sobre todo por sus raíces ricas en hidratos de carbono, aunque en algunas partes del mundo, como África y Brasil, también las hojas son utilizadas para la alimentación humana, como verdura fresca o deshidratada.

Casi el 70% de la producción mundial de mandioca se concentra en cinco países: Nigeria, Brasil, Tailandia, Indonesia y la República Democrática de Congo.

En Argentina, el cultivo se halla muy generalizado en toda la Provincia de Misiones, y en algunos departamentos de las provincias de Corrientes, Chaco y Formosa. Sin embargo, a diferencia de países vecinos, los mayores esfuerzos se focalizan en satisfacer el autoconsumo, después en abastecer la comercialización del producto en fresco y por último en proveer a la industria local.

2.2.1 Producción de almidón de mandioca en Misiones

La provincia de Misiones es la principal productora de mandioca del país, con más del 70% de la producción a nivel nacional. Alrededor del 25% de la producción anual se destina a la industria para obtener almidón.

En el cluster de mandioca de la provincia se produce cerca de 180.000 toneladas de raíz de Mandioca, es decir en torno al 70% de la producción primaria de mandioca se encuentran en la provincia de Misiones. Por otra parte en Argentina, las empresas elaboradoras de almidón de mandioca operan en su totalidad en la provincia de Misiones, y procesan aproximadamente entre 50.000 y 60.000 mil toneladas de raíz.

El producto principal obtenido de esta actividad industrial es el almidón, que tiene un papel importante en la tecnología alimenticia debido a sus propiedades físico-químicas y funcionales. Se utilizan como absorbentes y agentes ligantes de agua, especialmente en la industria del chacinado. Esto se debe a la gran capacidad que tiene el almidón de mandioca para retener humedad durante el procesamiento de los productos, lo que permite estabilizar la emulsión en cuanto a humedad, grasa y proteína. Tiene un poder de hinchamiento de 3 a 4 veces mayor que el almidón de trigo, de 2,9 veces más que el maíz y 1,1 veces más que el waxy maíz (un tipo especial de maíz derivado de una mutación introducida desde China a EEUU). Se emplea como aglutinante en la industria de alimentos (cárnicos, postres instantáneos, helados, yogures, dulces, jaleas, salsa y aderezos), panificados (chipa), industria textil (preparación de aprestos superficiales), industria papelera (encolante, aditivo en masa), industria de adhesivos (colas frías y calientes, cartonería) e industria química (fármacos).

Los productos sustitutos del almidón de mandioca son el almidón de maíz, de papa o de batata, todas ellas marginalmente más baratas pero con un proceso más tardío de gelificación de los productos.

El almidón de mandioca es especialmente apreciada en la industria alimenticia por ser inodora, incolora, e insípida.

2.2.2 Situación del almidón modificado de mandioca en Misiones

Con respecto a los almidones modificados, es importante destacar que existe una demanda insatisfecha, y en consecuencia, resulta necesario incrementar la producción para lograr una oferta acorde a las necesidades del mercado.

Las industrias demandantes de almidón modificado importan principalmente de Brasil. También se registran importaciones desde Holanda (almidón de papa) y de Tailandia.

En Argentina la principal producción de almidón modificado se realiza a partir del almidón de maíz.

Esto representa una de las oportunidades desaprovechadas que en la actualidad se encuentra restringido principalmente por deficiencias de infraestructura industrial no adaptada al proceso de producción de almidón modificado, escaso desarrollo de la cuenca productiva primaria, escasa incorporación de tecnología, falta de aplicación de mejoramiento genético a la producción primaria, falta de disponibilidad de personal técnico capacitado y falta de estructuras comerciales y asociativas adecuadas.

2.3 MODIFICACIÓN QUÍMICA DEL ALMIDÓN

Durante las modificaciones químicas se generan reacciones con los grupos hidroxilos del polímero, cambiando su estructura y por consiguiente sus propiedades funcionales. Este tipo de modificaciones normalmente se da en presencia de un reactivo químico bajo condiciones controlada de agitación, temperatura y pH.

Algunos de los tratamientos químicos para la producción de almidones modificados son: oxidación, eterificación y esterificación. Los hidroxilos del polímero son los principales grupos involucrados en las reacciones y los responsables de otorgar las diversas propiedades funcionales al almidón.

- *Oxidación:* Esta modificación se produce típicamente haciendo reaccionar al almidón con un agente oxidante bajo pH y temperatura controlada. Los tres grupos hidroxilos

disponibles se dirigen a la oxidación para producir nuevos derivados de almidón. Las propiedades del almidón oxidado dependen del origen botánico, del método oxidativo y de los reactivos utilizados, lo que da como resultado propiedades fisicoquímicas mejoradas de las partículas de almidón nativo (Masina y col., 2017). Las propiedades fisicoquímicas de los derivados oxidados incluyen generalmente baja viscosidad, alta claridad y baja estabilidad a la temperatura, dando como resultado mayores aplicaciones en la industria alimentaria, biotecnológica y farmacéutica (Singh y col., 2007). Los almidones oxidados tienen propiedades fisicoquímicas mejoradas tales como la formación de película y la adhesividad en algunas formulaciones.

- *Eterificación:* Es un método de modificación por el cual los grupos hidroxilo se sustituyen por grupos carboximetilo, hidroxipropilo y/o hidroxietilo mediante la formación de un enlace éter (R-OR). Aunque la metodología de eterificación puede variar, requieren típicamente un catalizador alcalino para iniciar las sustituciones químicas, siendo comúnmente utilizado el hidróxido de sodio (Masina y col., 2017).

Esta modificación tiene como principal objeto insertar grupos hidrofílicos a las unidades de anhidroglucosa, a fin de estabilizar el almidón en medio acuoso y prevenir el fenómeno de retrogradación en soluciones a bajas temperaturas.

- *Esterificación:* En general, la esterificación de los polisacáridos con ácidos orgánicos y derivados del ácido, es una de las transformaciones más versátiles de estos biopolímeros. La introducción de un grupo éster en el polisacárido constituye un desarrollo importante debido a que permite modificar la naturaleza hidrofílica y produce cambios significativos en las propiedades mecánicas y térmicas. Además, altera las propiedades de retrogradación del almidón. Existen varios métodos dentro de esta categoría, pero la acetilación es la mayormente utilizada en industrias alimentarias, biotecnológicas y textiles.

2.3.1 Aplicaciones de los almidones modificados

El almidón, en su forma granular nativa tiene aplicaciones limitadas, ya que proporciona, en el área de alimentos, pastas de poco cuerpo y de consistencia gomosa cuando son calentadas, y geles no deseables cuando estas pastas se enfrían. Además, en el área de empaque, poseen características de fragilidad y deterioro de las propiedades mecánicas a condiciones ambientales por la exposición con la humedad. Otra desventaja es su reducida aplicación en procesos tecnológicos debido a su alta viscosidad, así como su incompatibilidad con algunos solventes y polímeros (Peñaranda Contreras y col., 2008).

En la industria de alimentos se prefieren, en general, almidones con ciertas propiedades que pueden ser obtenidos a través de modificaciones físicas y químicas, denominados “almidones modificados”. La modificación física se realiza mediante calor y humedad (pregelatinización), mientras que la modificación química involucra la introducción de grupos funcionales a partir de reacciones de derivatización (eterificación, esterificación, entrecruzamiento, etc.) o de descomposición (hidrólisis ácida, enzimática u oxidación). Tales modificaciones de los almidones nativos altera su comportamiento de gelatinización y retrogradación (Singh y col., 2007).

Los almidones modificados se utilizan ampliamente en la industria de alimentos como aditivos e ingredientes funcionales, como agentes espesantes o estabilizantes para proveer a los productos propiedades tales como textura y apariencia. En la Tabla 2.3 se presentan las principales propiedades y aplicaciones de los almidones modificados. Además, se utilizan en industrias de papel, textiles y plásticos (Fennema, 2000) debido a que poseen mejores propiedades mecánicas y químicas, y son más estables (Peñaranda Contreras y col., 2008).

Tabla 2.3. Propiedades y aplicaciones de almidones modificados

Tipo	Propiedades	Aplicaciones
Pregelatinización	Soluble en agua fría.	Alimentos instantáneos.
Hidrólisis enzimática	Menor peso molecular, menor viscosidad, incremento de la retrogradación.	En confitería, batidos y revestimiento de alimentos.
Oxidación	Baja viscosidad, reducción en el contenido de azúcar.	Mantequillas, en confitería como aglutinantes y formadores de películas, en productos lácteos como texturizadores y en diversos alimentos como recubrimiento.
Eterificación	Mayor claridad de las pastas, mayor viscosidad, reduce la sinéresis y mejora la estabilidad en la descongelación.	Se utiliza en una gran variedad de alimentos, salsas, pasteles, postres, etc.
Entrecruzamiento	Elevada estabilidad de los gránulos al hinchamiento.	Utilizados como viscosificadores y texturizadores en sopas, salsas, productos de panadería y lácteos.

2.4 ACETILACIÓN

La acetilación es una modificación química por esterificación, en la cual se sustituyen los grupos hidroxilos (OH) por grupos acetilos ($\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$). Las propiedades físicas, químicas y funcionales del almidón modificado son influenciadas por los grupos introducidos, así como el grado de sustitución (GS), que es definido como el número medio de sustitución por unidades de glucosa (UG) o moles sustituidos por mol de UG (Guerra Della Valle, 2007). Cada UG del almidón tienen tres grupos OH disponibles para ser sustituidos en las posiciones C₂, C₃ y C₆; por lo que el GS máximo es tres (Xu y col., 2004).

Durante la reacción de acetilación el número de grupos acetilo que son incorporados a la molécula de almidón, así como la velocidad y eficiencia de la reacción, dependen de la concentración y el tipo de reactivo utilizado, del pH, de la presencia de catalizadores, del tiempo de reacción, del origen botánico del almidón, de las características estructurales y del tamaño del gránulo (Halal y col., 2015).

Xu y colaboradores (2004) describieron lo que ocurre durante la acetilación. La reacción principal de acetilación es la primera que se observa en la Figura 2.5. La misma, se lleva a cabo con anhídrido acético y un catalizador alcalino. Es una sustitución nucleofílica de un átomo de carbono insaturado del anhídrido acético, por un mecanismo de adición-eliminación. Los tres grupos OH de la molécula de monómero, tienen diferentes reactividades. El OH primario del C₆ es el más reactivo, por lo tanto, es el que se acetila más fácilmente que los secundarios en C₂ y C₃, debido al impedimento estérico. El OH primario, localizado en la superficie de la molécula de almidón, reacciona fácilmente con los grupos acetilo, mientras que los dos secundarios que se encuentran en el interior de la superficie del almidón, forman puente de hidrógeno con la unidad de glucosa vecina. De los dos grupos OH secundarios, el OH del C₂ es más reactivo que el C₃, principalmente porque está más cerca del hemiacetal y es más ácido que el otro. Las reacciones 2 y 3 rara vez ocurren porque no siempre hay agua en el medio de reacción. En la Figura 2.7 se observa como todos los grupos OH de las moléculas de glucosa son reemplazados por los grupos (CO_2H_3), formándose en este caso, un almidón acetilado totalmente sustituido con GS igual a 3.

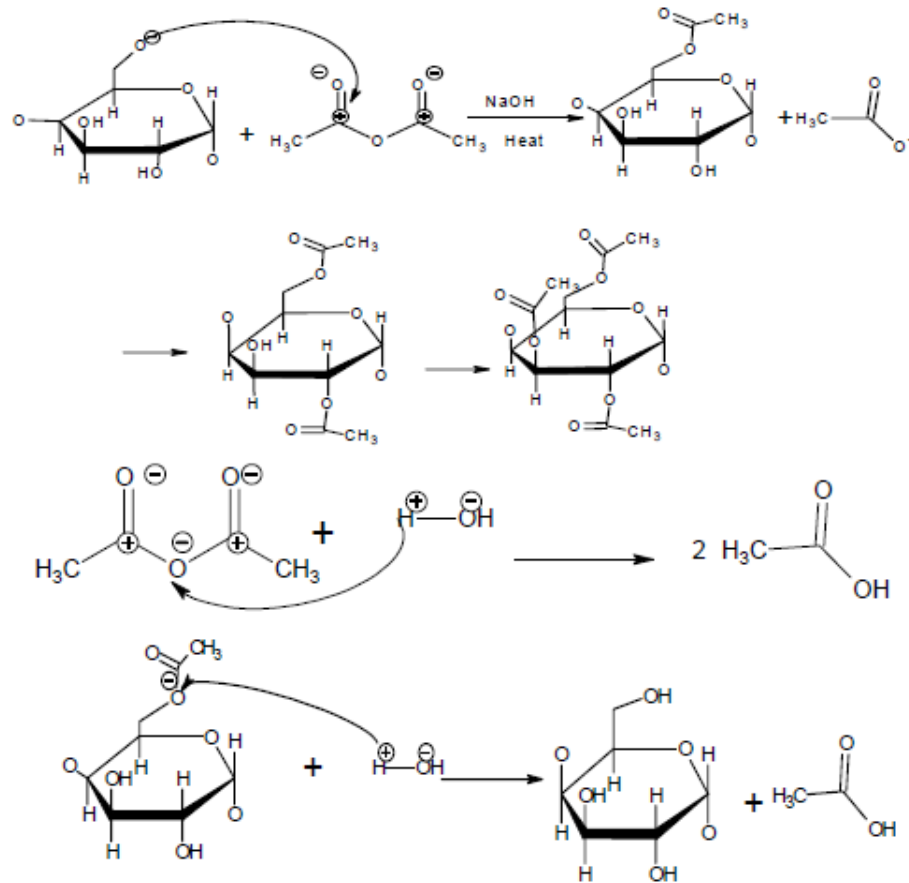


Figura 2.6: Reacción química de acetilación del almidón

Fuente: (Xu, Miladinov & Hanna, 2004)

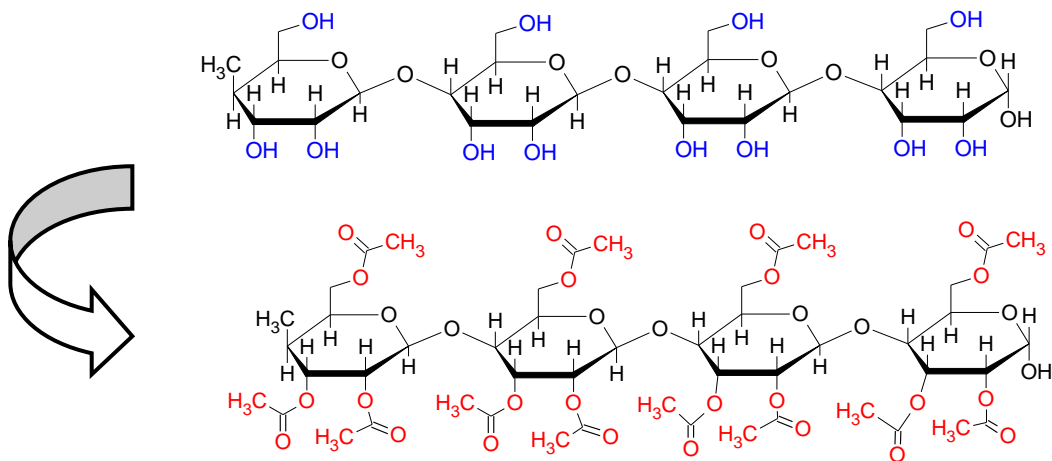


Figura 2.7: Esquema del almidón nativo (3 -OH disponibles) y almidón acetilado totalmente sustituido (GS=3)

2.5 FUNDAMENTO DE LAS TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN DE LOS ALMIDONES

Sabiendo que las propiedades fisicoquímicas y las características funcionales que los almidones imparten a los sistemas acuosos varían según el origen biológico y según si se encuentra como almidón nativo o si fue sometido a algún tipo de modificación, resulta necesario el estudio de las propiedades estructurales, morfológicas, reológicas, térmicas y texturales de los almidones.

En esta sección se describen brevemente las técnicas de caracterización de almidones empleadas en el presente trabajo de tesis.

2.5.1 Grado de sustitución

Como se mencionó anteriormente, el grado de sustitución (GS), es definido como el número medio de sustitución por unidades de glucosa o moles sustituidos por mol de UG (Guerra Della Valle, 2007). Cada unidad de glucosa del almidón tienen tres grupos OH disponibles para ser sustituidos en las posiciones C2, C3 y C6; por lo que el GS máximo es 3.

2.5.2 Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) es una técnica que se fundamenta en la irradiación de un haz monocromático a materiales orgánicos, los cuales en función de la naturaleza de los enlaces y cargas electrostáticas existentes entre sus átomos y moléculas, absorben una determinada cantidad de energía. Este valor puede expresarse por señales en términos de reflectancia, obteniendo un espectro característico de cada material, y de esta manera relacionarlo a su composición química. El espectro obtenido al escanear la muestra con un rayo monocromático, se puede analizar estudiando el cambio de longitud de onda a través del tiempo o mediante una transformada de Fourier para medir todas las longitudes de onda a la vez. A partir de esto, se puede trazar un espectro de transmitancia o absorbancia, el cual presenta las longitudes de onda en las que la muestra absorbe el infrarrojo, y permite una interpretación de los enlaces que están presentes (Yurkanis Bruise, 2008). En el caso de esta tesis, esta técnica se emplea para corroborar la inserción de los grupos acetilos en la molécula de almidón.

La longitud indicada para un enlace entre dos átomos es una longitud promedio ya que un enlace se comporta como si fuera un resorte en vibración. Un enlace vibra al experimentar

movimientos de estiramiento y de flexión. Un estiramiento es una vibración que sucede a lo largo de la línea del enlace y que cambia su longitud. Una flexión es una vibración que no sucede a lo largo de la línea del enlace; sino que cambian los ángulos del enlace.

Las moléculas que tienen tres o más átomos pueden experimentar estiramientos y/o flexiones simétricas y asimétricas, y sus vibraciones de flexión pueden ocurrir en un plano o fuera de éste. Cada vibración de flexión y de estiramiento de determinado enlace sucede con una frecuencia característica. La radiación infrarroja presenta justamente las frecuencias que corresponden a las de las vibraciones de estiramiento y de flexión en las moléculas orgánicas. Los límites de número de ondas para la radiación infrarroja son de 4000 a 600 cm^{-1} (Yurkanis Bruise, 2008). En la Figura 2.8 se presentan las moléculas que aparecen en los diferentes números de onda.

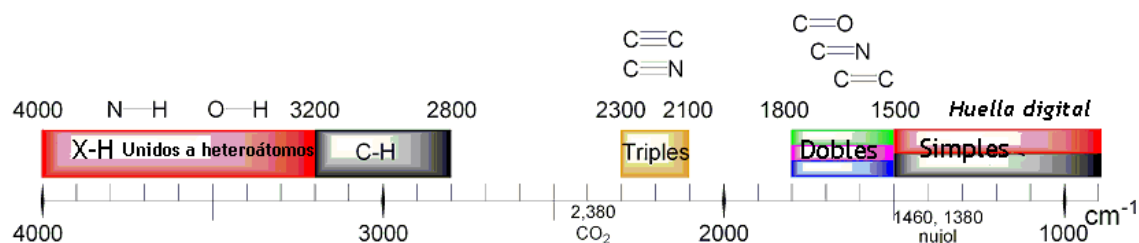


Figura 2.8: Diferentes moléculas según el rango de número de onda

Las frecuencias resonantes pueden estar en una primera aproximación relacionadas con la fuerza del enlace, y la masa de los átomos a cada lado del mismo. Así, la frecuencia de las vibraciones puede ser asociada con un tipo particular de enlace. Las moléculas diatómicas simples tienen solamente un enlace, el cual se puede estirar. Moléculas más complejas pueden tener muchos enlaces, y las vibraciones pueden ser conjugadas, llevando a absorciones en el infrarrojo a frecuencias características que pueden relacionarse a grupos químicos (Yurkanis Bruise, 2008).

2.5.3 Solubilidad y poder de hinchamiento

El poder de hinchamiento y la solubilidad proporcionan evidencia de la magnitud de la interacción entre las cadenas de almidón. El alcance de esta interacción está influenciado por la relación amilosa/amilopectina, y por las características de amilosa y amilopectina en términos de peso molecular, distribución, grado y longitud de ramificación. Las diferencias entre los poderes de hinchamiento y las solubilidades de almidones también pueden ser debidas a diferencias en la estructura morfológica de los gránulos de almidón (N. Singh y col., 2003).

2.5.4 Microscopía electrónica de barrido

La microscopía electrónica de barrido (SEM), proporciona una muy buena información topográfica, lo cual permite observar claramente la morfología de los gránulos de almidón.

Las características morfológicas de los almidones de diferentes fuentes vegetales varían según el genotipo y las prácticas de cultivo. La variación en el tamaño y la forma de los gránulos se atribuye al origen biológico (Svegmark y Hermansson, 1993). Las estructuras granulares de los almidones de papa, mandioca, maíz, arroz y trigo muestran variaciones significativas en el tamaño y la forma cuando se observan por SEM.

Los cambios morfológicos de los gránulos del almidón causados por las modificaciones químicas, siendo en este caso, la incorporación de los grupos acetilos en la molécula del polímero de almidón debido a la reacción de acetilación, pueden observarse mediante esta técnica.

2.5.5 Propiedades de las pastas. Viscoamilógrafo Brabender

El almidón muestra un comportamiento de viscosidad único con el cambio de temperatura, concentración y velocidad de cizalladura. Esto se puede medir con un Visco-Amilógrafo Brabender, donde se obtiene la temperatura de gelatinización y las propiedades de una suspensión de almidón a una concentración determinada bajo calentamiento y enfriamiento en un tiempo determinado. El viscoamilograma registra la viscosidad en función del tiempo y temperatura de una suspensión de almidón bajo una velocidad constante de cizallamiento. El incremento en la viscosidad es medida por un torque sobre una aguja, con un sistema de control automático y en una curva son reproducidos los perfiles de gelatinización y de empastamiento del almidón analizado. En la Figura 2.9 se observa un perfil de viscosidad típico de un almidón de mandioca.

La altura del pico a una concentración dada refleja la capacidad de los gránulos para hincharse libremente antes de su ruptura física. Los almidones que son capaces de hincharse en un alto grado también son menos resistentes a la descomposición en la cocción y, por lo tanto, exhiben una disminución significativa de la viscosidad después de alcanzar el valor máximo (Singh y col., 2003).

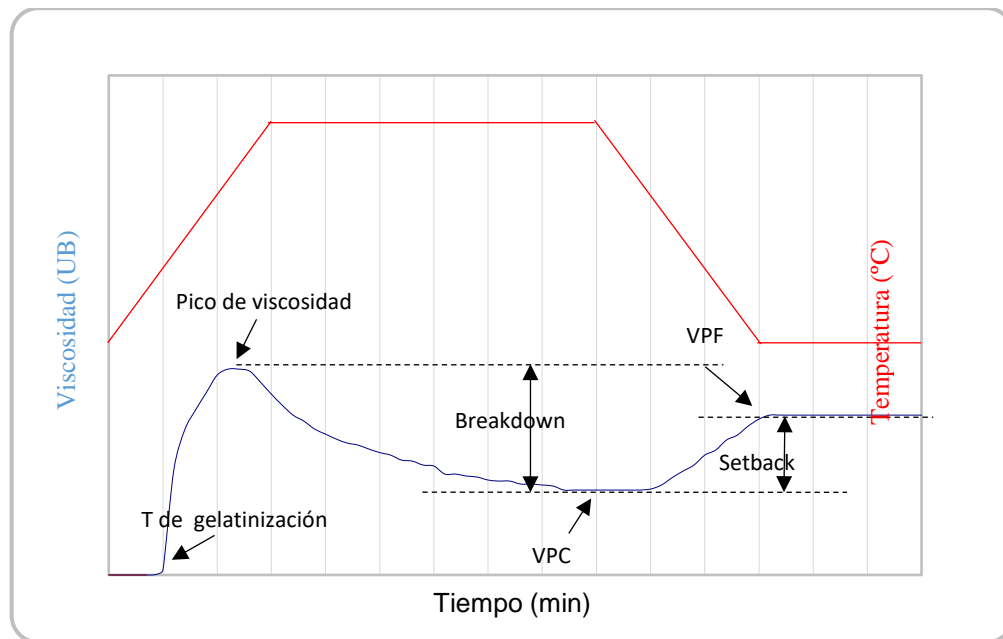


Figura 2.9: Perfil de viscosidad de almidón de mandioca nativo obtenido con un viscoamilógrafo Brabender

Mediante este análisis se pueden determinar los siguientes parámetros (FAO, 2007):

- *Temperatura de gelatinización:* Durante la fase inicial de calentamiento la temperatura de gelatinización es la temperatura a la cual los gránulos del almidón se empiezan a hinchar y hay un aumento en la viscosidad; se expresa en grados centígrados (°C).
- *Viscosidad máxima (Vmax):* Es el valor mayor de viscosidad durante el proceso de empastamiento de los geles; se expresa en Unidades Brabender (UB).
- *Viscosidad de la pasta caliente (VPC):* medida luego de mantener la suspensión durante 30 minutos a 95 °C.
- *Viscosidad de la pasta fría (VPF):* se mide al final del periodo de enfriamiento.
- *Inestabilidad del gel (“Breakdown”):* Indica la estabilidad de la pasta durante la cocción. A mayor valor, menor estabilidad de la pasta; se calcula como la diferencia entre la viscosidad máxima (Vmax) y la viscosidad después de mantenerse 30 minutos a 95 °C (VPC) y es expresada como Unidades Brabender (UB).
- *Índice de gelificación (“Setback”):* Indica la retrogradación de la pasta después del enfriamiento y la capacidad de formar geles. Se calcula como la diferencia entre la viscosidad a 50 °C (VPF) y la viscosidad después de mantenerse 20 minutos a 95 °C (VPC); se expresa en Unidades Brabender (UB).

La VPF es un valor importante al momento de seleccionar un material para conservar viscosidades adecuadas en cada proceso productivo; el incremento en la viscosidad de la pasta, durante el enfriamiento se asocia con el fenómeno de retrogradación y con el contenido de amilosa en los almidones.

La inestabilidad de la pasta está relacionado con la fragmentación mecánica, así, a mayor inestabilidad mayor será la exposición al rompimiento del gel por causas mecánicas, debido a la fragilidad de destrucción de los gránulos que se manifiesta con la pérdida de viscosidad en el sistema, lo que depende del tamaño del gránulo. A mayor tamaño se destruyen más fácilmente, ya que son más susceptibles a la ruptura por las fuerzas térmicas o mecánicas aplicadas (Hoyos-Leyva y col., 2012).

El índice de gelificación, o bien, la reorganización de la pasta (setback), se manifiesta con el incremento de la viscosidad durante el período de enfriamiento debido a que se restablecen los enlaces de hidrógeno entre las moléculas de amilosa y amilopectina, lo que da lugar a la consistencia tipo gel, debida a la pérdida de calor en el sistema y al proceso de retrogradación que se genera (Hoyos-Leyva y col., 2012).

2.6 PLÁSTICOS: PROBLEMÁTICA AMBIENTAL

El consumo mundial de plástico se encuentra en constante aumento (aproximadamente 320 millones de toneladas por año) y resulta en su acumulación en el medio ambiente, incluida la tierra y los océanos, es uno de los principales problemas ambientales del planeta (Ghosh y col., 2019).

Los plásticos están formados por polímeros, normalmente derivados del petróleo (fuente no renovable) y una de sus principales características es su durabilidad, lo cual, a su vez, constituye una desventaja debido a su persistencia en el medio ambiente durante muchos años. Sumado a esto, el hecho de que normalmente se le añaden diversos compuestos químicos resulta de un material de difícil reciclado. Los humanos no estamos exentos del peligro que ocasiona la contaminación producidas por los plásticos. Por ejemplo, cuando ingerimos un pescado, los aditivos químicos del plástico se acumulan en sus tejidos grasos.

Debido a lo expuesto anteriormente, la contaminación por plástico supone un grave problema ambiental y una potencial amenaza para la salud humana, por lo que son necesarias medidas para intentar reducir el uso de material plástico en la sociedad.

Una de las estrategias para resolver este problema es reciclar en la mayor medida posible los materiales poliméricos desperdiciados. Sin embargo, muchos envases plásticos

no pueden reciclarse fácilmente debido a que están contaminados con alimentos y tintas, por lo que es necesario limpiarlos y resulta un proceso muy costoso.

2.6.1 Plásticos biodegradables

Una alternativa es el reciclaje biológico (plásticos biodegradables), que ha estimulado a los investigadores a sintetizar nuevos polímeros que puedan volver al ciclo biológico después del uso. Por lo tanto, el uso de biopolímeros agrícolas que son fácilmente biodegradables resolvería estos problemas (Parra y col., 2004).

Actualmente diversas investigaciones se están enfocando en la problemática ambiental causada por la contaminación de los plásticos de materiales petroquímicos con el fin de buscar sustitutos naturales mediante el uso de polímeros biodegradables.

Los plásticos biodegradables son materiales que se fabrican usando materias primas orgánicas que se obtienen de fuentes renovables, que una vez utilizados pueden ser transformados en sustancias simples por la acción de organismos vivos, y ser así eliminados más rápidamente del medio ambiente.

Weber (2000), clasifica a los polímeros con base biológica (biobasados) en tres categorías principales: a) polímeros directamente extraídos a partir de biomasa, por ejemplo los polisacáridos tales como almidón, celulosa y proteínas como la caseína y el gluten; b) polímeros producidos por síntesis química clásica usando monómeros generados por bacterias a partir de fuentes renovables, por ejemplo, el ácido poliláctico; y c) polímeros producidos por microorganismos o bacterias genéticamente modificadas, como por ejemplo, los polihidroxiálcanoatos.

Los envases comestibles también son una alternativa útil de los envases convencionales para reducir los desechos y crear nuevas aplicaciones para mejorar la estabilidad, calidad, seguridad, variedad y conveniencia del producto para los consumidores.

2.6.2 Composición de películas y recubrimientos biodegradables

Se proponen diversos polímeros obtenidos de productos o subproductos de origen agrícola para la formulación de materiales biodegradables o películas comestibles. Estos polímeros se pueden usar en varias formas (recubrimientos, películas simples o multicapa, elementos tridimensionales, materiales simples o compuestos). Los materiales obtenidos de estos agropolímeros son totalmente renovables y biodegradables, no son tóxicos para el suelo y el medio ambiente (Guilbert y Gontard, 2005). Además, se utilizan otros ingredientes en

menores proporciones, para mejorar su funcionalidad, como plastificantes, emulsionantes e ingredientes activos, como antimicrobianos y antioxidantes (Saavedra y col., 2010).

Los polímeros más comunes en su formulación son polisacáridos, proteínas y lípidos, que pueden ser utilizados solos o en diferentes combinaciones (Campos y col., 2011):

- Los polisacáridos son los más utilizados como recubrimiento comestibles de alimentos debido a su gran disponibilidad. Poseen una gran cantidad de grupos hidroxilo u otros restos hidrofílicos en la estructura de carbohidratos neutros, por lo que los enlaces de hidrógeno juegan el papel más significativo en la formación y características de la película (Han, 2013). Debido a la estructura de red compacta, son buenas barreras de dióxido de carbono y oxígeno, pero son pobres barreras al vapor de agua. Por lo tanto, esto limita su aplicación. Se pueden utilizar varias estrategias, para mejorar las propiedades de barrera y resistencia al agua, como la adición de partículas inorgánicas, la combinación con lípidos hidrófobos, la reticulación de los polímeros y la fabricación de películas de múltiples capas (Alves y col. 2007). Los más utilizados son: almidón, celulosa y derivados, extracto de algas marinas, quitosano, pectina.
- Las proteínas utilizadas en la formulación de recubrimientos comestibles pueden ser de origen animal (caseínas, proteínas del suero lácteo, gelatina) o de origen vegetal (gluten de trigo, proteína de soja) y dependiendo de este origen muestran una amplia variedad de características moleculares. Así, las proteínas varían en su peso molecular, conformación, carga (dependiendo del pH) y estabilidad térmica y las diferencias en estas características moleculares determinarán su habilidad para formar recubrimientos así como las características de los recubrimientos formados. Las proteínas también son hidrofílicas, por lo que tampoco son buenas barreras para el vapor de agua, pero tienen una buena resistencia mecánica y se pueden usar efectivamente en los envases de frutas y verduras para evitar daños durante el transporte.
- Los lípidos se caracterizan por ser hidrofóbicos y no poliméricos. Sus películas presentan excelentes propiedades de barrera frente a la humedad, sin embargo, su falta de cohesividad e integridad estructural hace que presenten malas propiedades mecánicas formando recubrimientos quebradizos. Sin embargo, su uso en algunos alimentos reduce la transpiración, la deshidratación, la abrasión en la manipulación y pueden mejorar el brillo y la apariencia. Dentro del grupo de lípidos aplicados a recubrimientos y películas comestibles se pueden mencionar las ceras (abejas, candelilla y carnauba), resinas, monoglicéridos, diglicéridos y los ácidos grasos tales

como el ácido esteárico, palmítico, láurico y oleico, entre otros (Fernandez-Valdes y col., 2015; Mohamed y col., 2020).

2.6.3 Películas y recubrimientos a partir de almidón

El uso de almidón como materia prima para el desarrollo de películas biodegradables y recubrimientos comestibles se ha estudiado intensamente en las últimas décadas, siendo un polímero prometedor debido a su disponibilidad, precio, rendimiento, por ser biodegradable y comestible (Alves y col., 2007; Chiumarelli y col. 2011; Mali y col., 2004; Famá y col., 2007; Fakhoury y col., 2012). Los bioplásticos a base de almidón representan el 80–85% de los bioplásticos comercializados (Prabhu y col., 2019).

Las películas a base de almidón se han considerado particularmente por la razón de que exhiben características físicas similares a los polímeros sintéticos: transparentes, inodoros, insípidos, semipermeables al CO₂ y resistentes al paso del O₂ (Nisperos-Carriedo, 1994). Los estudios sobre la producción y aplicación de películas a base de almidón comestible que incorporan conservantes han confirmado la disponibilidad de estos últimos para extender la vida útil de los vegetales frescos y mínimamente procesados (Durango y col., 2006; García y col., 1998). Sin embargo, las películas de almidón sin el agregado de otros componentes, presentan malas propiedades mecánicas, como fragilidad y rigidez excesiva (Galdeano y col., 2009; Müller y col., 2009). La adición de plastificantes reduce la rigidez de las películas pero aumenta la permeabilidad al vapor de agua (Bangyekan y col., 2006; Müller y col., 2008). Una de las principales funciones del envase es evitar el intercambio de humedad entre el producto y el medio ambiente, por lo tanto, la permeabilidad al vapor de agua debe ser lo más baja posible.

Se han realizado varios estudios para analizar las propiedades de las películas de almidón producidas a partir de diferentes fuentes botánicas, como el maíz (Bertuzzi y col., 2007; Lopez y col., 2010), mandioca (Mali y col., 2005; Alves y col., 2007; Auras y col., 2007; Famá y col., 2005), ñame (Mali y col., 2004, 2006), papa (Aila-Suárez y col., 2013; Talja y col., 2007), avena (Galdeano y col., 2009) y arroz (Bourtoom y Chinann, 2008).

La naturaleza hidrofílica del almidón es una limitación importante en el desarrollo de materiales a base de este polímero, ya que sus propiedades dependen de la humedad ambiental (Shogren y col., 1993), son solubles en agua, poseen elevada permeabilidad al vapor de agua (Chillo y col., 2008) y presentan malas propiedades mecánicas, como fragilidad y excesiva rigidez (Galdeano y col., 2009; Müller y col., 2009).

La adición de plastificantes a las películas de almidón ayuda a mejorar las propiedades mecánicas, disminuir su fragilidad inherente (al reducir las fuerzas intermoleculares y aumentar la movilidad de las cadenas de polímeros), disminuir la temperatura de transición vítrea y mejora su flexibilidad y extensibilidad (Galdeano y col., 2009). Los plastificantes deben ser compatibles con los polímeros formadores de película y pueden ser oligosacáridos, polioles (sorbitol, glicerol que es más utilizado) y lípidos (Cuq y col, 1995; Mali y col., 2005). Sin embargo, el glicerol es higroscópico y aumenta la hidrofilia de la película, que absorbe rápidamente humedad de la atmósfera (Galdeano y col., 2009; Müller y col., 2008). Como consecuencia, muchas investigaciones se han centrado en tratar de contrarrestar la naturaleza hidrofílica de las películas de almidones plastificados, con el agregado de materiales hidrofóbicos como aceites o ceras (García y col., 2000; Auras y col., 2009).

Algunas investigaciones se centraron en producir películas compuestas de polisacáridos mixtos para combinar las propiedades intrínsecas de los componentes y así obtener una mejora de las propiedades de las películas. Las propiedades de las películas de almidón pueden también ser mejoradas incorporando fibras a la matriz polimérica (Tarvainen y col., 2003), quitosano (Pelissari y col., 2012), ácido poliláctico (PLA) (Shirai y col., 2013). Existen trabajos que demuestran que incorporando micro y nano fibras de celulosa (NFC) a la matriz de almidón, se mejoran las propiedades mecánicas y se baja la permeabilidad al vapor de agua de estas películas (Savadekar y col., 2012; Slavutsky y col., 2014).

Además de la obtención de películas obtenidas por moldeo, el almidón tiene la característica de ser termoplástico, es decir, que puede plastificarse a través de la ruptura granular por fuerzas de corte aplicadas a alta temperatura en presencia de un plastificante (TPS: thermoplastic starch). Debido a esta característica del almidón, diversas investigaciones se centraron en la obtención de películas a partir de almidón termoplástico mediante tecnologías de extrusión y soplado, entre ellos, Pelissari y colaboradores (2012), estudiaron el efecto de diferentes concentraciones de almidón de mandioca, quitosano y glicerol en las propiedades mecánicas, ópticas y de barrera de vapor de agua en películas biodegradables. Flores y col., 2010, obtuvieron películas comestibles a base de almidón de mandioca utilizando glicerol como agente plastificante y agregando goma de xantano y sorbato de potasio. Gonzalez-Seligra y colaboradores (2017), estudiaron el efecto de distintas condiciones del proceso de extrusión sobre las propiedades de las películas extruídas obtenidas a partir de almidón de mandioca.

2.6.4 Películas y recubrimientos a partir de almidón acetilado

Una alternativa para mejorar las propiedades del almidón son las modificaciones químicas que implica la incorporación de materiales hidrófobos en la matriz del almidón con el fin de mejorar las propiedades mecánicas, reducir la hidrofiliidad y otorgar propiedades activas a películas a base de almidón, lo que permite su uso como material de envasado. Los procesos de modificación química de almidón más comunes son el tratamiento con ácido, la reticulación, la oxidación y la sustitución, incluida la esterificación y la eterificación (López y col., 2010). En particular, el almidón acetilado es un éster de almidón que ha sido ampliamente estudiado durante las últimas décadas (Chi y col., 2008).

La esterificación del almidón, como ya se mencionó anteriormente, implica la introducción de grupos funcionales en las moléculas de almidón, lo que resulta en propiedades fisicoquímicas marcadamente alteradas (Bartz y col., 2012). La hidrofobicidad del acetato de almidón se incrementa, en general, a medida que aumenta el grado de sustitución (GS) y la longitud de la cadena del sustituyente, disminuyendo su miscibilidad en agua, volviéndose soluble en solventes orgánicos (acetona, cloroformo, etc.). Los almidones con GS por debajo de 1,1 son solubles en agua y poco solubles en disolventes orgánicos (Trela y col., 2020); y los GS superiores a 1,7 son insolubles en agua y solubles en disolventes orgánicos, lo que reduce drásticamente su hidratación y formación de gel (Colussi y col., 2015). Frignant y colaboradores (1996) informaron que acetato de almidón con un GS mayor que 1,7 presenta propiedades típicamente hidrofóbicas. Varios investigadores han obtenido y caracterizado almidones acetilados de diferentes fuentes, como por ejemplo de maíz (Sweedman y col., 2013), ñame (Yu y col., 2014), jengibre (Zhang y col., 2009)., arroz (Bartz y col., 2012) y de mandioca (Mbougoueng y col., 2012; Osundahunsi y col., 2014).

Muchas investigaciones se han centrado en la obtención y caracterización de películas de almidones acetilados solubles en agua. Por ejemplo: Petersson y Stading (2005) han estudiado el efecto sobre las propiedades de películas de almidón de papa adicionadas con distintas concentraciones de almidones acetilados, observándose que al aumentar la concentración de almidón acetilado disminuyó el módulo de Young, la resistencia a la tensión y el porcentaje de elongación a la ruptura, como así también, la permeabilidad al vapor de agua. López y col.aboradores (2008) encontraron que el agregado de plastificante en películas de almidón de maíz acetilado, disminuye la fragilidad, mejora la flexibilidad y aumenta la solubilidad en agua, la opacidad de las películas resultantes y la permeabilidad al vapor agua.

Otras investigaciones se enfocaron en la obtención de películas de almidón acetilado de altos grados de sustitución, los cuales se obtienen disolviendo el polímero en solventes orgánicos (Tarvainen y col., 2002; Larotonda y col., 2003, Cuenca y col., 2020).

2.7 FUNDAMENTOS DE LAS TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS DE ALMIDÓN

En esta sección se describen brevemente las técnicas para caracterizar a las películas obtenidas en el presente trabajo de tesis.

2.7.1 Solubilidad

La solubilidad es una de las propiedades que nos permite determinar la funcionalidad de una película, además de cuantificar la cantidad de soluto que puede disolverse en una determinada cantidad de solvente a una dada temperatura. Es un factor importante para las películas destinadas al recubrimiento de frutas una vez que actúe como barrera para las transferencias de vapor de agua de la fruta al medio ambiente.

Es importante conocer esta propiedad para aplicaciones como protección de alimentos donde la actividad del agua es alta, o cuando la película debe estar en contacto con el agua durante el procesamiento del alimento recubierto, por ejemplo, para evitar la exudación de productos frescos o congelados (Bourtoom y col., 2008). Si la película va a ser utilizada como un envase que contenga sustancias que es necesario liberar, como aditivos, antioxidantes, etc., se espera que sea parcialmente soluble; en cambio si se desea integridad de la película para proteger un alimento, se buscara que ese material sea insoluble en agua (Krochta, 2002).

2.7.2 Propiedades mecánicas

Las películas biopoliméricas pueden ser caracterizadas a través de ensayos de tracción, de los cuales se obtienen diferentes propiedades mecánicas: esfuerzo de corte, su deformación y el módulo elástico. El esfuerzo se calcula dividiendo la fuerza necesaria para romper la película por la sección transversal de la misma. La deformación representa la flexibilidad de la película y representa el cambio en la longitud. El módulo elástico, también conocido como módulo de Young, se calcula por medio de la pendiente inicial de la curva esfuerzo-deformación. En la Figura 2.10 se muestra, a modo de ejemplo, una curva de tensión vs deformación, donde se presentan los parámetros mecánicos que se obtienen mediante este ensayo.

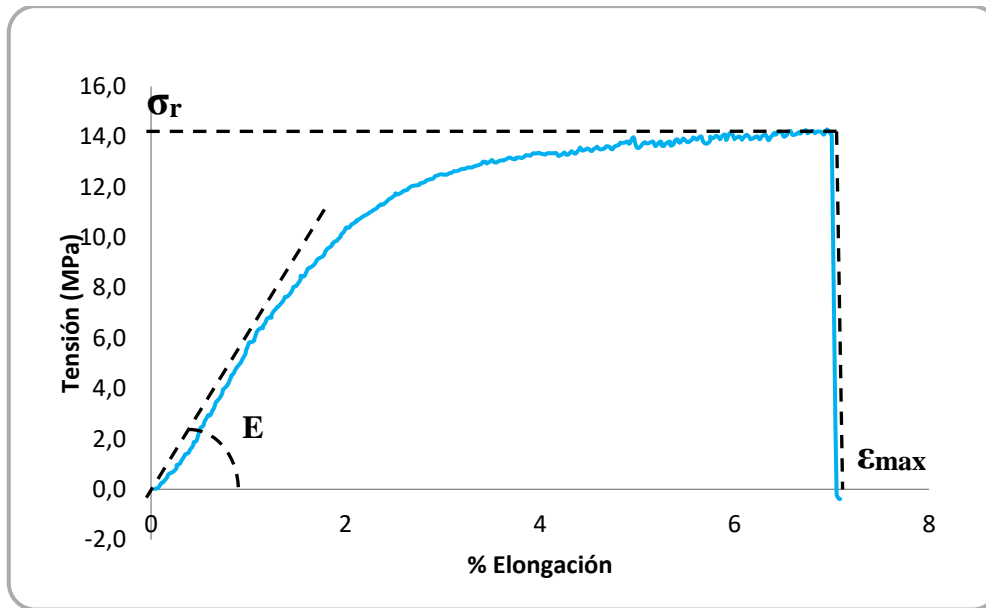


Figura 2.10: Curva tensión vs deformación de una película de almidón de mandioca nativo, donde se observan los parámetros: tensión a la ruptura (σ), porcentaje máximo de elongación (ϵ) y módulo elástico (E)

Las propiedades mecánicas de las películas dependen de la cohesión de la matriz polimérica, que a su vez depende de la estructura de las cadenas de polímero, el proceso de obtención de la película y la presencia de agentes plastificantes. Los plastificantes más utilizados para películas a base de almidón son sorbitol y glicerol. Por lo general, la presencia de plastificantes aumenta los valores de deformación y disminuye el esfuerzo y el módulo elástico. Esto se debe a que los plastificantes, pueden aumentar el volumen libre en la fase amorfa y reducen la interacción entre las cadenas de almidón del polímero (Godbillot y col., 2006). Además, estas propiedades son ampliamente dependientes de la temperatura y de la humedad relativa del ambiente donde se realiza la medida.

2.7.3 Propiedades ópticas

Un material presenta transparencia cuando deja pasar fácilmente la luz y los objetos detrás de él se observan con buena definición de los bordes, es translúcido cuando deja pasar la luz de manera que se pueden reconocer las formas pero los bordes de los objetos se hacen poco nítidos, y es opaco cuando no deja pasar apreciablemente la luz.

La transparencia se mide usualmente mediante el porcentaje de transmitancia. La transmitancia óptica se define como la fracción de la luz incidente, a una longitud de onda específica, que pasa a través de una muestra.

La capacidad de absorción de luz UV de las películas resulta relevante para definir posibles aplicaciones para el envasado de alimentos. Si las películas son capaces de absorber en la zona UV se podrían utilizar para envasar y prolongar la vida útil de productos alimenticios de alto contenido graso, susceptibles a la rancidez oxidativa catalizada por acción de los rayos UV. En cambio, si no absorben en esta región espectral, podrían utilizarse para desarrollar envases para alimentos que posteriormente serán sanitizados por exposición a la luz UV con la finalidad de disminuir la carga microbiana de los mismos (López, 2011).

La opacidad es una propiedad importante para el desarrollo de recubrimientos y envases de alimentos, ya que por ejemplo, para el caso de frutas y/o vegetales mínimamente procesados, la visibilidad condiciona la aceptabilidad del producto.

2.7.4 Permeabilidad al vapor de agua

Las propiedades de barrera a diferentes moléculas son particularmente interesantes en packaging, en particular en envases de alimentos, ya que el potencial de un material para generar barrera a la humedad, gases, flavor, aroma, es de gran utilidad para proteger los alimentos, aumentando la calidad y la vida útil de los mismos.

La permeabilidad es una propiedad del estado estacionario que describe la capacidad de una sustancia de disolverse en la matriz, y la velocidad a la cual difunde a través de la película, impulsado por una fuerza conductora relativa a la diferencia de concentración entre los dos lados de la película. La permeabilidad es definida como:

$$\text{Permeabilidad} = \frac{\text{velocidad de permeación} \times \text{espesor}}{\text{area} \times \text{diferencia de presión}}$$

Los resultados de la permeabilidad al vapor de agua pueden ser útiles para comprender los posibles mecanismos de transferencia de masa y las interacciones entre solutos y polímeros en películas comestibles. Según la termodinámica, la diferencia del potencial químico del agua es la fuerza impulsora de la transferencia de agua a través de una película. Cuando el proceso ocurre a temperatura y presión constantes, la diferencia del potencial químico del agua resulta proporcional a la diferencia de concentración de vapor de agua entre las dos caras del material (Bertuzzi y col., 2007).

Los polisacáridos, como los almidones, los derivados de celulosa y las gomas vegetales son una barrera efectiva para el transporte de gas (O₂, CO₂), aunque presentan una alta permeabilidad al vapor de agua. En general, las principales propiedades funcionales de estos materiales hidrofílicos dependen en gran medida de su contenido de agua y, por lo tanto, de la humedad circundante. Asimismo, (Bertuzzi y col al., 2007) reportaron la dependencia de la

permeabilidad en almidón de maíz de alta almidosa respecto al espesor de las películas y al contenido de plastificante.

En general, los plastificantes son moléculas de baja masa molecular que pueden ser agregados a un material para mejorar la flexibilidad (Gennadios y col., 1994), y pueden llevar al aumento de la permeabilidad al agua de las películas (McHugh y Krochta, 1994a). La efectividad de un plastificante depende del tipo, tamaño y compatibilidad con la matriz (Sothornvit y Krochta, 2001), lo cual, junto a la cantidad agregada, influirá sobre las interacciones entre las moléculas de polímero, permitiendo el control de las propiedades mecánicas de los materiales.

Varios autores estudiaron la incorporación de diversos materiales con el fin de reducir las propiedades de barrera de vapor de agua, por ejemplo, Slavutsky y Bertuzzi (2012, 2014) incorporaron nanocristales de celulosa y arcilla Montmorillonita en películas de almidón de maíz; Travalini y colaboradores (2019) agregaron nanofibras de celulosa obtenidas del bagazo de la mandioca en películas de almidón de mandioca. También lograron este efecto incorporando extracto de yerba mate en películas de almidón de papa (López-Córdoba y col., 2019).

2.7.5 Medida del ángulo de contacto

Cuando una gota de líquido de tensión superficial conocida se encuentra en una superficie sólida en el estado de equilibrio, como se muestra en la Figura 2.11, la relación entre las energías libres de la superficie (o el equilibrio de fuerzas de equilibrio en el contacto entre las tres fases de los materiales) de la ecuación de Young es de la siguiente manera (Baldan, 2012):

$$\gamma_s = \gamma_{sl} + \gamma_l \cos\theta$$

γ_s es la energía libre superficial del sólido (mJ/m²)

γ_l es la energía libre superficial del líquido (o la tensión superficial del líquido) (mN/m)

γ_{sl} es la energía libre interfacial entre el sólido y el líquido

θ es el ángulo de contacto entre la interfaz sólido-líquido.

Valores de ángulos de contacto mayor a 70°, indican superficies muy hidrofóbicas, como las encontradas en las siliconas o fluoropolímeros.

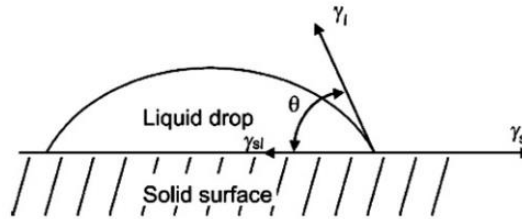


Figura 2.11: Gota de líquido sobre una superficie sólida en estado de equilibrio

Fuente: Baldan, 2012

2.8 RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES

El consumidor actual demanda alimentos más naturales, de alta calidad y más seguros en todo el mundo. Además, ha aumentado la demanda de envases de alimentos biodegradables obtenidos mediante procesos sostenibles con el fin de reducir el impacto en la contaminación ambiental.

Una definición para recubrimientos y películas comestibles es que son envases primarios obtenidos a partir de ingredientes comestibles.

Las películas se pueden obtener mediante casting o extrusión, como láminas sólidas y luego se aplican como una envoltura sobre los alimentos, mientras que los recubrimientos se forman directamente sobre la superficie del producto como una capa delgada de material comestible mediante inmersión, pulverización o pintado (Falguera y col., 2011). Estos recubrimientos pueden ser eliminados o consumidos como parte del producto. Aunque no se espera que los recubrimientos y las películas comestibles biodegradables reemplacen completamente los materiales de envases convencionales, podrían ser usados en forma conjunta con estos, como envases primarios.

Según Falguera y colaboradores (2011) las películas y recubrimientos deben presentar ciertas características que permitan controlar o reducir las causas de alteración de los alimentos a recubrir, algunas de estas propiedades son:

- Ser libres de tóxicos y seguros para la salud.
- Requerir una tecnología simple para su elaboración.
- Ser protectores de la acción física, química y mecánica.
- Ser transparentes y no ser detectados durante su consumo (recubrimientos).
- Mejorar las propiedades mecánicas y preservar la textura del alimento.

- Regular distintas condiciones de interfase o superficiales del alimento, a través del agregado de aditivos como antioxidantes, agentes antimicrobianos y nutrientes.
- Presentar propiedades de barrera a la transferencia de distintas sustancias (adecuada permeabilidad al vapor de agua, solutos y una permeabilidad selectiva a gases y volátiles), desde el alimento hacia el exterior y viceversa.
- Prolongar la vida útil de alimentos a través del control sobre el desarrollo de microorganismos.

2.8.1 Recubrimientos en frutas

Los consumidores han mostrado una creciente preferencia por el consumo de productos frescos, saludables y nutritivos que aporten beneficios para la salud, por lo que la demanda de frutas y verduras recién cortadas es muy alta (Chiumarelli y Hubinger, 2012). El recubrimiento con materiales comestibles ofrece una solución para extender la vida útil de las frutas y verduras frescas (Ciolacu y col., 2014).

Las frutas y vegetales se deterioran luego de la cosecha, donde se observan cambios en el color, pérdida de peso, desarrollo bacteriano y procesos químicos de deterioro. La pérdida de peso se debe principalmente al fenómeno de respiración y transpiración (Valera y col., 2011; Barco Hernández y col., 2011). La aplicación de recubrimientos comestibles simula un almacenamiento controlado y de esta manera prolonga la vida útil de productos frescos (Nisperos-Carriedo y col., 1991).

Los requisitos de barrera de los recubrimientos y las películas comestibles dependen de las propiedades del alimento que se va a proteger y su aplicación. Los recubrimientos o películas para vegetales y frutas frescas deben tener una baja permeabilidad al vapor de agua para reducir las tasas de deshidratación y también una permeabilidad al oxígeno lo suficientemente baja como para retrasar la respiración, pero no demasiado baja para producir condiciones anaeróbicas, y dar lugar a la formación de sabores desagradables y la producción de etanol (Lin y Zhao 2007).

2.9 CARACTERÍSTICAS DE LAS FRUTAS EMPLEADAS EN LA APLICACIÓN DE RECUBRIMIENTOS A BASE DE ALMIDON DE MANDIOCA

2.9.1 Carambola

La carambola (*Averrhoa carambola L.*) se cultiva principalmente en áreas tropicales y subtropicales. Es un fruto muy atractivo debido a que posee forma de estrella (Figura 2.12), conocido también como “Golden Star”. Es una fruta jugosa con un aspecto predominantemente amarillo que tiene una gran cantidad de pulpa y posee un sabor distintivo. Esta fruta se consume generalmente como fresca, pero también se suele servir en ensaladas o guarniciones (Romero Gomezcaña y col., 2001). Además, los frutos pueden procesarse como jugos, jaleas, mermeladas, en almíbar, cubiertos o deshidratados, que pueden ser enteros o en rebanadas. Es una muy buena fuente de antioxidantes y posee un alto contenido de polifenoles (Shui y col., 2004; Mahattanatawee y col., 2006).

La fruta de carambola plantea problemas posteriores a la cosecha debido a que es altamente perecedera debido a alto contenido de humedad que conducen a extensas pérdidas causadas por el deterioro químico y microbiano (Gol y col., 2015a). Además, tienen características de un fruto no climatérico, ya que el aumento de dióxido de carbono y las tasas de producción de etileno se producen después de que la fruta se considera madura y estos tienden a estar relacionados con la descomposición microbiana y senescencia del tejido. Los niveles de azúcar se mantienen constantes durante el almacenamiento, a pesar de que pierden clorofila y desarrollan carotenoides después de la cosecha (O’Hare, 1993).

Por lo tanto, es deseable el desarrollo de procesos simples y económicos para su conservación. Los estudios existentes se han centrado en el efecto de diferentes materiales de envasado sobre la vida útil de rodajas de carambola (Teixeira y col., 2010), el efecto de diferentes agentes químicos (ácido cítrico, ácido ascórbico, EDTA) en combinación con atmósferas modificadas (Teixeira y col., 2008, 2012).



Figura 2.12: Fotografía de la fruta de carambola

Gol y colaboradores (2015b) estudiaron el efecto del recubrimiento con quitosano (CH), goma arábica (GA) y alginato (AL) sobre frutas de carambola (en rodajas). Los resultados revelaron que el porcentaje de pérdida de peso en muestras no recubiertas (control) era mayor que el de las muestras recubiertas. Durante 8 días de almacenamiento, la fruta recubierta con CH 0,3%, GA 1% y AL 2% mostró una pérdida de peso de 8,2, 10,9 y 11,2%, respectivamente, contra una pérdida de peso de 22,4% en la fruta control. El recubrimiento de carambola con CH 0,3% y GA 1% es útil para extender su vida útil y efectivo para estabilizar la demanda del mercado.

2.9.2 Quinoto

La planta de quinoto (*Fortunella spp.*) es conocida comúnmente como naranjo enano. Es el más pequeño de los frutos cítricos y es no climatérico (Figura 2.13). Por lo general se consume crudo como una fruta entera, aunque también se utilizan en mermeladas, ensaladas de fruta, conservas con jarabe de azúcar o bien, como decoración.

El quinoto es una excelente fuente de nutrientes y fitoquímicos, incluyendo el ácido ascórbico, carotenoides, flavonoides y aceites esenciales. Los aceites esenciales representan un valor agregado para esta fruta, ya que, además de su contribución al sabor, desempeñan un papel importante en la salud humana (Schirra y col., 2008). En relación a la vida útil, es una fruta perecedera y es susceptible a la descomposición debido a la alta transpiración. Esto se debe a la alta relación de área superficial a volumen, responsable de la alta tasa de transpiración, que conduce a una pérdida excesiva de agua en la fruta mantenida en condiciones ambientales. Con tal sólo una pérdida de peso del 5% - 6% se puede alterar

notablemente la apariencia y reducir la firmeza, lo que resulta perjudicial para la comercialización (Palma y D'Aquino, 2018). Además, se producen importantes pérdidas causadas por los microorganismos, principalmente por *Penicillium spp.* No está permitido el uso de fungicidas sintéticos debido a que la fruta se come con la piel, motivo por el cual resulta necesario la búsqueda de tecnologías alternativas para prolongar la vida poscosecha.



Figura 2.13: Fotografía de frutas de quinoto

Además de recubrimientos, se aplicaron diversas tecnologías de poscosecha para mejorar la calidad de quinotos y prolongar su vida útil. El almacenamiento en frío puede prolongar la vida después de la cosecha durante algunas semanas (Chalutz y col., 1989), pero al igual que en otros cítricos, la susceptibilidad al daño por frío cuando la fruta se expone a temperaturas inferiores a 8 °C puede afectar negativamente la calidad posterior a la cosecha (Palma y D'Aquino, 2018).

Schirra y colaboradores (2008) estudiaron la influencia del tratamiento con agua caliente (HWD) sobre las propiedades nutricionales y funcionales de quinotos durante el periodo poscosecha. Ha resultado ser uno de los tratamientos más efectivos para preservar la calidad y prevenir la descomposición. Un tratamiento de inmersión de 2 minutos a 50°C redujo en un 50% y un 75% la incidencia de descomposición de las frutas almacenados a 17 °C y 80% de HR durante 14 y 21 días, respectivamente (Schirra y col., 2008, 2011).

2.9.3 Mora

La mora negra (*Morus nigra*) es una fruta polídrupe (Figura 2.14) que pertenece al grupo de las llamadas berries o también frutos del bosque junto con las frutillas, frambuesas, arándanos y grosellas. Las moras son ricas en compuestos fenólicos, como ácidos fenólicos,

taninos y antocianinas, que tienen una alta capacidad antioxidante (Ferreira Nogueira y col., 2019). Las moras frescas contienen muchos nutrientes, proteínas, carbohidratos, grasas, fibras y varias vitaminas como B1, D y C (Vilaplana y col., 2020). Las frutas se consumen frescas o procesadas en jugos, mermeladas, pulpas o postres. Se cosechan cuando las frutas están completamente maduras para lograr una calidad comercial deseable, debido a que es una fruta no climatérica. Sin embargo, la corta vida después de la cosecha se debe a su alta frecuencia respiratoria y su estructura frágil, lo que limita su consumo en forma fresca. Extender la capacidad de almacenamiento se ha convertido en el principal desafío en la distribución, ya que son frutas fácilmente susceptibles al ataque de patógenos, a daños mecánicos, a la maduración excesiva y al ablandamiento (Mohamed y col., 2020). Se estima que las moras tienen una vida útil que no supera los 2-3 días a temperaturas refrigeradas, lo que implica grandes limitaciones para el mercado y el almacenamiento de productos frescos (Horvitz y col., 2017).



Figura 2.14: Fotografía de frutas de mora

Hay diferentes estrategias de marketing para prolongar la vida útil de las moras luego de la cosecha. Van de Velde y colaboradores (2020) estudiaron el efecto de la conservación de moras frescas en atmósferas modificadas. Kopjar y colaboradores (2009) estudiaron la estabilidad de las antocianinas, fenoles y radicales libres durante el almacenamiento refrigerado de moras con el agregado de azúcar. Perkins-Veazie y colaboradores (1999) estudiaron la vida útil de distintas variedades de frutas de mora durante el almacenamiento mantenidas a diferentes temperaturas. Joo y colaboradores (2011) compararon la vida útil de frutas de moras utilizando dos tipos de materiales de envases: a base de petróleo (poliestireno) versus base biológica (ácido poliláctico).

Algunos autores sugieren que aplicando la metodología de recubrimiento se logra retener la calidad de las moras durante la postcosecha, por ejemplo, De Almeida Meneghel y colaboradores (2008) estudiaron los cambios en las características físicas, químicas, microbiológicas y sensoriales en frutas de mora revestidas con recubrimientos comestibles de alginato de sodio durante su almacenamiento refrigerado y los resultados demostraron que las frutas recubiertas fueron aceptadas sensorialmente y las características físicas y químicas fueron semejantes a la fruta fresca. Oliveira y colaboradores (2012) estudiaron la conservación de moras a 0 y 10°C aplicando distintos revestimientos comestibles (qitosano 1,5%; almidón de mandioca 2,5% y granos de kéfir en agua 20%) y además con el agregado de 1% (m/v) sorbitol/glicerol como plastificante. Las frutas almacenadas a 0°C recubiertas con qitosano fueron las que presentaron mejores resultados (menor pérdida de peso y mayor firmeza) a los 18 días de almacenamiento.

CAPÍTULO 3:

*SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE ALMIDÓN
DE MANDIOCA ACETILADO*

3. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE ALMIDÓN ACETILADO DE MANDIOCA

3.1 INTRODUCCION

Dependiendo del GS, los almidones acetilados, se pueden agrupar en almidones de GS bajo, medio y alto. Los almidones de GS bajo (0,01-0,2) son solubles en agua fría, se producen comúnmente utilizando anhídrido acético como reactivo y un catalizador alcalino, generalmente hidróxido de sodio (Masina y col., 2017). Además, están aprobado por las normas nacionales (CAA) e internacionales (FDA) para ser usado en alimentos como espesantes, estabilizantes y texturizantes (Xu y col., 2004). Se utilizan, por ejemplo, en rellenos de tartas, enlatados, salsas, sopas, alimentos congelados, alimentos infantiles, aderezos para ensaladas, productos horneados. También como agentes formadores de película, aglutinantes y adhesivos (Colussi y col., 2014). La introducción de grupos acetilo reduce la interacción entre las moléculas de almidón y con eso aumenta el poder de hinchamiento y disminuye la tendencia a la retrogradación, mejorando la calidad del gel (Singh y col., 2004). Además, presentan menor temperatura de gelificación (de 6 a 10 °C), y el pico de viscosidad máxima es mayor con respecto al nativo, indicando que los almidones acetilados se dispersan más fácilmente (Ribeiro, 2011) y producen geles más estables (Guerra Della Valle, 2007).

Annison y colaboradores (2003) sugieren que los almidones acetilados con GS 0,20-0,25 tienen un potencial valor como ingrediente para mejorar los aspectos nutricionales de los alimentos, ya que pudieron demostrar que elevan selectivamente los niveles de ácidos grasos de cadena corta en el intestino grueso. Esto se debe a que la mayor parte del almidón puede ser digerido por las enzimas digestivas del intestino delgado humano, pero una fracción del almidón resistente, pasa al intestino grueso donde es fermentado por la microflora, conduciendo la producción de ácidos grasos de cadena corta. La presencia de estos ácidos ofrece beneficios considerables: modulación de la actividad muscular del colon, estimulación del electrolito y la absorción de fluidos, el aumento del flujo sanguíneo y la prevención del crecimiento excesivo de microorganismos patógenos. Se ha demostrado en aplicaciones clínicas y no clínicas, que el almidón acetilado con GS entre 0,2 y 0,3 son un medio eficaz para conseguir este objetivo (Lopez-Rubio y col., 2009). Según (Masina y col., 2017), los almidones con GS medio, comprendido entre 0,3 y 1, son generalmente solubles en agua pero no en la extensión de los almidones de GS bajos .

Los almidones de alto GS (2-3) no son solubles en agua ya que se vuelven hidrofóbicos, pero son solubles en disolventes orgánicos, como acetona y cloroformo, y pueden ser gelatinizados a través de elevada presión y temperatura, por lo que se denominan materiales

termoplásticos, utilizados en la fabricación de embalajes biodegradables (Shogren, 2003) y también como reemplazante de la celulosa (Diop y col., 2011).

El Código Alimentario Argentino (CAA) establece la definición y requisitos básicos que debe cumplir el almidón de mandioca. Para los almidones modificados, se aplican los requisitos reglamentarios descritos en el capítulo XVIII del CAA que corresponde a Aditivos Alimentarios, donde se establece con detalles los métodos por el cual se pueden obtener los almidones modificados. Para el caso específico del almidón esterificado (acetilado) con anhídrido acético, se establece como máximo un valor igual a 2,5% de grupos acetilo. Esto equivale a un grado de sustitución igual a 0,097. La normativa completa se encuentra en información complementaria: Anexo II. Estos límites están establecidos para el uso del almidón como aditivo alimentario y no como material empleado en contacto con los alimentos.

3.2 OBJETIVOS:

Se planteó como objetivo del presente capítulo obtener almidón de mandioca modificado mediante el método químico de acetilación con la finalidad de obtener un rango de grado de sustitución dentro de los solubles en agua y realizar la síntesis mediante el método de menor agresividad posible a fin de evitar el deterioro del polímero. Posteriormente se evaluaron las propiedades físicas, químicas, estructurales, morfológicas y funcionales de los almidones obtenidos.

3.3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.3.1 Materia prima

Se trabajó con almidón de mandioca (ALDEMA®) proveniente de una planta industrial ubicada en la ciudad de Puerto Rico, provincia de Misiones. Se obtuvieron muestras en paquetes con presentaciones de 1 kg teniendo en cuenta el mismo número de lote de producción, con la finalidad de asegurar la homogeneidad de la materia prima empleada para el desarrollo de todo el trabajo.

3.3.2 Obtención de Almidón acetilado

La acetilación del almidón de mandioca se llevó a cabo mediante dos métodos. A continuación se describen con detalle los métodos empleados. En la Figura 3.1 se presenta un diagrama de flujo de los métodos empleados.

– Método 1: Acetilación de bajo Grado de Sustitución.

Para la obtención de almidones acetilados de $GS < 0,2$; se aplicó el método desarrollado por Wurzburg (1964). Se pesó 50 g de almidón de mandioca, se añadió 112,5 mL de agua destilada y se mezcló utilizando un agitador magnético para mantener una suspensión homogénea. El pH se ajustó con una solución de NaOH al 3% manteniendo un pH inicial entre 8,0 – 8,5. Luego se agregó el anhídrido acético gota a gota, ajustando simultáneamente el pH de la suspensión entre 8,0 – 8,5 con NaOH hasta agregar todo el anhídrido requerido para obtener los diferentes grados de sustitución. En todo momento se mantuvo una vigorosa agitación y la reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente (25 °C). La reacción se mantuvo durante 30 minutos. Seguidamente, se agregó HCl 0,5 N para bajar el pH a 4,5 y detener la reacción. Con la finalidad de eliminar el anhídrido acético remanente se enjuagó una vez con etanol y luego 3 veces con agua destilada. Por último, se filtró y se secó en estufa a 40 °C durante 48 hs.

– Método 2: Acetilación de valores medios de Grado de Sustitución.

Para la obtención de almidones de valores medios de grado de sustitución ($0,2 < GS < 1,5$) se aplicó el método de Mark-Mehlretter (1972) con algunas modificaciones. Se pesaron 40 g de almidón y se depositaron en un vaso precipitado adicionando anhídrido acético. La suspensión se agitó durante 5 minutos y luego se incorporó gota a gota solución acuosa de NaOH al 50%. Inmediatamente se incrementó la temperatura a 123 °C en 15 minutos aproximadamente y se mantuvo la reacción durante un tiempo determinado con vigorosa agitación utilizando un agitador magnético con placa calefactora. Se agregó agua fría en exceso para finalizar la reacción. Se dejó sedimentar y se enjuagó 3 veces con agua destilada. Finalmente se filtró y se secó en estufa a 40 °C durante 48 horas.

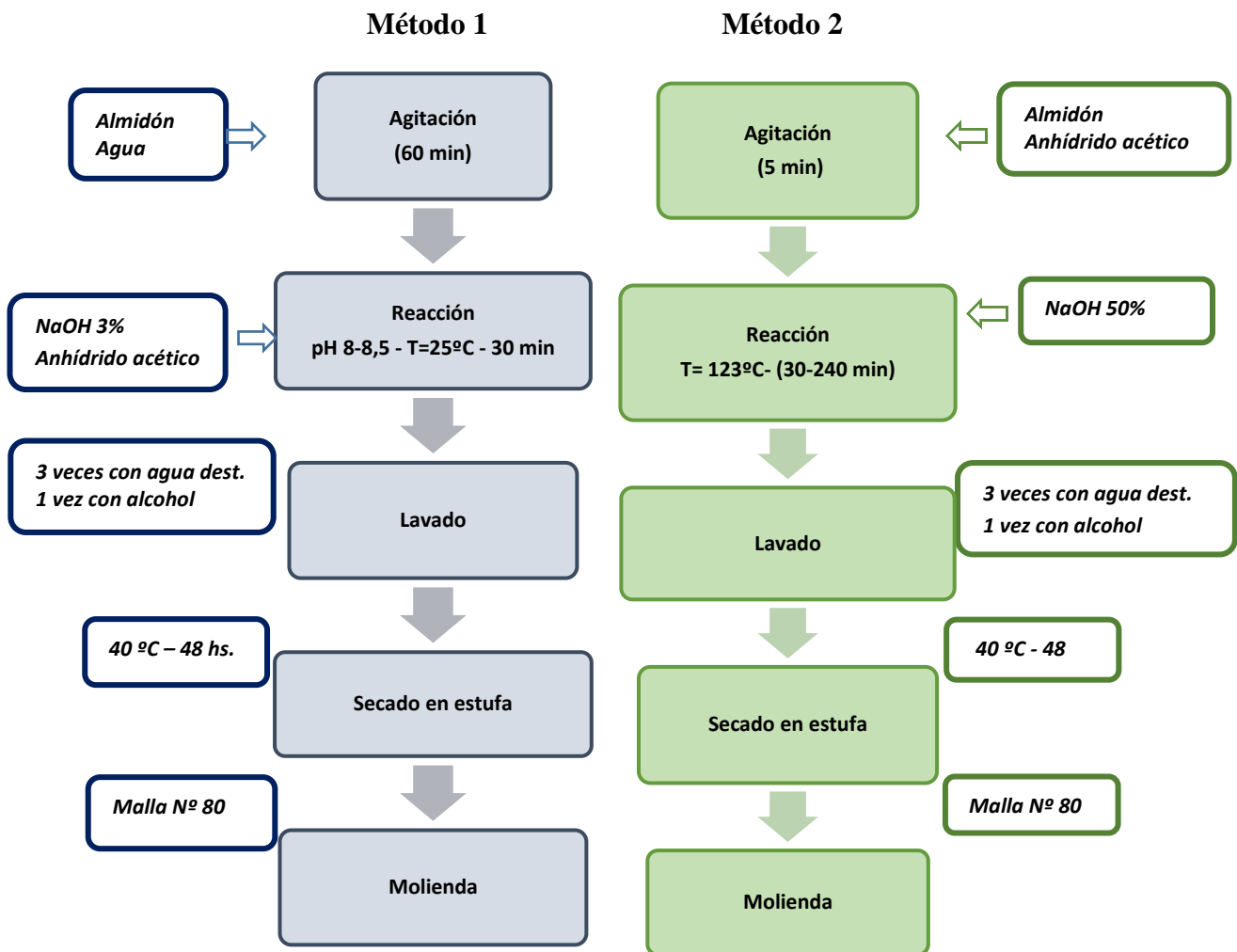


Figura 3.1: Diagrama de flujo de los métodos de acetilación (Método 1: bajos GS; Método 2: medios GS)

3.3.2.1 Condiciones experimentales de la síntesis del almidón acetilado

En el presente trabajo se obtuvieron almidones modificados de mandioca utilizando los métodos descritos en la sección anterior, con el fin de obtener almidones acetilados que cubran un rango de grados de sustitución (entre 0,04 y 1,5). En la Tabla 3.1 se presentan las condiciones de los ensayos, donde en una primera serie de experiencias se utilizó el método 1, variando la concentración del anhídrido acético entre 2 y 20% (g/100g de almidón), manteniendo la reacción durante 30 minutos.

Tabla 3.1. Condiciones experimentales de las reacciones de acetilación empleando los métodos 1 y 2 de acetilación

<i>Método 1</i>			
Ensayo	almidón/agua	g anhídrido acético/ 100 g almidón	Tiempo de reacción (min)
1	1: 2,25	2	30
2	1: 2,25	4	30
3	1: 2,25	6	30
4	1: 2,25	8	30
5	1: 2,25	10	30
6	1: 2,25	12	30
7	1: 2,25	14	30
8	1: 2,25	20	30

<i>Método 2</i>			
Ensayo	almidón/ anhídrido acético	g NaOH 50%/100 g almidón	Tiempo de reacción (min)
9	1: 3	10	30
10	1: 3	10	60
11	1: 3	10	105
12	1: 3	10	240
13	1: 2	05	30
14	1: 2	10	30
15	1: 2	20	30

En una segunda serie de ensayos se utilizó el método 2, variando el tiempo de reacción entre 30 y 240 minutos, manteniendo constantes las relaciones almidón/anhídrido acético y NaOH/almidón. En una tercera serie de experiencias, se aplicó el método 2 de acetilación variando la relación de NaOH respecto a la masa de almidón entre 0,05 y 0,2 (p/p). En este caso se mantuvieron constantes la relación almidón/anhídrido acético y el tiempo de reacción (30 minutos).

3.3.3 Caracterización del almidón acetilado

3.3.3.1 Determinación del grado de sustitución

– Almidones acetilados con GS < 0,2

El grado de sustitución se determinó mediante la técnica desarrollada por Ogawa y colaboradores (1999). Se pesaron 5 g de cada muestra de almidón modificado y se dispersaron con 50 mL de agua destilada en un Erlenmeyer. Se adicionaron unas gotas de fenolftaleína y se ajustó el pH con NaOH 0,1 M hasta observar un cambio de color en la solución. Luego se agregaron 25 mL de NaOH 0,45 M y la mezcla se agitó durante 30 min, con el Erlenmeyer tapado para evitar la evaporación del acetato de sodio formado durante la reacción de saponificación. Finalmente, el exceso de álcali en la muestra se tituló con una solución valorada de HCl 0,2 M. Se realizó un ensayo en blanco (sin almidón) siguiendo el mismo procedimiento. El porcentaje de sustitución, o bien, porcentaje de grupos acetilos (GA%) corresponde a los gramos del sustituyente en 100 g de almidón seco modificado (Wurzburg, 1986) y se calculó a partir de la siguiente ecuación:

$$GA\% = \frac{(A - B) \times N_{HCl} \times 43 \times 100}{M}$$

donde

A: Volumen gastado de HCl para titular la muestra (mL)

B: Volumen gastado de HCl para titular el blanco (mL)

N_{HCl} : Normalidad de la solución de HCl

43: Peso molecular del grupo acetilo (CH_3CO-) (mg/mmol)

M: Masa de la muestra de almidón (mg)

El grado de sustitución de los almidones modificados se define como el número promedio de grupos hidroxilos (OH) que fueron reemplazados por grupos acetilos ($CH_3-C=O$) por unidad estructural de anhidroglucosa del polímero de almidón (Wurzburg, 1964). El GS de los almidones acetilado se calculó a partir de la siguiente ecuación:

$$GS = \frac{162 \times \left(\frac{GA\%}{43}\right)}{100 - \left(\frac{42}{43} \times GA\%\right)}$$

donde

162: Peso molecular de la unidad anhidroglucosa ($C_6H_{10}O_5$), (mg/mmol).

43: Peso molecular del grupo acetilo (CH_3CO-), (mg/mmol).

42: Peso molecular del sustituyente monomérico ($-CH_2CO-$), (mg/mmol).

– **Almidones acetilados con GS entre 0,2 - 1,5**

Para la determinación del grado de sustitución de los almidones acetilados con valores medio de GS se utilizó el método desarrollado por Xu y colaboradores (2004). Se pesaron 0,5 g de almidón acetilado y se transfirieron a un erlenmeyer, en el que se añadió 50 mL de agua destilada y 25 mL de NaOH 0,5 N, manteniendo a 50°C durante 30 minutos en un baño termostatzado (VICKING, Dubnoff 5002, Serie Nº 24581, Industria Argentina) hasta obtener una solución transparente. Se dejó reposar para completar la saponificación durante 72 horas con eventual agitación. Finalmente, el exceso de NaOH se tituló con HCl 0,5N. Las determinaciones se efectuaron por triplicado. El GS se calculó de la siguiente manera:

$$GS = \frac{162 * (N_{NaOH} * V_{NaOH} - N_{HCl} * V_{HCl})}{(1000 * W) - [42 * (N_{NaOH} * V_{NaOH} - N_{HCl} * V_{HCl})]}$$

Donde:

N_{NaOH} : normalidad del NaOH

V_{NaOH} : volumen de NaOH (mL)

N_{HCl} : normalidad del HCl

V_{HCl} : es el volumen de HCl (mL)

W: peso de la muestra (g)

3.3.3.2 Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier

Las muestras de almidón nativo y sintetizado en el presente trabajo fueron analizadas en un espectrofotómetro FT-IR (Perkin Elmer, GX, USA). El barrido se realizó dentro de un rango de números de onda desde 4000 hasta 550 cm^{-1} . Para la preparación de las muestras, tanto de almidón acetilado como nativo, el polvo se mezcló en un mortero con KBr en una relación 10:1 aproximadamente, hasta obtener partículas finas y homogéneas. Luego se formó por prensado una pastilla translúcida que se colocó en el equipo para hacer incidir la radiación IR y proceder a la lectura del correspondiente espectro.

3.3.3.3 Microscopía electrónica de barrido

Las muestras de almidón fueron observadas mediante un microscopio electrónico de barrido (Zeiss-Sigma, Germany), equipado con un detector secundario de electrones y un voltaje de aceleración de 15 KV. Las muestras se montaron en porta muestras de bronce con una cinta bifaz y se recubrieron con una capa de oro (40-50 nm), permitiendo así la visualización de las superficies.

3.3.3.4 Isotermas de sorción

Las isotermas de sorción de muestras de almidón nativo y acetilados se determinaron pesando aproximadamente 2 g de muestra, secadas previamente en estufa (O.R.L.®, Argentina), se colocaron en recipientes herméticos que contenían soluciones saturadas de diferentes sales cuyas actividades acuosas variaron entre 0,113 y 0,936 (Tabla 3.2) y se almacenaron a 25°C hasta que alcanzaron el equilibrio (aproximadamente 20 días). La humedad final de las muestras se determinó por el método gravimétrico secando en estufa a 105°C hasta peso constante. Las isotermas de sorción de los almidones se determinaron por triplicado.

Se han desarrollado numerosas expresiones matemáticas para ajustar los datos experimentales. Los modelos matemáticos usados con mayor frecuencia son los propuestos por Brunauer, Emmett y Teller (BET) y por Guggenheim, Anderson y De Boer (GAB), siendo este último el que describe el fenómeno en todo el espectro de las isotermas de sorción. Ambos se basan en los principios de la monocapa.

El modelo de BET ajusta las isotermas dentro de un intervalo limitado de valores de a_w , no obstante, el concepto del valor de monocapa de BET, se acepta como punto de referencia del contenido de humedad de mayor estabilidad para los alimentos secos. El intervalo de a_w al que aplica este modelo es de 0 a 0,55. Las limitaciones del modelo de BET a altos niveles de a_w , produjeron el desarrollo de otros modelos, como el de GAB, para la región de multicapas.

Tabla 3.2: Actividades de agua de soluciones saturadas de diferentes sales

Solución saturada	Actividad acuosa
Cloruro de Litio	0,113
Cloruro de Magnesio	0,328
Nitrato de Magnesio	0,529
Bromuro de Sodio	0,576
Cloruro de Cobalto	0,649
Nitrato de Sodio	0,742
Cloruro de Sodio	0,753
Cloruro de Potasio	0,843

El modelo de GAB representa adecuadamente los datos experimentales en un intervalo de a_w de 0 a 0,95 para la mayoría de los alimentos, de interés práctico. Ambas ecuaciones, BET y GAB, están basadas en los mismos principios de la monocapa, sin embargo el modelo de GAB introduce un grado de libertad adicional (la constante k) que le otorga gran versatilidad, ya que en el modelo de BET asume que la adsorción física se localiza en las multicapas sin interacciones laterales. Con la incorporación del parámetro k , el modelo de GAB asume que las moléculas en multicapas, tienen interacciones con el adsorbente en valores energéticos similares a los que tienen las moléculas de la monocapa (Ramírez-Miranda y col., 2014).

Los datos experimentales obtenidos se modelaron matemáticamente con el modelo de GAB utilizando regresión no lineal. El modelo de GAB se representa por la siguiente ecuación.

$$X = \frac{X_m \cdot c \cdot k \cdot a_w}{(1 - k \cdot a_w) \cdot (1 + (C - 1) \cdot k \cdot a_w)}$$

Las constantes del modelo de GAB, representan:

X : Humedad de equilibrio (g agua/g sólido seco).

X_m : contenido de humedad de equilibrio de la monocapa (g agua/g sólido seco).

a_w : actividad acuosa

c : es la constante de Guggenheim, característica del producto y relacionada con el calor de adsorción de la monocapa.

k : es un factor de corrección relacionado con el calor de sorción de la multicapa.

Se estimaron los valores de los parámetros y la bondad de ajuste de los mismos a través del coeficiente de correlación (R^2) y el error medio porcentual.

El error medio porcentual (EMP) se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$EMP = \frac{100\%}{n} \sum_{t=0}^n \frac{a_t - f_t}{a_t}$$

Donde a_t es el valor observado, f_t es el valor estimado con el modelo y n es el número de observaciones de la experiencia.

3.3.3.5 Índice de solubilidad en agua y poder de hinchamiento

Para la determinación del índice de solubilidad en agua (ISA) y el poder de hinchamiento (PH) se utilizó la técnica desarrollada por Leach y colaboradores (1959) con algunas modificaciones (Colussi y col., 2014). Se pesó 1 g de muestra y se dispersó en 50 mL de agua destilada en un tubo de centrifuga, los tubos se agitaron y se llevaron a un baño termostatzado (Vicking, Dubnoff, Argentina) manteniendo la temperatura durante 30 minutos en escalones de 10 °C desde 50 a 90°C. Luego, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se centrifugaron a 5000 rpm durante 30 minutos en una centrífuga (Rolco, Argentina).

Para el cálculo del índice de solubilidad en agua, se colocó el sobrenadante en una cápsula, previamente secada y pesada, y se llevó a estufa a 103±1°C hasta peso constante.

$$ISA(\%) = \frac{W_{so} - W_c}{W_m} \times 100$$

Siendo:

W_{so} : peso de la cápsula con el sobrenadante seco (g)

W_c : peso de la capsula (g)

W_m : peso de la muestra en base seca (g)

La solubilidad se expresó como porcentaje de peso del sólido seco respecto al peso de almidón seco.

Para el cálculo del poder de hinchamiento se consideró el sedimento resultante de la centrifugación (almidón hidratado) y el peso inicial del almidón seco (restando la fracción soluble).

$$PH (g/g) = \frac{W_{se} - W_t}{W_m - ISA}$$

Siendo:

W_{se} : peso del sedimento húmedo (g)

W_t : peso del tubo vacío (g)

W_m , peso de la muestra en base seca (g)

ISA: fracción soluble

El resultado se expresó como los gramos del sedimento del gel por gramo de almidón. Las determinaciones se efectuaron por duplicado.

3.3.3.6 Claridad de las pastas

La claridad indica el grado de transparencia de las pastas y está directamente relacionada con el estado de dispersión de los solutos y con la tendencia a la retrogradación de los almidones. La capacidad para transmitir la luz cuando son sometidos al paso de un haz radiante mide su claridad. Se empleó la técnica propuesta por Piyachomkwan y colaboradores (2002). Suspensiones acuosas de muestras de almidón al 4 % p/v se gelatinizaron durante 20 minutos en un baño de agua a 90°C y se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Mediante un espectrofotómetro UV/Vis (SHIMADZU, UV: 2550, Japón) se midió el porcentaje de transmitancia de las suspensiones, a 650 nm y usando agua destilada como referencia. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

3.3.3.7 Propiedades de las pastas. Viscoamilógrafo Brabender

Para determinar la temperatura de gelatinización de las muestras de almidón y las viscosidades en Unidades Brabender (UB), se consideró la norma ISI 19, 2000. Se preparó 500 mL de una suspensión acuosa de cada muestra de almidón al 4% en base seca, se ajustó el pH 5,5 y se analizó en un viscoamilógrafo Brabender (Micro-Visco-Amylo-Graph, 803201, Germany). El equipo trabajó con una rampa incremental de temperatura con una pendiente positiva de 3°C/minuto, elevando la temperatura inicial de 50°C a 95°C, la cual se mantuvo durante 30 minutos. Por último, se disminuyó la temperatura hasta 50°C con una rampa decreciente de temperatura con una pendiente negativa de 3°C/minuto, se mantuvo esta temperatura durante 5 minutos. A partir de los amilogramas resultantes se determinaron los valores de viscosidad máxima, fragilidad (breakdown), asentamiento (setback), expresadas en UB, y la temperatura de gelatinización (°C). Las medidas se realizaron por triplicado sobre cada muestra de almidón.

3.4 RESULTADOS Y DISCUSION

3.4.1 Grados de sustitución de los almidones acetilados

Método 1: Obtención de almidones acetilados de bajo grado de sustitución.

Los resultados de grado sustitución del almidón de mandioca químicamente sustituido obtenidos por el método 1, se muestran en la Tabla 3.3.

Tabla 3.3: Grado de sustitución (GS) y porcentaje de grupos acetilo (GA%) de almidones de mandioca acetilados obtenidos por el método 1

<i>Ensayos</i>	<i>Denominación de las muestras</i>	<i>g anhídrido acético/ 100 g almidón</i>	<i>GS</i>	<i>GA%</i>
1	AA_{0,04}	2	0,040±0,002a	1,054±0,060a
2	AA_{0,06}	4	0,061±0,001b	1,583±0,031b
3	AA_{0,08}	6	0,078±0,002d	2,030±0,056d
4	AA_{0,07}	8	0,069±0,002c	1,789±0,049c
5	AA_{0,10}	10	0,096±0,001e	2,498±0,019e
6	AA_{0,12}	12	0,118±0,001f	3,044±0,037f
7	AA_{0,14}	14	0,144±0,001g	3,693±0,012g
8	AA_{0,17}	20	0,173±0,002h	4,405±0,064h

*AA: Almidón Acetilado. Los subíndices indican el grado de sustitución de la muestra.

**Los valores representan las medias de determinaciones por triplicado ± desviación estándar.

***Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

En la Figura 3.2 se muestran los valores obtenidos del grado de sustitución de los almidones acetilados respecto al porcentaje de reactivo empleado. Como se esperaba, el GS aumentó a medida que se incrementa la concentración de anhídrido acético, lográndose un GS máximo de 0,173 que corresponde a una concentración del 20% de anhídrido acético. Los resultados ajustaron a una relación lineal con un R^2 igual a 0,96, dentro del rango estudiado. Además, se pudo comprobar, que en el caso de almidón de mandioca, utilizando concentraciones mayores que 20% de anhídrido acético, la reacción de acetilación no era factible, ya que se gelatinizaba el almidón y se formaba una pasta viscosa, lo cual dificultaba la continuidad de la reacción. Debido a esto, con este método de acetilación, se pudo llegar a un valor de GS máximo igual a 0,173.

Los almidones acetilados que se obtuvieron cuando se emplearon 2, 4, 6, y 8 g de anhídrido acético/100 g almidón, permitieron obtener GS comprendido entre 0,040 y 0,096, equivalente a 1,054 y 2,498 GA%, que corresponden a los puntos por debajo de la línea roja de la Figura 3.2, que indica el límite máximo permitido por el CAA para el uso como aditivo.

En términos generales, con el método 1 de acetilación se logró obtener derivados de almidón de mandioca que pueden ser utilizados como aditivos alimentarios, ya que cumplen con la reglamentación vigente.

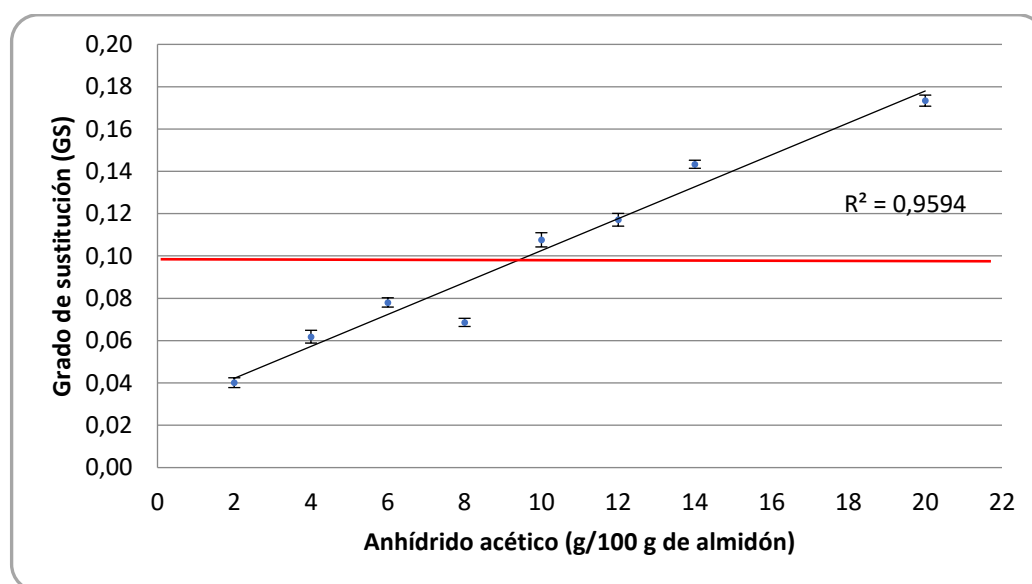


Figura 3.2: Variación del GS en función de la concentración de anhídrido acético

Estos resultados concuerdan con los que obtuvieron Xu y col., (2004), quienes estudiaron almidón de maíz y encontraron que el GS es directamente proporcional a la concentración del reactivo (anhídrido acético).

Resultados similares fueron obtenidos por Osundahunsi y colaboradores (2014), quienes utilizaron diferentes concentraciones de anhídrido acético y obtuvieron almidón acetilado de mandioca (*Manihot esculentum Crantz*) con GS comprendido entre 0,034 y 0,213. Estos autores, estudiaron además, dos cultivares distintos de mandioca y comprobaron que el tipo de cultivo tuvo un significativo efecto sobre el grado de acetilación.

Mbougoung y colaboradores (2012) estudiaron el efecto de la acetilación en almidón de papa y mandioca utilizando el método que se emplea en el presente trabajo de tesis, donde agregaron 6 g de anhídrido acético/ 100 g de almidón, manteniendo la reacción durante 10 y 20 minutos. Los autores encontraron que no hubo diferencia en el GS después de 10 min de reacción entre los almidones de mandioca y papa, mientras que a los 20 min si se observaron diferencias significativas, con valores más altos para el almidón de papa. Esta diferencia en GS de los distintos almidones fue atribuida, principalmente, a la diferencia de tamaño y fragilidad de los gránulos.

Sodhi y Singh (2005) acetilaron almidón de 5 cultivos distintos de arroz, agregando 6 g de anhídrido acético. Estos autores obtuvieron GA% comprendidos entre 2,26 y 3,68,

equivalente a GS entre 0,087 y 0,144, y atribuyeron estas diferencias a la variabilidad debida a los distintos cultivares, en el contenido de amilosa, estructura granular, disposición de las cadenas de amilosa y amilopectina y la forma en que la cadena de amilosa se empaqueta en las regiones amorfas.

Método 2: Obtención de almidones acetilados de valores medios de grado de sustitución.

Con este método se obtuvieron almidones acetilados con mayores GS que con el método anterior. Estos resultados eran esperados ya que se emplea más volumen de anhídrido acético, mayor concentración de catalizador y la reacción se lleva a cabo a temperaturas más elevadas. Los resultados de GS y GA% se muestran en las Tablas 3.4 y 3.5, que corresponden a las reacciones que se llevaron a cabo utilizando como variables, la concentración del catalizador y el tiempo de reacción, respectivamente.

Tabla 3.4. Grado de sustitución y porcentaje de grupos acetilos de almidones acetilados obtenidos mediante el método 2, variando la concentración de catalizador

<i>Ensayo</i>	<i>Denominación</i>	<i>g NaOH 50%/100 g almidón</i>	<i>GS</i>	<i>GA%</i>
9	AA_{0,41}	5	0,41±0,02a	9,94±0,46a
10	AA_{0,90}	9	0,90±0,02b	19,19±0,38b
11	AA_{1,03}	10	1,03±0,01c	21,58±0,23c
12	AA_{1,28}	20	1,28±0,06d	25,51±0,85d

*AA: Almidón Acetilado. Los subíndices indican el grado de sustitución de la muestra.

**Los valores representan las medias de determinaciones por triplicado ± desviación estándar.

***Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (p < 0,05).

En la Figura 3.3 se presenta la variación de los GS respecto a la concentración del catalizador, donde se observa que a menores concentraciones del catalizador, el ajuste es lineal, sin embargo, al aumentar la concentración del NaOH, la variación del GS respecto a la concentración del catalizador disminuye debido, probablemente, a una menor disponibilidad de sitios libres para la sustitución.

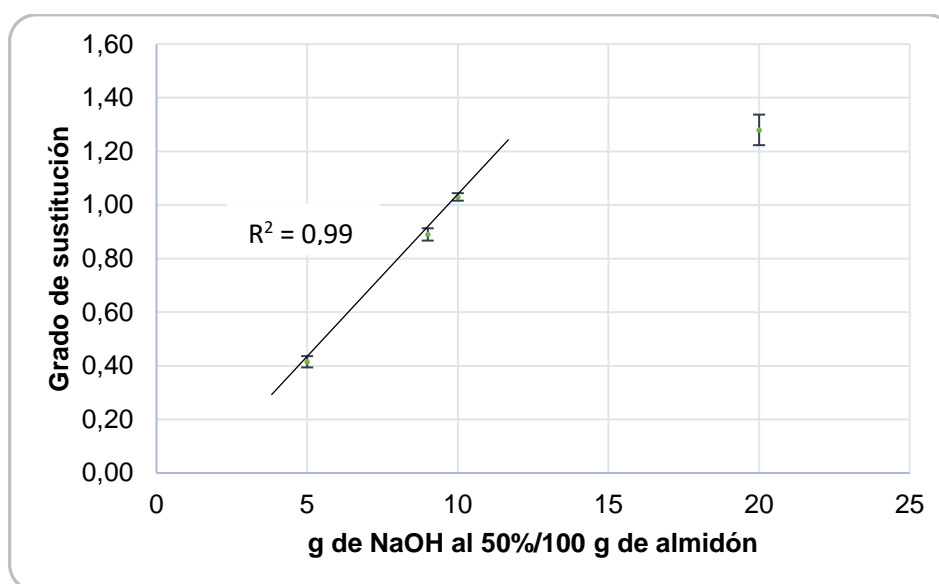


Figura 3.3: Variación del GS respecto a la concentración de NaOH

Xu y colaboradores (2004) acetilaron almidón de maíz de alta amilosa (70%) en condiciones de reacción similares a las estudiadas en el presente trabajo, variando entre 15 y 34% la cantidad de NaOH y observaron un aumento aproximadamente lineal del GS respecto al volumen de NaOH, desde 1,65 hasta 2,59.

Halal y colaboradores (2015) acetilaron almidón de cebada en condiciones similares con diferentes concentraciones de catalizador 11, 17 y 23 g de NaOH al 50% por 100 g de almidón, y obtuvieron GS igual a 0,08, 0,22 y 0,31 respectivamente.

En los ensayos de acetilación donde se varió el tiempo de reacción, manteniendo constante las concentraciones de reactivos y catalizador, se observó que el GS aumentó en forma aproximadamente lineal, como se observa en la Figura 3.4. Con estos resultados se analizó la cinética de reacción respecto al tiempo y se obtuvo el mejor ajuste ($R^2=0,96$) con una ecuación de orden cero y una constante de velocidad (k) igual a $0,15 \text{ h}^{-1}$.

Guerra Della Valle (2007) acetiló almidón de plátano y maíz en condiciones similares de reacción y obtuvo, a las 6 horas de reacción, grados de sustitución igual a 2,6 y 3, respectivamente. Además, la constante de velocidad de reacción (k) fue $0,67$ y $0,23 \text{ h}^{-1}$ para almidones de plátano y maíz, respectivamente. Estas diferencias en las constantes de la reacción lo atribuyó al contenido de amilosa, ya que el almidón de plátano contiene 37% y el maíz un 30% y a la presencia de diversos compuestos (polifenoles) que contiene el almidón de plátano lo cual dificulta la reacción de acetilación.

Xu y colaboradores (2004) acetilaron almidón de maíz de alta amilosa y observaron un aumento del grado de sustitución a medida que aumentó el tiempo de reacción, donde ese incremento no fue lineal, presentando una mayor velocidad a cortos tiempos y una reacción más lenta a tiempos más largos de acetilación.

Tabla 3.5. Grado de sustitución y porcentaje de grupos acetilos de almidones acetilado variando el tiempo de reacción

<i>Ensayo</i>	<i>Denominación</i>	<i>Tiempo de reacción (min)</i>	<i>GS</i>	<i>GA%</i>
13	AA_{0,72}	30	0,72±0,03a	16,20±0,66a
14	AA_{0,75}	60	0,75±0,04a	16,66±0,79a
15	AA_{1,04}	105	1,04±0,04b	21,74±0,69b
16	AA_{1,36}	240	1,36±0,06c	26,75±0,92c

*AA: Almidón Acetilado. Los subíndices indican el grado de sustitución de la muestra.

**Los valores representan las medias de determinaciones por triplicado ± desviación estándar.

***Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

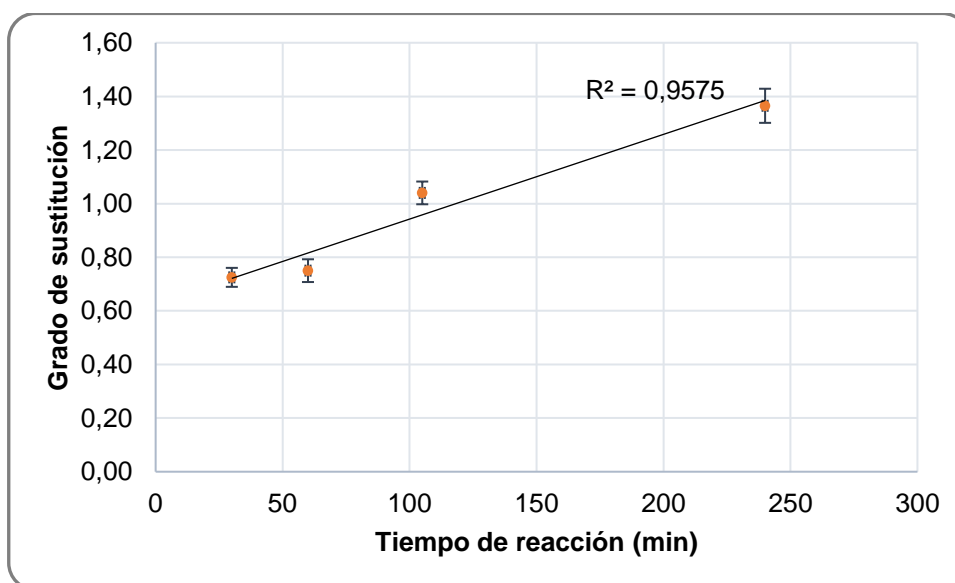


Figura 3.4: Variación del GS respecto al tiempo de reacción

3.4.2 Caracterización de los almidones acetilados

Se seleccionaron algunas de las condiciones experimentales presentadas anteriormente y se procedió a la caracterización. Se evaluaron propiedades moleculares a través de espectrofotometría infrarroja, propiedades morfológicas mediante microscopía electrónica de barrido, propiedades funcionales, como solubilidad, hinchamiento, viscosidad, claridad y además la humedad de equilibrio mediante isothermas de sorción. También se realizaron comparaciones de las propiedades con las del almidón nativo.

3.4.2.1 Espectrofotometría Infrarrojo con Transformada de Fourier

En la Tabla 3.6 se presenta las señales típicas que aparecen en el espectro de un almidón nativo. Las señales observadas entre 1000 y 1200 cm^{-1} se le atribuyen al estiramiento del enlace C-O. Otros picos de absorción que pueden observarse son: alrededor de 1641 cm^{-1} que corresponderían al agua ligada, alrededor de 2960 cm^{-1} atribuidas a la vibración C-H y una banda ancha alrededor de 3450 cm^{-1} , que resultaría de la vibración del grupo hidroxilo (Diop y col., 2011).

Tabla 3.6. Señales características de FTIR de almidones nativos

Nº de onda (cm^{-1})	Asignación
3600 – 3000	Amplio banda de estiramientos O-H
3000 - 2850	Estiramientos C-H
1640	Agua ligada $\delta(\text{O-H})$
1462	CH_2
1445-1325	Flexiones C-H
1250 - 900	Estiramientos C- O

Fuente: Mano, Koniarova & Reis, (2003)

En la Figura 3.5, se presentan de manera comparativa los resultados de los almidones nativo (AN) y acetilados. Si comparamos la curva de AN con las curvas de los almidones modificados podemos observar que después de la reacción de acetilación aparecen nuevas bandas de absorción. Por ejemplo, la banda a 1250 cm^{-1} , que correspondería específicamente al estiramiento del C-O del carbonilo, la señal cercana a 1400 cm^{-1} que indicaría la vibración de CH_3 asimétrica y un pico a 1760 cm^{-1} , podría atribuirse a la presencia del carbonilo (C=O). En estudios realizados en almidones acetilados de diferentes fuentes botánicas (papa, maíz

y cebada) también se observaron estas bandas de absorción características (Xu y col., 2004; 2005; Bello-Pérez y col., 2010). Estas nuevas bandas de absorción indican la presencia del grupo éster carbonílico formado durante el proceso de esterificación del almidón (Chi y col., 2008). Además, se pudo observar claramente una correlación directa de la altura del pico a 1760 cm^{-1} con los valores de GS obtenidos previamente mediante métodos químicos. También se observa en la Figura 3.5, una disminución en las señales correspondiente a la vibración de estiramiento ($3000\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$) y a la vibración de flexión (1650 cm^{-1}) del grupo O-H con el GS de los almidones acetilados, lo cual podría atribuirse a una menor afinidad con el agua debido a la sustitución de los grupos OH por los grupos $\text{CH}_3\text{-C=O}$ (Colussi y col., 2014).

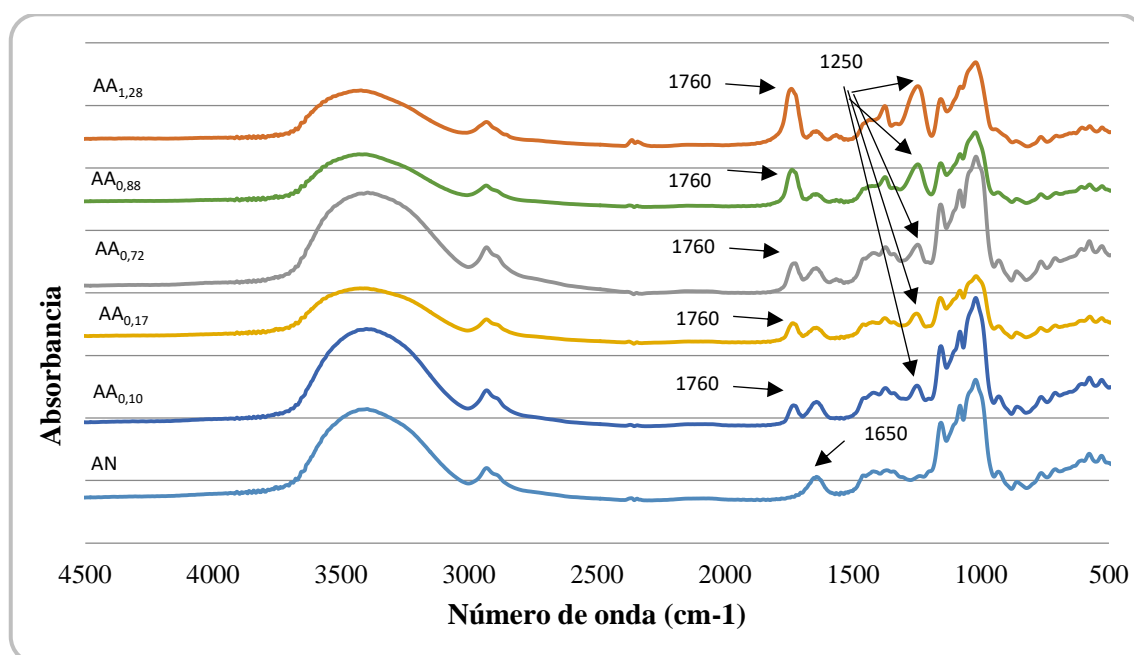


Figura 3.5: Espectro FTIR de almidones de mandioca nativo y acetilados

Diferentes autores encontraron, en concordancia con los resultados expuestos anteriormente, picos atribuidos al grupo carbonilo en un rango comprendido entre $1724 - 1735\text{ cm}^{-1}$ en almidones acetilados de distintas fuentes, entre ellos: maíz, papa, avena, mandioca y arroz (Xu y col., 2004; 2005; Mbougoung y col., 2012; Singh y col., 2004; Sodhi y Singh, 2005; Zhao y col., 2018, Cuenca y col., 2020). Resultados similares fueron publicados por (Bello-Pérez y col., 2010), quienes registraron un incremento en la señal cercana a 1740 cm^{-1} en almidones acetilados de cebada, tanto de bajo como alto grado de sustitución, y una disminución en las absorciones correspondiente a la vibración de estiramiento y a la vibración de flexión del grupo OH.

3.4.2.2 Propiedades morfológicas

En la Figura 3.6 se muestran las micrografías SEM de los almidones de mandioca nativo (AN) y acetilados (AA0,41; AA0,89 y AA1,28), donde se observa que los gránulos de almidón nativo presentan formas esféricas, con superficies lisas, algunos tienen forma de esferas truncadas y otros se parecen a hojuelas. En algunas zonas de la micrografía, se puede observar que los gránulos se agrupan formando racimos. Observaciones similares de los gránulos de almidón de mandioca han sido reportadas por Mbougung y colaboradores (2012).

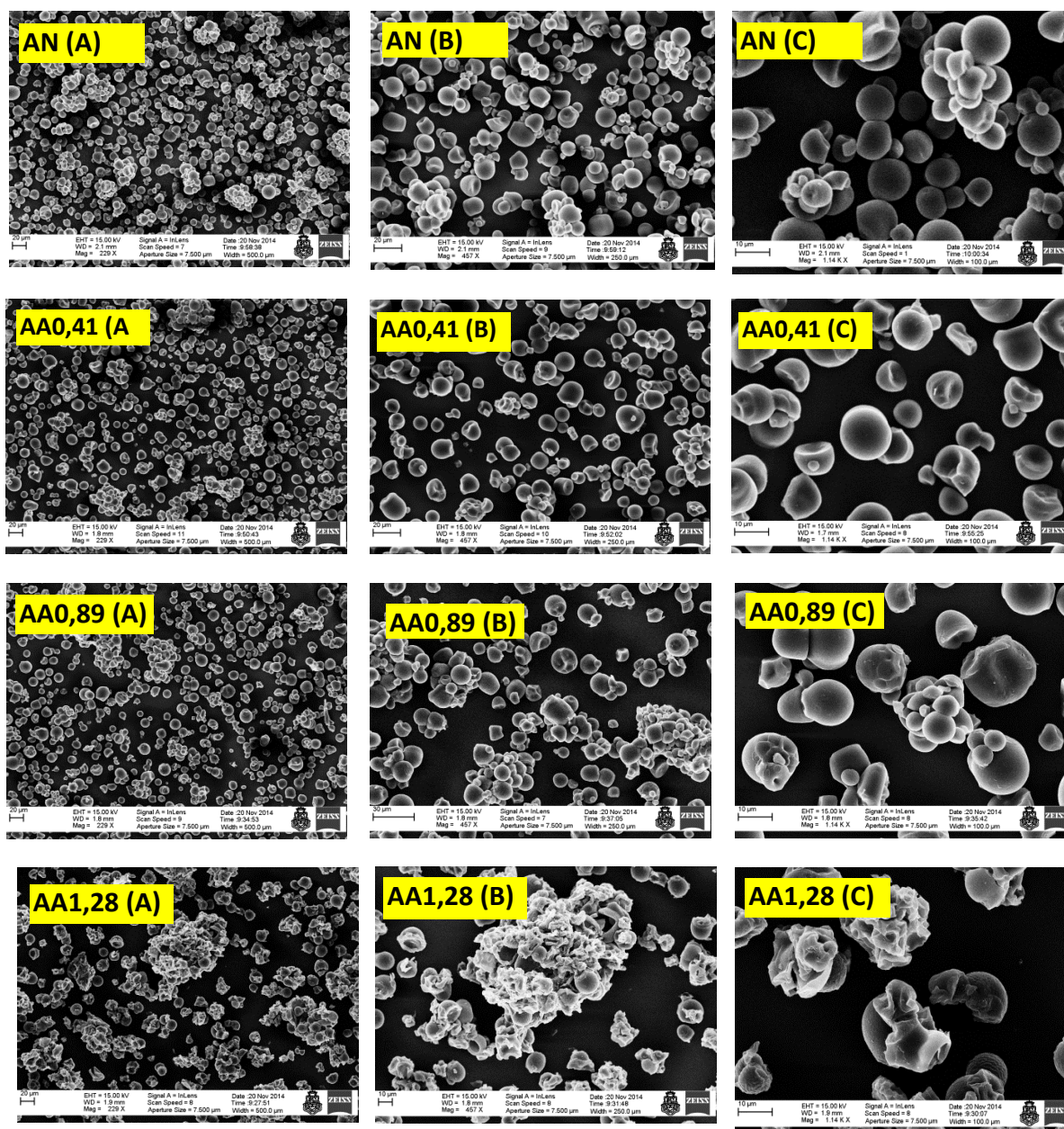


Figura 3.6: Micrografías SEM de almidones de mandioca nativo (AN) y acetilados (AA0,41, AA0,89, AA1,28) con diferentes magnificaciones (A) 229X; (B) 457X y (C) 1140X

Los gránulos de almidón acetilado (AA0,41) no presentan diferencias morfológicas con respecto al almidón nativo. En la muestra de almidón acetilado (AA0,89), en cambio, se observó la formación de conglomerados y en la muestra acetilada de mayor grado de sustitución (AA1,28) se observó, además de la formación de conglomerados, pérdida de estructura de los gránulos y aparición de rugosidad en la superficie. Esto último puede deberse a que la reacción de acetilación se lleva a cabo en condiciones más drásticas, con mayor concentración de reactivo y tiempo de reacción. Resultados similares fueron observados por Xu y colaboradores (2004) y Sodhi y colaboradores (2005).

La deformación de los gránulos podría deberse a la incorporación de grupos éster que aumentan el volumen interno de la molécula y reduce la tensión intermolecular provocada por los enlaces hidrógeno causando la apertura de la estructura del gránulo. Estas transformaciones morfológicas podrían ser causa de la disrupción de los gránulos durante el proceso de calentamiento y de la formación de agregados (Diop y col., 2011).

Cambios morfológicos en los gránulos también fueron observados en otros tipos de almidón a medida que aumenta el GS. Bello-Pérez y colaboradores, (2010) encontraron cambios en el tamaño y la forma de los gránulos en almidón de cebada con GS 0,9. Singh y col. 2004, también observaron fusión entre los gránulos de almidón acetilado de papa y maíz con bajos GS, a partir de 0,22 y 0,149, respectivamente. Teodoro y colaboradores (2015) informaron que los gránulos de almidón se aglomeran con la acetilación posiblemente porque la introducción de grupos acetilo aumenta los enlaces de hidrógeno intermoleculares entre las moléculas de almidón y el agua, lo que resulta en la fusión de gránulos de almidón.

3.4.2.3 Índice de solubilidad en agua (ISA) y poder de hinchamiento (PH)

Los resultados de las medidas de solubilidad en agua del almidón nativo y de los acetilados realizadas a las temperaturas entre 50 y 90°C se presentan en la Figura 3.7. La totalidad de los valores obtenidos de cada muestra se presentan en información complementaria (Anexo IV).

A medida que aumenta el GS, en la primera zona, se observó un aumento en el ISA alcanzando un valor máximo, para un grado de sustitución igual a 0,72. Para mayores GS la solubilidad disminuyó. Este pico de solubilidad se observó a todas las temperaturas. Sin embargo, a temperaturas bajas (50 y 60°C) se observó un aumento gradual del ISA para los almidones con GS hasta 0,72; en cambio, a temperaturas más elevadas (80 y 90°C), la variación del ISA con respecto al GS no presentó una tendencia clara en este rango.

La baja solubilidad del almidón nativo puede explicarse por su estructura interna semicristalina y/o su capacidad para formar un complejo lipídico (Singh y col., 2004). Como puede observarse en la Figura 3.7, las curvas de 50 y 60°C presentan valores cercanos a cero para AN.

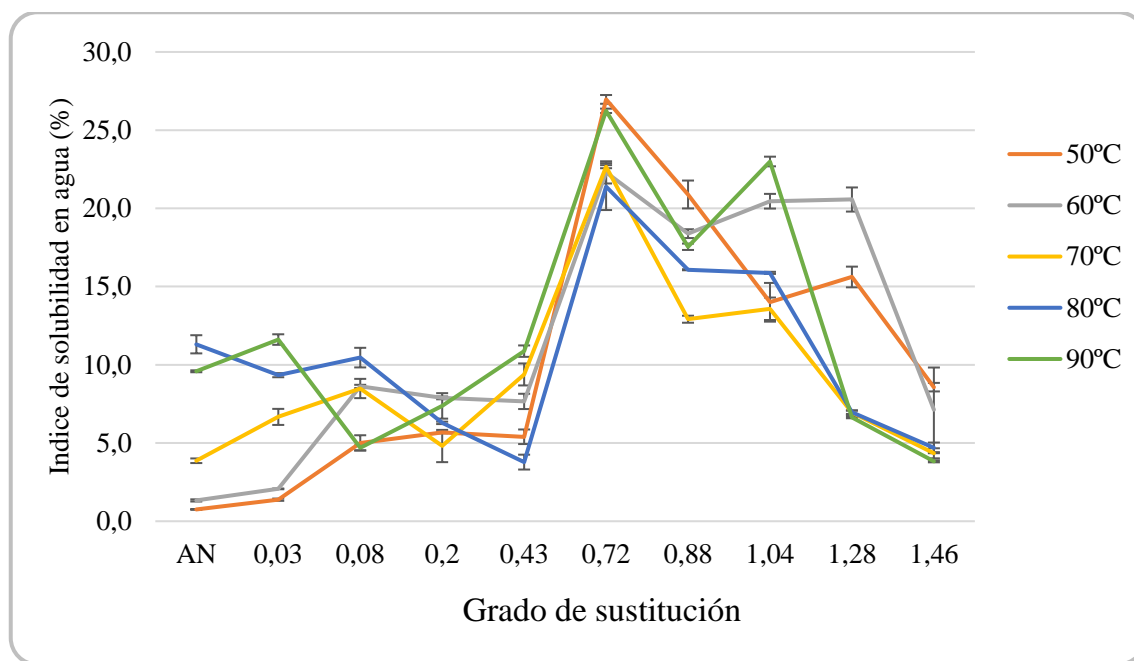


Figura 3.7: Índice de solubilidad en agua a distintas temperaturas para almidones de mandioca nativo y acetilados

Un aumento del ISA para almidones de bajo GS podría deberse a que se produce una reorganización estructural debido a la incorporación de grupos acetilos generando una apertura del gránulo por el efecto estérico (Singh y col., 2004). La introducción de grupos acetilo voluminosos en la molécula de almidón impide la asociación entre cadenas en el acetato de almidón y aumenta el acceso de agua a la zona amorfa, provocando un incremento en la hidratación del gránulo (Xu y col., 2005; Lawal, 2004).

Por otra parte, en los almidones acetilados con $GS > 0,72$ se observó una disminución del ISA, es decir, que los almidones se volvieron más hidrófobos. Esto último podría deberse a la disminución en la cantidad de grupos hidroxilos presentes y al menor movimiento de moléculas de agua dentro de las cadenas del polímero (Diop y col., 2011).

Con respecto al poder de hinchamiento de los almidones, en la Figura 3.8 se presenta la variación de este parámetro en función de los grados de sustitución, a las distintas temperaturas ensayadas. Los valores obtenidos para la totalidad de las muestras se

encuentran en información complementaria (Anexo V). Los resultados muestran que a bajas temperaturas (50 y 60 °C) el AN presentó menor grado de hinchamiento que los almidones acetilados; estos resultados se relacionan con las menores temperaturas de inicio de gelatinización de los almidones acetilados (resultados presentados a continuación en sección 3.4.2.6 Viscoamilógrafo Brabender). Por otra parte, el PH aumenta regularmente con el GS hasta alcanzar un GS igual a 0,2.

Asimismo, se observó un significativo aumento del PH a medida que aumenta la temperatura en el almidón nativo y en los acetilados de bajo GS (hasta 0,2), en concordancia con lo encontrado por otros autores en almidones de arroz (Halal y col., 2015) y mandioca (Osundahunsi y col., 2014). Estos últimos autores, obtuvieron almidón acetilado de dos cultivos distintos de mandioca (GS entre 0,03 y 0,213) y observaron que el poder de hinchamiento aumentó sustancialmente desde el intervalo de temperatura de 65 °C a 95 °C, tanto para almidones nativos como así también en acetilados. De esta manera concluyeron que el hinchamiento de los gránulos era función de la temperatura (variable independiente) y lo atribuyeron a que el grupo acetilo introducido produce una disminución de asociación de las cadenas del almidón.

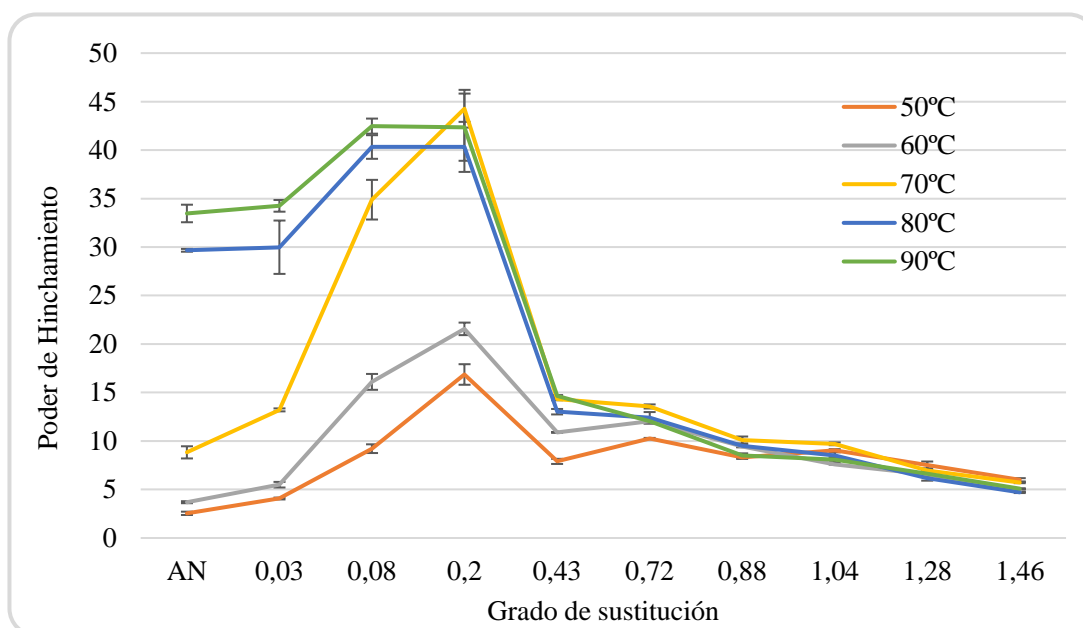


Figura 3.8: Poder de hinchamiento a distintas temperaturas para almidones de mandioca nativo y acetilados

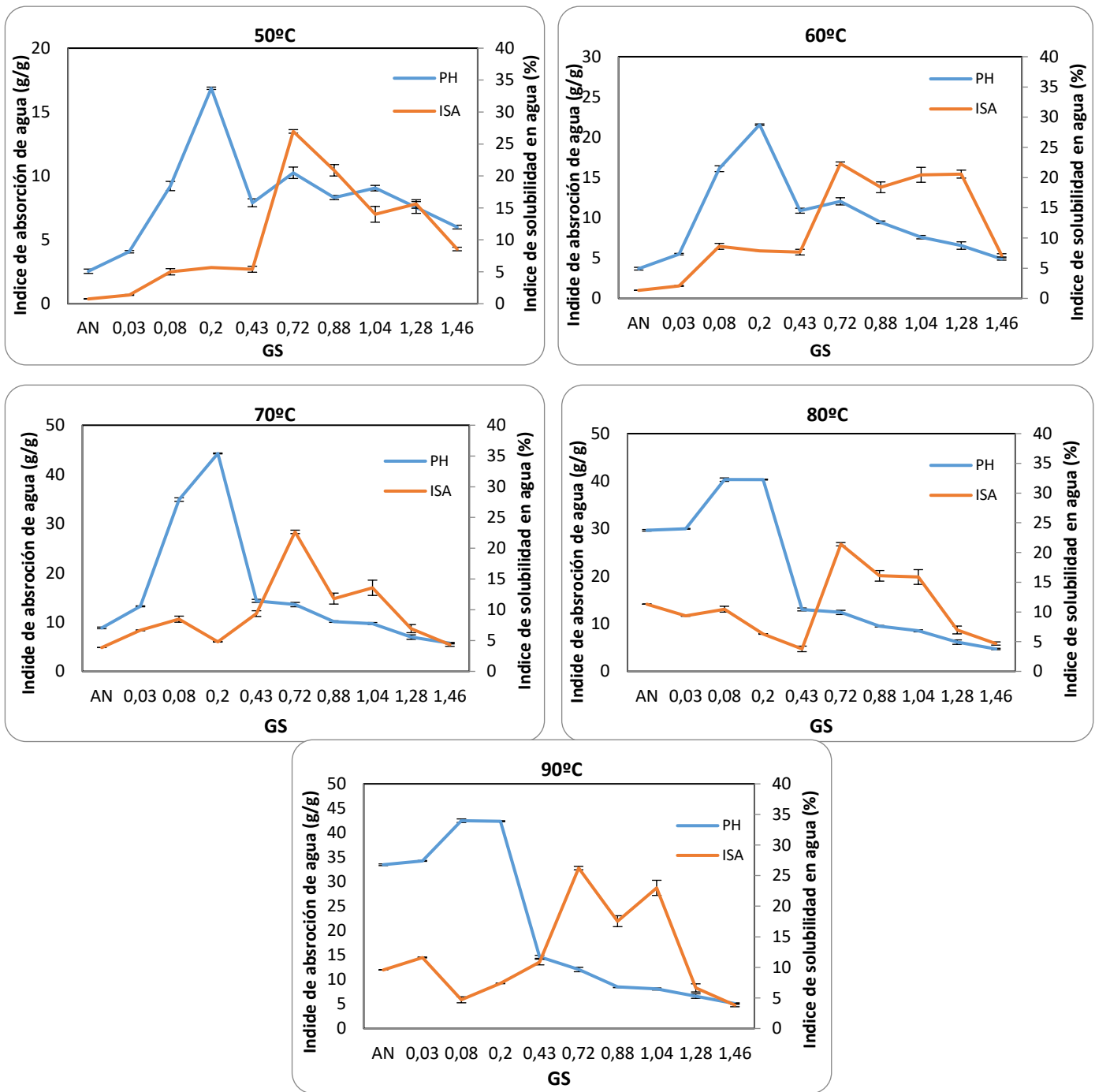


Figura 3.9: Índice de solubilidad en agua y poder de hinchamiento de almidones de mandioca nativo y acetilados con diferentes GS a distintas temperaturas

En el rango de GS entre 0,08 y 0,2 se observaron los máximos valores de hinchamiento a las temperaturas de 80 y 70°C. Este comportamiento fue similar para el ISA pero en un rango superior de GS.

A medida que se incorporan más grupos acetilos, específicamente a partir de GS 0,2 el PH disminuyó significativamente, y a partir de 0,43 la disminución se produjo con una pendiente muy baja. Esto podría explicarse, que al aumentar el número de grupos acetilos se reduce la interacción con moléculas de agua, y consecuentemente se reduce el poder de hinchamiento y solubilidad. En consecuencia, los acetatos de almidón se vuelven más hidrófobos. Resultados similares fueron observados por (Diop y col., 2011), para valores de GS mayores a 1,80.

En la Figura 3.9 se presentan las comparaciones de las medidas de ISA y PH de AN y AA para cada una de las temperaturas de ensayo, donde se puede observar claramente que en todas las temperaturas ensayadas el pico del ISA ocurre a valores de GS mayores que el pico de PH.

El poder de hinchamiento depende del GS y también de la naturaleza del almidón, es decir, de la proporción amilosa y amilopectina (Sjöqvist y Gatenholm, 2005; Colussi y col., 2014); esto explica las fluctuaciones en los valores observados de hinchamiento y solubilidad entre diferentes trabajos publicados.

Según los resultados obtenidos en este trabajo, el grado de acetilación influyó tanto en la solubilidad de agua como en el hinchamiento de los gránulos de almidón, estando en concordancia con los resultados que obtuvieron Xu y colaboradores (2005).

No existen antecedentes de investigación que determinen el ISA y PH en el rango de GS entre 0,03 y 1,46. Si, se han encontrado trabajos donde se determinaron dichos parámetros de diversas fuentes de almidón en rango de bajo GS y otros en zonas de altos GS, dependiendo del método de acetilación utilizado. Es por eso, que los resultados obtenidos en este trabajo de tesis resultan de interés, ya que se logra observar el comportamiento de estos parámetros en todo el rango de GS.

3.4.2.4 Isotermas de sorción

En la Figura 3.10 se presentan las curvas experimentales de isotermas de adsorción y el ajuste de GAB para las muestras de almidones nativo y acetilados.

En los últimos años el modelo de GAB se ha convertido en uno de los más utilizados en la tecnología de alimentos. Las características generales de este modelo es que describe el comportamiento de sorción en un amplio rango de a_w (0,1 y 0,9), y sus parámetros tienen significado físico. Ofrece muchas ventajas: (1) tiene antecedentes teóricos disponibles; (2) describe el comportamiento de sorción entre 0 y 0,9 a_w ; (3) sus parámetros tienen un

significado físico y (4) es capaz de describir los efectos de la temperatura (Chirife e Iglesias, 1978).

Los resultados experimentales señalan que a una humedad de equilibrio del 90%, el AN absorbería alrededor de 20 g de agua/g sólido, en tanto que AA1,28, absorbería 16,8 g de agua/ g sólido. El ajuste que presenta este modelo con los datos experimentales fue apropiado para las muestras analizadas ya que el error promedio porcentual fue menor 5% con un R^2 mayor a 96%.

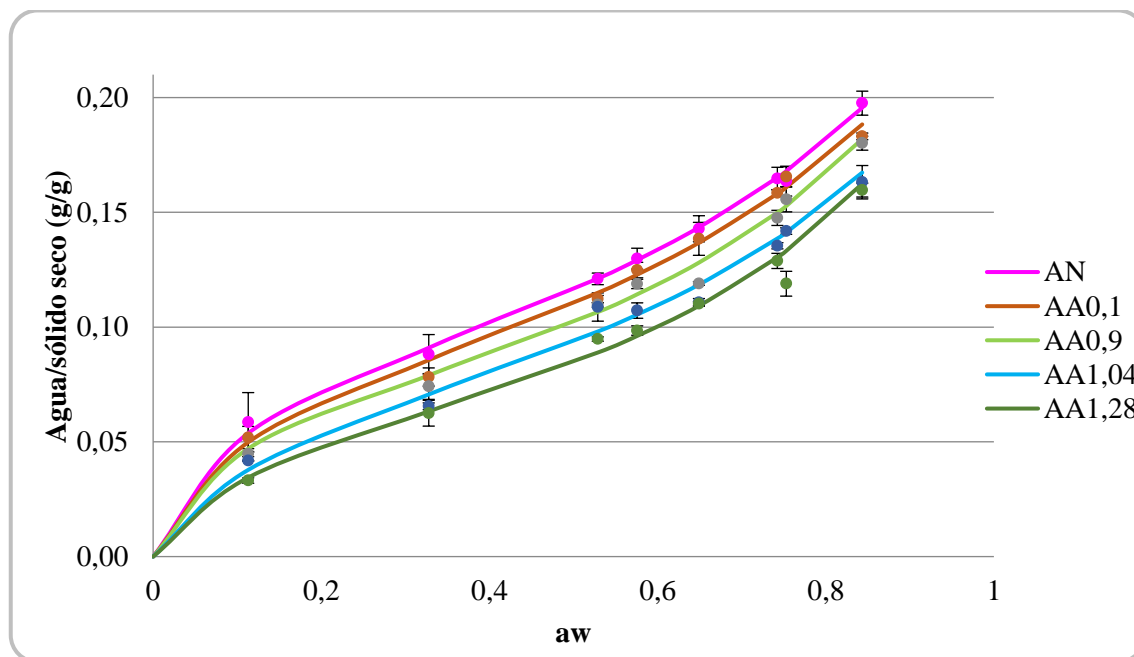


Figura 3.10: Isotermas de adsorción de almidones de mandioca nativo y acetilados

En la Tabla 3.7 se muestran los valores de las constantes del modelo, X_m (humedad de la monocapa), c y k , para cada muestra de almidón evaluada en este trabajo, donde se observa que el agua adsorbida a nivel de la monocapa tiende a reducirse con el incremento del GS. Cuanto más bajos son los valores de monocapa de un producto, mayor es la estabilidad de almacenamiento (Osundahunsi y col., 2014).

Asimismo, se observa que no hay diferencia significativa en los valores de X_m , entre la muestra de almidón nativo (AN) y acetilado con menor GS (AA0,10). En los almidones acetilados con mayor GS (AA0,90; AA1,04; AA1,28), se observa una disminución en el valor de humedad de monocapa respecto del almidón nativo, encontrándose diferencias significativas entre ellos.

Se observó que en todo el rango estudiado de a_w , el contenido de agua de los almidones fue menor a medida que se incorporaban más grupos acetilos.

Larotonda y colaboradores (2005) encontraron valores de humedad de equilibrio de la monocapa de GAB igual a 0,057 g agua/g s.s. para almidón de mandioca y un valor igual a 0,009 g agua/g s.s. para almidón acetilado con GS igual a 1,4.

Tabla 3.7: Parámetros de ajuste del modelo de GAB de las isotermas de sorción a 25 °C de almidones de mandioca nativo y acetilados.

<i>Muestras</i>	<i>X_m (g/g sólido seco)</i>	<i>c</i>	<i>k</i>	<i>R²</i>	<i>EMP</i>
AN	0,085±0,004d	16,56±0,34c	0,69±0,04a	99,85	2,02
AA _{0,1}	0,081±0,002d	14,29±0,97b	0,70±0,09a	98,78	3,64
AA _{0,9}	0,071±0,005c	12,90±0,90a,b	0,74±0,03a	98,95	3,82
AA _{1,04}	0,069±0,004b	11,24±1,54a	0,72±0,02a	98,21	4,10
AA _{1,28}	0,059±0,005a	11,94±0,02a	0,77±0,04a	96,69	4,56

*AN: Almidón Nativo. AA: Almidón Acetilado.

**Los valores representan las medias de determinaciones por triplicado ± desviación estándar.

***Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (p < 0,05).

Los valores del parámetro c mostraron una disminución con el aumento del GS, presentando todos los almidones acetilados diferencias significativas respecto al almidón nativo. Este parámetro representa el calor de sorción total en la primera capa y está relacionado con el efecto físico de la temperatura (Rocha y col., 2014). En otros términos, es una medida de la fuerza de unión de agua a los sitios de unión primaria. Cuanto mayor es su valor, más fuertemente está ligada el agua en la monocapa y mayor es la diferencia en entalpía entre las moléculas de la monocapa y las moléculas multicapas (Quirijns y col., 2005). Esto indica que como los almidones nativos tienen más grupos hidroxilos disponibles generan una mayor fuerza de unión con las moléculas de agua del medio, observándose un mayor valor de la constante c.

En cuanto al parámetro k, se observó un aumento con el incremento del GS. Los valores fueron inferiores a 1,0 (uno), variando entre 0,69 y 0,77. Este parámetro representa el factor de corrección de la propiedad de las moléculas en la multicapa, en relación con el volumen líquido (Rocha y col., 2014).

3.4.2.5 Claridad de las pastas

Los resultados de porcentaje de transmitancia (%T) de las pastas de almidón nativo y acetilados se presentan en la Tabla 3.8. En la misma, se observa que los almidones acetilados con bajos GS (0,04 a 0,17), obtenidos por el método 1 (Wurzbug, 1964), presentan mayores %T que el AN, indicando que formaron pastas más claras. Mbougueng y colaboradores (2012) también observaron un aumento significativo en la claridad de las pastas en almidones acetilados de mandioca y papa con GS bajos (menor a 0,3).

En cambio, las pastas de los almidones acetilados con GS más elevados, obtenidas en el presente trabajo por el método 2 (Mark-Mehlretter, 1972), presentaron valores de %T menores al almidón nativo. Craig y colaboradores (1989) obtuvieron resultados similares, con la salvedad que este autor analizó suspensiones más diluidas de almidón acetilado de trigo.

Tabla 3.8: Claridad de las pastas de almidones de mandioca nativo y acetilados

<i>Muestras</i>	<i>Claridad de las pastas (%T)</i>
AN	9,46 ± 0,20d
<i>Método 1</i>	
AA _{0,04}	19,07 ± 0,28g
AA _{0,08}	14,09 ± 0,08f
AA _{0,17}	12,29 ± 0,19e
<i>Método 2</i>	
AA _{0,43}	0,89 ± 0,01c
AA _{0,72}	0,72 ± 0,07b
AA _{0,90}	0,51 ± 0,01a
AA _{1,04}	0,40 ± 0,03a
AA _{1,28}	0,52 ± 0,02a
AA _{1,36}	0,72 ± 0,01b

*Los valores representan las medias de determinaciones por triplicado ± desviación estándar.

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

Estos resultados permiten aclarar como varía este parámetro en todo el rango de GS evaluado en esta tesis (entre 0,04 y 1,36), proporcionando una visión más clara al hecho de que algunos autores encuentran que almidones acetilados son más transparentes y otros menos transparentes respecto al almidón nativo.

La claridad de las pastas de almidón es un valor práctico y útil en muchas aplicaciones industriales. Una menor claridad de pasta puede relacionarse con la presencia de gránulos íntegros de almidón no afectados o poco afectados por el tratamiento de acetilación.

Después de la gelatinización del almidón acetilado, las cadenas poliméricas resultantes de la destrucción del gránulo tendrían una asociación menor que las del almidón nativo, debido a la sustitución de los hidroxilos por grupos acetilo que causa una mayor repulsión entre las cadenas adyacentes. Si además, hay una menor cantidad de granos íntegros restantes, las pastas obtenidas resultan más transparentes. En almidones acetilados con mayor GS, la sustitución de OH por grupos hidrófobos comienza a jugar un papel más importante, causando una menor solubilidad en agua y, en consecuencia, menores valores de porcentaje de transmitancia.

3.4.2.6 Propiedades de las pastas. Viscoamilógrafo Brabender

Las propiedades de las pastas obtenidas a partir de los almidones modificados sintetizados en la presente tesis fueron analizadas con un viscoamilógrafo Brabender. Los resultados (Tabla 3.9) muestran que la temperatura de viscosidad máxima de la pasta mostró un valor más bajo en almidones acetilados respecto al nativo, con valores que disminuyen regularmente a medida que aumenta el GS. Hubo diferencia significativa entre las muestras AA0,08, AA0,2 y AA0,88 respecto al AN, donde la temperatura disminuyó 3,5; 6,3 y 6,8°C, respectivamente. En la Figura 3.11 se presentan los perfiles de viscosidad de las muestras analizadas.

Tabla 3.9: Propiedades de las pastas de almidones de mandioca nativo y acetilados

<i>Parámetros</i>	<i>AN</i>	<i>AA0,04</i>	<i>AA0,08</i>	<i>AA0,20</i>	<i>AA0.88</i>	<i>AA1.28</i>
Temperatura de viscosidad máxima. (TV _{max})	60,3±0,1d	59,9±0,5c,d	56,8±0,2b	54,2±0,5a	53,5±0,3a	nd
Viscosidad máxima (V _{max})	384,0±14,1a	338,7±32,3a	456,5±0,7b	385±6,5a	sp	nd
Viscosidad de la pasta caliente (VPC)	152,5±2,1b	133,7±4,9a	192,0±1,4c	157±3,3b	262±5,9d	nd
Viscosidad de la pasta fría (VPF)	277,5±2,1b	240,0±3,6a	330,5±4,9c	244±3,4a	400±7,2d	nd
Breakdown (V _{max} -VPC)	106,5±12,0a	98,7±35,7a,b,c	126,0±4,2b	141,0±7,5c	-	nd
Setback (VPF-V _{max})	125,0±1,4c	106,3±1,5b	138,5±6,4d	87,0±5,2a	138±4,6d	nd

*Temperatura (°C), Viscosidades (UB), Breakdown (UB) y Setback (UB).

**Todos los valores representan las medias ± desviación estándar de determinaciones por triplicado.

***Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (p < 0,05).

****sp: Sin pico; nd: No detectable

La reducción de la temperatura de viscosidad máxima de la pasta del almidón acetilado puede atribuirse a la incorporación de grupos funcionales a la estructura del almidón, causando una disminución de las fuerzas de atracción en la región amorfa y un debilitamiento de los enlaces de hidrógeno intramoleculares en el gránulo (Halal y col., 2015). Esta característica es una de las ventajas de la acetilación, ya que gelatiniza a temperaturas más bajas, reduciendo los costos energéticos durante la elaboración de productos en los que se utilizan estos almidones.

La variación de la viscosidad de la pasta con el GS podría ser atribuido a tres posibles mecanismos (Liu, 2005) por los cuales la acetilación puede influir en las interacciones entre las cadenas de almidón: (A) impedimento estérico que evita el acercamiento de las cadenas disminuyendo la formación de enlaces de hidrógeno, (B) alteración de la hidrofiliidad del almidón (menor OH) y, por tanto, menor unión efectiva con moléculas de agua, y (C) la participación de los grupos acetilos en enlaces de hidrógeno mejorados con otros enlaces de hidrógeno en las cadenas de almidón. Los mayores valores de viscosidad de los almidones acetilados de la muestra AA0,08 podrían explicarse también por el aumento del PH.

Los valores de viscosidad de los almidones acetilados mostraron un comportamiento variable con GS en concordancia con otras investigaciones (Sodhi y Singh, 2005; Bello-Perez y col, 2010). Los resultados de las mediciones de viscosidad de VPC y VPF también mostraron valores máximos en GS igual a 0,88. Estos valores de viscosidad son más altos que los medidos para el almidón nativo. Se ha informado que la viscosidad de la pasta caliente está influenciada por el grado de lixiviación de la amilosa, la fricción entre los gránulos hinchados, el hinchamiento de gránulos, entre otros (Olkku y Rha, 1978).

Los valores experimentales demostraron que el Breakdown aumentó sistemáticamente con el GS hasta 0,2. A mayor GS (0,88), la curva presenta aumentos regulares de viscosidad, sin formación de picos de viscosidad. Este patrón podría deberse a una mayor resistencia al calor y al cizallamiento por el alto grado de sustitución en el almidón de mandioca acetilado como se ha informado en el almidón de cebada por (Bello-Pérez y col., 2010).

En el caso del almidón con el GS más alto (1,28), el amilograma presentó una línea horizontal, sin presentar los picos que normalmente caracterizan los parámetros de las pastas de almidón.

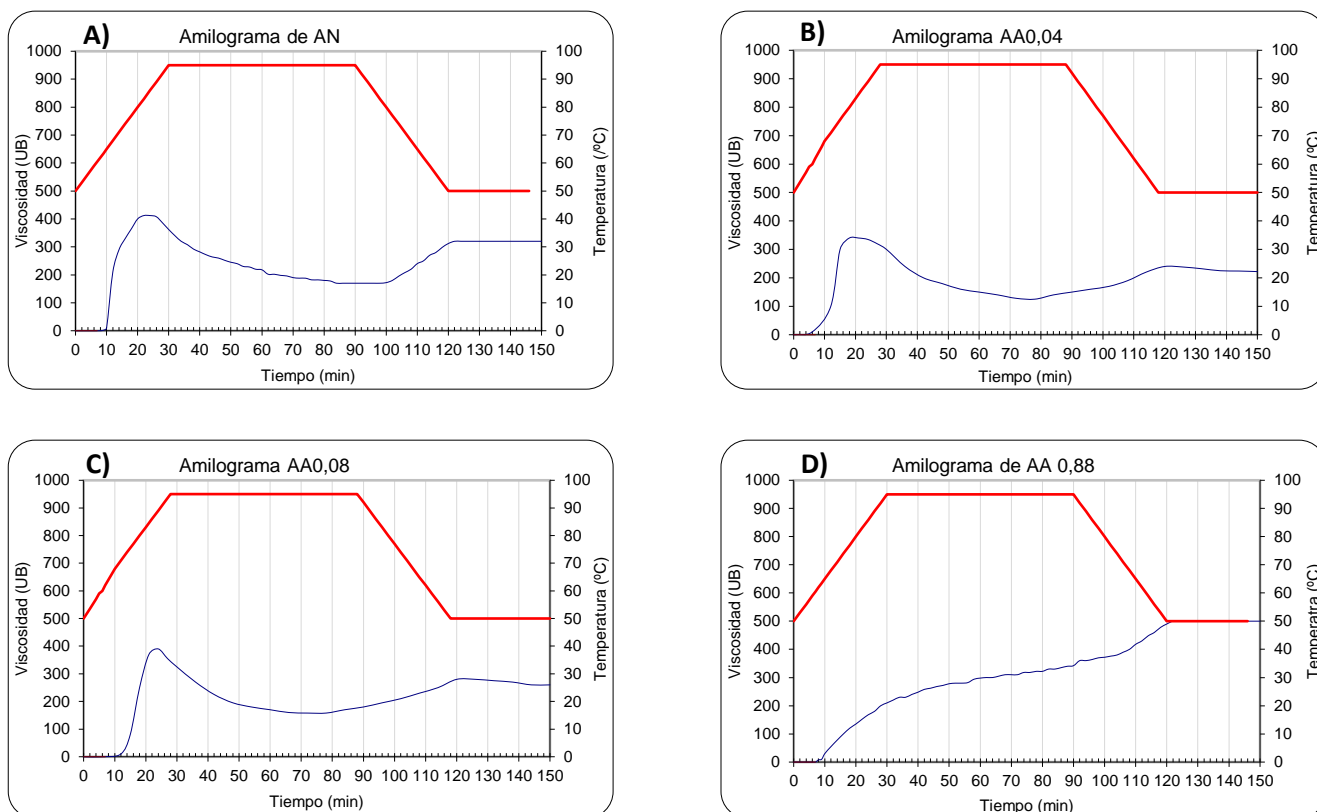


Figura 3.11: Amilogramas de A) almidón nativo, almidones acetilados B) GS=0,04, C) GS=0,08 y D) GS=0,88. Las curvas azules representan la variación de viscosidad y la roja la temperatura durante el ensayo

3.5 CONCLUSIONES

Se sintetizaron almidones acetilados de mandioca con GS comprendidos entre 0,04 y 1,36. Para obtener acetatos con GS hasta 0,2 fue posible utilizar una reacción suave en medio acuoso y temperatura ambiente. Debido a la alta viscosidad de la suspensión de almidón de mandioca, este método no fue práctico para alcanzar valores más altos de sustitución y se requirió un método con condiciones más drásticas (temperatura más alta, mayor proporción de almidón/anhídrido acético y solución de NaOH más concentrada).

La incorporación de grupos acetilos en el almidón de mandioca fue cuantificada químicamente y confirmada con el análisis FTIR, donde se observó un aumento en el pico característico del grupo carbonilo a medida que se incrementó el GS de las muestras.

El poder de hinchamiento de los almidones acetilados presentó un comportamiento complejo. Se observó un aumento de este parámetro con el GS en los almidones con bajo grados de sustitución, obteniéndose un valor máximo para GS igual a 0,2 a todas las

temperaturas. Mientras que a partir de GS de 0,43 el poder de hinchamiento disminuyó drásticamente como también su dependencia con la temperatura.

En cuanto al índice de solubilidad en agua, tuvo un comportamiento similar al poder de hinchamiento. Se observó un valor máximo en este parámetro para GS igual a 0,72, a todas las temperaturas estudiadas. Y luego, para almidones acetilados mas sustituidos, la solubilidad disminuyó drásticamente.

Respecto a los resultados de isotermas de adsorción, los valores experimentales ajustaron al modelo matemático de GAB y se observó que en todo el rango estudiado de a_w , el contenido de agua de los almidones fue menor a medida que aumenta el GS. De todas maneras, no se evidenció diferencia significativa en los valores del contenido de agua de la monocapa, entre la muestra de almidón nativo (AN) y acetilado con bajo GS. En cambio, en los almidones acetilados con $GS > 0,90$, se observa una disminución significativa en el valor de humedad de monocapa respecto del almidón nativo, encontrándose además, diferencias significativas entre los acetatos.

Las micrografías SEM mostraron que a medida que se incorporan grupos acetilos, en principio, los gránulos de almidón de mandioca sufren cambios superficiales, pero luego, a valores más altos de GS, pierden en su totalidad su estructura original.

Los almidones acetilados de bajo GS formaron pastas más claras que el almidón nativo, mientras que los almidones de mayor GS pastas menos claras. Esta propiedad es de interés cuando se utiliza almidones en formulaciones alimentarias.

La temperatura de gelatinización del almidón acetilado disminuye con el aumento del grado de sustitución. Esta característica es una de las ventajas logradas con la acetilación del almidón de mandioca, ya que permite el uso de almidones acetilados como agente espesante en procesos donde se requieren bajas temperaturas de gelatinización.

CAPÍTULO 4:

*OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE
PELÍCULAS DE ALMIDÓN DE MANDIOCA NATIVO
Y ACETILADOS*

4. OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS DE ALMIDÓN NATIVO Y ACETILADOS

4.1 INTRODUCCIÓN

La hidrofobicidad del acetato de almidón se incrementa a medida que aumenta el grado de sustitución y la longitud de la cadena del sustituyente, provocando una disminución en su miscibilidad con el agua, volviéndose soluble en solventes orgánicos (acetona, cloroformo, etc.). Frignant y col., 1996 informaron que acetato de almidón con un GS mayor que 1,7 presenta propiedades típicamente hidrofóbicas.

Muchas investigaciones se han centrado en la obtención y caracterización de películas de almidones acetilados solubles en agua. Por ejemplo: (Petersson y Stading, 2005), han estudiado el efecto sobre las propiedades de películas de almidón de papa adicionadas con distintas concentraciones de almidones acetilados, observándose que al aumentar la concentración de almidón acetilado disminuyó el módulo de Young, la resistencia a la tensión y el porcentaje de elongación a la ruptura, como así también, la permeabilidad al vapor de agua. Lopez y col., 2008, encontraron que el agregado de plastificante en películas de almidón de maíz acetilado, disminuye la fragilidad, mejora la flexibilidad, aumenta la solubilidad, la opacidad y la permeabilidad.

Otras investigaciones se enfocaron en la obtención de películas de almidón acetilado de altos grados de sustitución, los cuales se obtienen empleando solventes orgánicos. Por ejemplo, Tarvainen y colaboradores (2003) estudiaron el efecto de diferentes plastificantes utilizando almidón acetilado de papa con GS 2,80 con la finalidad de utilizarlo en recubrimientos de productos farmacéuticos. Larotonda y colaboradores (2005) utilizaron acetato de almidón de mandioca con grado de sustitución de 1,4 para la impregnación de papeles y obtuvieron una mejora las propiedades de permeabilidad al vapor de agua así como otras propiedades físicas del papel, constituyéndose esta opción en una interesante forma de obtener material de envase biodegradable y basado en fuentes renovables que sería apto para el envasado de productos semisecos donde la permeabilidad es de fundamental importancia. Cuenca y colaboradores (2020), obtuvieron películas de almidón acetilado de mandioca con GS igual a 2,90, las cuales resultaron ser homogéneas y continuas, de apariencia plástica, pero muy frágiles. Con el agregado de anhídrido succínico como plastificante lograron mejorar las propiedades mecánicas pero con el almacenamiento, se volvieron cerosas y frágiles.

Sin embargo, a pesar de la amplia bibliografía que se dispone respecto a la obtención de películas biodegradables de acetato de almidón, existe información no concordante en el comportamiento de los acetatos en todo el rango de GS, en el cual las soluciones pasan de

ser solubles en agua a ser solubles en solventes orgánicos. Debido a ello, en esta tesis, se realizó un estudio sistemático del efecto del GS en las propiedades mecánicas, estructurales e hidrofóbicas de las películas de acetato de almidón en el rango de GS 0,04 a 1,36.

4.2 OBJETIVOS

Se planteó como objetivo de este capítulo obtener películas a partir de almidón de mandioca nativo y acetilados con distintos grados de sustitución. Se evaluó el efecto de la concentración de almidón, de glicerol y del grado de sustitución en las propiedades mecánicas, de barrera y ópticas, con el fin de poder determinar diferentes aplicaciones.

4.3 MATERIALES Y METODOS

4.3.1 Obtención de las películas

Se volcaron sobre placas rectangulares de acrílico de 130 mm x 210 mm una cantidad igual a 90 g de las suspensiones filmogénicas, con el fin de mantener una relación masa:área constante. Las suspensiones se secaron en estufa con flujo de aire a 40°C durante 2 hs y luego se mantuvieron a 20°C durante 1 día. Las películas se almacenaron a 25°C y 54% de humedad relativa (en un recipiente hermético con sal saturada de MgNO₃) previo a su caracterización.

4.3.2 Obtención de películas de Almidón nativo

4.3.2.1 Selección de la concentración adecuada de almidón

Se prepararon suspensiones acuosas de almidón nativo (AN) cuyas concentraciones fueron 4, 5 y 6 g de almidón/100g de suspensión (4-6% p/p) y se agregó glicerol como plastificante con una concentración igual a 20 g/100 g de almidón. Las mezclas se gelatinizaron a 90 °C durante 20 minutos.

4.3.2.2 Selección de los niveles adecuados de plastificante

Con el fin de determinar la cantidad de plastificante más adecuado se realizaron ensayos con formulación al 4% p/p de almidón nativo, gelatinizadas en las condiciones anteriormente descritas, a las que se les agregó glicerol en diferentes concentraciones. Las concentraciones fueron de 10; 20; 30; 40 y 50 g de glicerol/100 g de almidón (10-50% p/p).

4.3.3 Obtención de películas de almidón acetilado

La metodología es igual a la utilizada para la obtención de películas de AN. La concentración de AA fue igual a 4 g de almidón/100g de suspensión y 20% de glicerol. Los almidones acetilados empleados en la obtención de las películas fueron los sintetizados en el capítulo 2 (GS comprendidos entre 0,04 y 1,36).

4.3.4 Obtención de películas mixtas: Almidón nativo-almidón acetilado

Se realizaron ensayos de películas mixtas con mezclas de AN y AA con diferentes GS. Las suspensiones acuosas se obtuvieron al 4% p/p. Las mezclas de los almidones cuyas proporciones, expresadas en % en peso en la suspensión, fueron 2% AN + 2% AA. Además, se realizaron ensayos con dos concentraciones de glicerol: 20 y 30% (g/100 g almidón).

4.3.5 Caracterización de las películas

4.3.5.1 Espesor

Los espesores de las películas se midieron con un micrómetro digital Testing Machines INC (0,001 mm de precisión). Estos valores luego se emplearon para los cálculos de permeabilidad al vapor de agua y propiedades mecánicas.

4.3.5.2 Humedad

Se prepararon muestras de películas de 2 x 3 cm acondicionados previamente en una cámara de humedad relativa controlada igual a 54%. El contenido de agua de las películas se determinó por pérdida de peso luego se ser secadas en estufa a 105 °C hasta peso constante. Se realizaron tres mediciones para cada muestra. El contenido de agua o humedad se expresó en términos de porcentaje (gramos de agua en 100 g de muestra) usando la siguiente ecuación.

$$\text{Contenido de agua (\%)} = \left[\frac{(\text{Peso inicial} - \text{Peso seco final})}{\text{Peso inicial}} \right] \times 100$$

4.3.5.3 Solubilidad

Las muestras de películas de 2 x 3 cm fueron acondicionadas en un desecador con sílica gel durante 7 días. Luego, las mismas se pesaron (peso seco inicial) y colocaron en vasos precipitados con 80 ml de agua destilada. Se mantuvieron con agitación suave constante durante 1 hora a temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ utilizando un agitador magnético. Luego, las muestras fueron recuperadas y secadas en estufa a 70°C hasta peso constante (peso seco final). Las determinaciones se realizaron por duplicado. El porcentaje de materia soluble (% solubilidad) fue calculada de la siguiente manera:

$$\% \text{ Solubilidad} = \left[\frac{(\text{Peso seco inicial} - \text{Peso seco final})}{\text{Peso seco inicial}} \right] \times 100$$

4.3.5.4 Isotermas de sorción

Las películas se cortaron en piezas de aproximadamente 4 cm^2 y se mantuvieron durante 7 días en un recipiente con sílica gel. Luego se colocaron, por triplicado, en recipientes herméticos con soluciones saturadas de diferentes sales cuyas actividades acuosas variaron entre 0,113 y 0,843 (Tabla 3.2) y se almacenaron a 25°C hasta que alcanzaron el equilibrio (aproximadamente 20 días). La humedad final de las muestras se determinó mediante método gravimétrico secando en estufa a 105°C hasta peso constante. Las isotermas de sorción de los almidones se determinaron por triplicado.

Los datos experimentales obtenidos se modelaron matemáticamente con el modelo de GAB utilizando regresión no lineal.

4.3.5.5 Propiedades mecánicas.

Para la medición de las propiedades mecánicas se utilizó un equipo de tracción universal empleando mordazas de tensión según la norma ASTM D882-91 (1996).

Los ensayos se realizaron en probetas de películas (Figura 4.1 A) de 100 mm de largo por 20 mm de ancho, utilizando 50 mm de separación inicial entre las mordazas (Figura 4.1 B). Se realizaron al menos diez repeticiones por cada muestra.

Mediante este ensayo, se calcularon los siguientes parámetros: fuerza de ruptura (σ , MPa), porcentaje máximo de elongación (ϵ_{max}) al momento de la ruptura (deformación a la ruptura dividido la longitud inicial de la probeta) y el módulo elástico (E) como la pendiente de la recta tangente a la curva tensión-deformación en su sección lineal inicial, conocido también como módulo Young (indica rigidez).

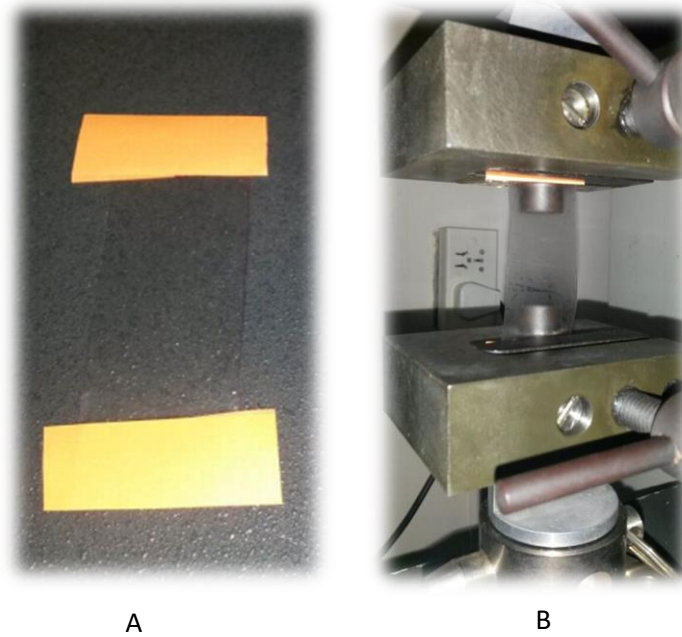


Figura 4.1: Fotografías de probeta de película de almidón (A) y película preparada para realizar el ensayo mecánico (B)

4.3.5.6 Permeabilidad al vapor de agua.

La permeabilidad al vapor de agua (P) de las películas se realizó mediante el método ASTM E96 (1995) con algunas modificaciones. Las muestras se colocaron en celdas de acrílico con una abertura circular de área conocida (Figura 4.2), las cuales contenían en su interior sílica gel (HR=0). Luego, las celdas se pesaron en una balanza analítica y se ubicaron en recipiente de cierre hermético en una atmósfera equilibrada con una solución saturada de cloruro de sodio (HR=75%). El ensayo se realizó a 25°C.



Figura 4.2: Celdas utilizadas para las determinaciones de permeabilidad al vapor de agua

La permeabilidad al vapor de agua a través de la película fue determinada por la ganancia de peso en la celda. Luego de alcanzar el estado estacionario se realizaron alrededor de 9 determinaciones del peso de la celda. Los cambios en el peso de la celda fueron registrados y graficados en función del tiempo. La permeabilidad al vapor de agua se calculó según la ecuación:

$$P = \frac{\left(\frac{\Delta w}{\Delta t}\right) x \delta}{Ax \Delta p}$$

Donde $\left(\frac{\Delta w}{\Delta t}\right)$ es la pendiente de la recta calculada mediante regresión lineal (velocidad de transferencia del vapor de agua), expresada en g/s; δ es el espesor de la película, expresado en m; A es el área expuesta (m^2) y Δp es la diferencia de presión parcial de vapor de agua a través de la película.

El pasaje de agua a través de la película se determinó mediante la velocidad de transmisión de vapor de agua (WVTR)

$$WVTR = \frac{Q}{A \cdot t}$$

Donde Q es la cantidad de permanente difundiendo a través de la película a través de un área A, en un tiempo t.

4.3.5.7 Propiedades ópticas.

Para la determinación de las propiedades ópticas de las películas se utilizó un espectrofotómetro UV/Vis; modelo UV: 2550, SHIMADZU (Tokyo, Japón), según el procedimiento de (GONTARD y col., 1992), y las recomendaciones de la norma ASTM D1003 (2011). Las muestras de película se cortaron en rectángulos y se colocaron en el interior de la celda del espectrofotómetro. Se registró el espectro de absorbancia entre 200 y 800 nm para cada muestra.

La opacidad de la película se definió como el área bajo la curva determinada por un procedimiento de integración (400-800 nm) y fue expresada en unidades de absorbancia en nanómetros (UA.nm). Del mismo modo, la capacidad de barrera contra los rayos UV, se estimó mediante el área bajo la curva entre 200-400 nm y fue expresada en UA.nm.

La transparencia de las películas se obtuvo mediante la medida de porcentaje de transmisión de luz (%T) a 560 nm (Chen y col., 2014). Un alto valor de transmitancia implicaría alta transparencia; por el contrario, un valor bajo significaría baja transparencia.

Las muestras previamente a la medición se acondicionaron durante 1 semana a 53% de HR y 25°C. Se realizaron 4 determinaciones por cada muestra.

4.3.5.8 Medida del ángulo de contacto

Las medidas de hidrofobicidad de la superficie y ángulo de contacto (θ) se realizaron mediante el método de gota sésil, utilizando un goniómetro (estándar de imagen DROP con goniómetro, modelo 200-00, Ramé -Hart Instrument Co, Succasunna, EE. UU.). La hidrofobicidad de la superficie se evaluó en experimentos de ángulo de contacto estático. Se lanzó una pequeña gota de agua sobre la superficie de la película, se reunieron imágenes digitales y la imagen producida por el software se utilizó para calcular el ángulo formado. Las mediciones del ángulo de contacto se realizaron en el momento inicial. Se tomaron seis lecturas en diferentes partes de cada película, se calculó el promedio de los valores del ángulo de contacto y la desviación estándar. Las mediciones se realizaron a temperatura ambiente.

4.3.5.9 Microscopia electrónica de Barrido (SEM)

Las imágenes de las películas se tomaron utilizando un microscopio electrónico JEOL JSM 6480 LV (Boston, EE. UU.). Las muestras se almacenaron previamente en ambiente con humedad relativa controlada (53%) durante una semana. Las películas fueron crio-fracturadas por inmersión en nitrógeno líquido, antes de la observación SEM. Las muestras de película fueron colocadas sobre cinta adhesiva doble faz y metalizadas con oro. Las imágenes se tomaron a una tensión de aceleración de 15 kV y una ampliación de 500X y 750X.

4.4 RESULTADOS Y DISCUSION

4.4.1 Obtención de películas

Se obtuvieron dispersiones de almidón de mandioca nativo con tres formulaciones, donde se varió la concentración de almidón, manteniendo fija la del plastificante. La de mayor concentración (6%) presentó dificultades en su manipulación. Su elevada viscosidad impidió una distribución uniforme en la placa resultando una película de espesor no constante. En la Figura 4.3 se puede apreciar la apariencia de las tres formulaciones ensayadas.

Las películas preparadas mediante el método de moldeo (casting) se obtuvieron volcando la dispersión sobre placas de acrílico, las que una vez secas fueron fácilmente removidas del molde de manera manual (Figura 4.4).

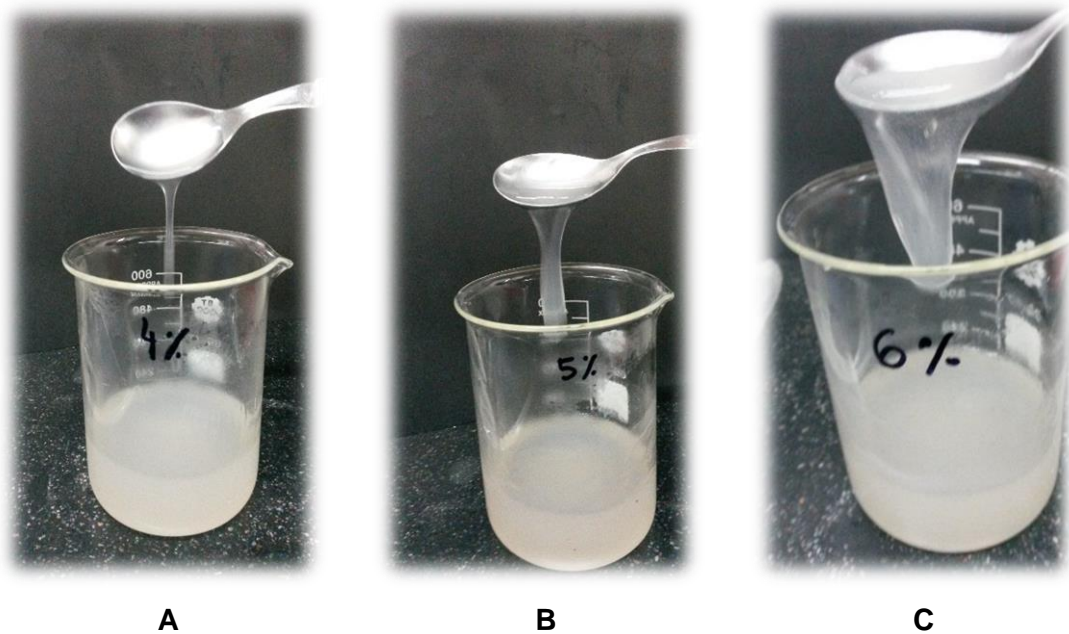


Figura 4.3: Dispersiones con diferentes concentraciones de almidón de mandioca nativo. A) 4%; b) 5% y C) 6%

Las formulaciones obtenidas al 4 y 5 % de almidón permitieron obtener películas de espesores uniformes y de fácil desmolde, presentando una buena relación entre el espesor obtenido y volumen agregado sobre la placa. Además, las películas fueron flexibles, transparentes y de fácil manipulación. Este ensayo permitió decidir que las películas de menor concentración de almidón (4%) serían las seleccionadas para continuar con el trabajo, considerando sus buenas características para la manipulación y teniendo en cuenta referencias bibliográficas. Con el agregado de 88 g de la suspensión en los moldes utilizados, las películas del 4% presentaron espesores de aproximadamente 100 μm .

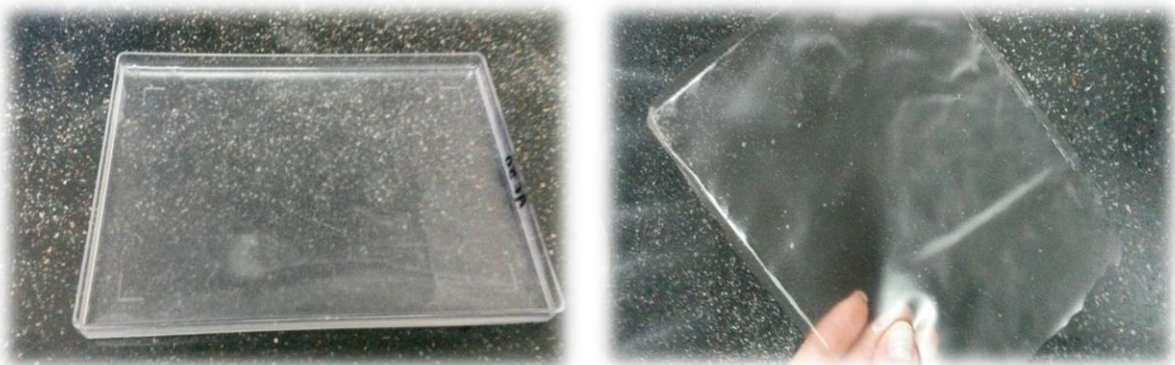


Figura 4.4: A) Dispersión de almidón sobre placa de acrílico. B) Película desmoldada. Almidón de mandioca nativo (4%)

El rango de concentración de almidón estudiado se relaciona con ensayos de otros autores, quienes obtuvieron películas tanto de almidón de mandioca como de otras fuentes de almidón (López y col., 2008, 2010, 2011; Famá y col., 2007).

Las películas de almidón acetilado se obtuvieron mediante la misma metodología descrita anteriormente. Con el almidón acetilado de grado de sustitución igual a 1,28 no fue factible obtener una película homogénea, ya que, resultaron ser muy quebradizas y una cierta cantidad de almidón no pudo dispersarse totalmente, como se observa en la Figura 4.5. Esto impidió la obtención de películas con este grado de sustitución y superiores.

No obstante, los almidones acetilados con GS menores a 1,28 permitieron obtener películas uniformes. Los resultados se presentan a continuación en el presente capítulo.



Figura 4.5: Película obtenida con almidón acetilado GS igual a 1,28

4.4.2 Propiedades mecánicas:

4.4.2.1 Películas de almidón nativo

Se evaluó el efecto de la concentración de glicerol sobre las propiedades mecánicas de las películas de almidón para poder determinar el requerimiento apropiado del plastificante. A las formulaciones con 4% p/p de almidón (conteniendo un 11% de humedad) se agregó glicerol, cuya concentración se varió de 0 a 50% en relación al peso del polímero (g de glicerol/100 g de almidón). Los valores de tensión de ruptura, deformación máxima y módulo de Young se presentan en la siguiente tabla (Tabla 4.1):

Tabla 4.1. Tensión a la ruptura (σ_r), deformación máxima a la ruptura (ϵ_{max}) y módulo elástico (E) de las películas de almidón nativo con diferentes concentraciones de glicerol (0 a 50%)

Contenido de Glicerol (%)	Esfuerzo máx (Mpa)	% Elongación max	Módulo de Young (Mpa)
0	38,91 ± 2,50a	3,02 ± 0,31a	21,92 ± 1,94 a
10	33,54 ± 2,03b	3,09 ± 0,92a	14,61 ± 1,43 b
20	26,10 ± 2,26c	3,68 ± 0,32a	10,46 ± 1,54 c
30	7,70 ± 0,58d	21,25 ± 3,89 b	3,28 ± 0,70 d
40	3,49 ± 0,28e	26,01 ± 2,58 b	0,98 ± 0,17 e
50	1,57 ± 0,20f	25,73 ± 4,62 b	0,43 ± 0,05 f

*Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

En las curvas de tensión-deformación de las películas (Figura 4.6) se puede observar claramente la diferencia entre las películas sin plastificar y a bajos contenidos de plastificante, las cuales se comportan como materiales rígidos y frágiles, en cambio, las de mayores concentraciones de glicerol presentan características de materiales plásticos con buena elongación.

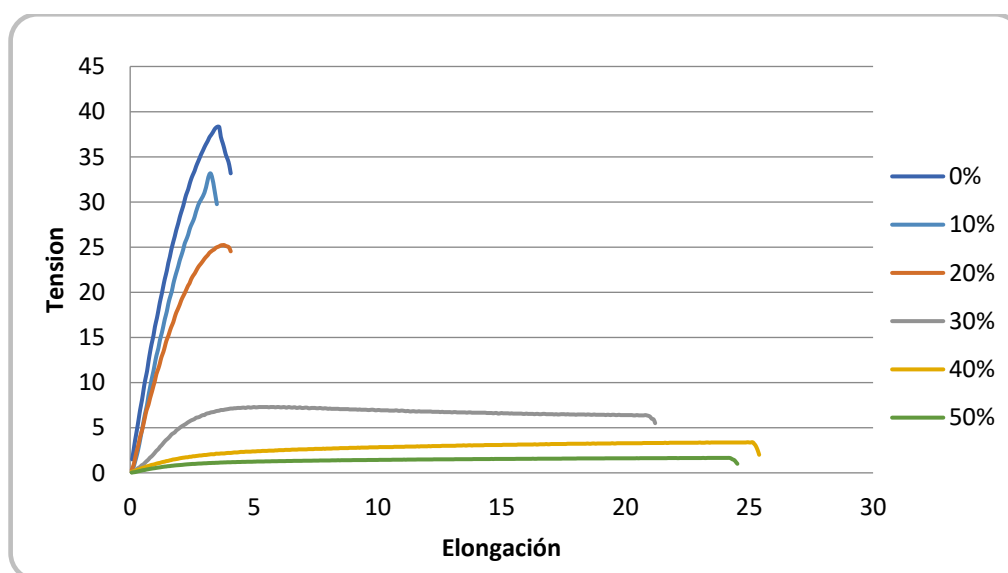


Figura 4.6: Perfiles mecánicos de películas de almidón nativo con diferentes concentraciones de glicerol

Las películas sin plastificante presentan altos valores de tensión de ruptura y módulo elástico y bajos valores de deformación. Al agregar glicerol, la tensión de ruptura disminuyó

significativamente ($p < 0,05$) desde $38,91 \pm 2,50$ MPa para películas sin plastificar hasta $1,57 \pm 0,20$ MPa para las que contienen 50% de glicerol. Con respecto a la elongación, se observó un aumento de este parámetro con la incorporación del glicerol, desde $3,02 \pm 0,31$ % para películas sin plastificar hasta $25,73 \pm 4,62$ % para las que contienen 50% de glicerol. En las películas que contienen 10 y 20% de glicerol su deformación no se incrementó significativamente ($p > 0,05$) respecto a las películas sin plastificar. Por el contrario, las películas que contienen a partir de 30% de glicerol presentaron una buena elongación, sin cambios significativos entre sí ($p > 0,05$).

Resultados similares a los obtenidos en la presente tesis fueron reportados por Mali y colaboradores (2006) quienes trabajaron con diferentes tipos de almidones (maíz, mandioca y batata) y observaron que los parámetros mecánicos de las películas se vieron afectados por el contenido de glicerol (el esfuerzo y el módulo de Young's disminuyeron y la elongación aumentó con el agregado de glicerol en todas las películas).

Una explicación sobre la interacción del plastificante, es propuesta por Yang y Paulson (2000), donde sugieren que los grupos polares de las cadenas de los plastificantes desarrollan enlaces de hidrógeno polímero-plastificante que reemplazan las interacciones polímero-polímero en la película, por lo que la adición de plastificante conduce a una disminución de las fuerzas intermoleculares a lo largo de las cadenas poliméricas, provocando una mejora en la flexibilidad de las mismas. Asimismo, Santacruz y colaboradores (2015) sugieren que la efectividad del glicerol para reducir la resistencia a la tracción probablemente se deba a su pequeño tamaño y al mayor número de grupos hidroxilo a la misma concentración. La naturaleza hidrofílica del glicerol atrae agua a la matriz polimérica, por lo que aumenta el nivel efectivo total de plastificante. El agua en la película plastificada con glicerol no solo interactúa directamente con los grupos hidroxilo del polímero sino que también se posiciona entre el polímero y las moléculas del plastificante, por lo que aumenta la distancia espacial entre las cadenas de polímero y, como resultado, la resistencia a la tracción disminuye.

En la figura 4.7 se observa claramente un marcado cambio en el comportamiento de las propiedades mecánicas cuando el contenido de glicerol aumentó de 20 a 30% ($p < 0,05$). La tensión de ruptura disminuyó rápidamente de $26,10 \pm 2,26$ a $7,70 \pm 0,58$ MPa y la elongación aumentó de $3,68 \pm 0,32$ a $21,25 \pm 3,89$ %.

En el rango ensayado de contenido de glicerol se observaron dos comportamientos distintos en las películas, para valores menores del 20% la tensión de ruptura presenta valores altos de esfuerzo de ruptura y a partir de 30% los valores de tensión de ruptura disminuyendo significativamente. Este mismo comportamiento fue observado en almidón de papa, pero en un rango más estrecho de glicerol entre 12 y 17% (Lourdin y col., 1996).

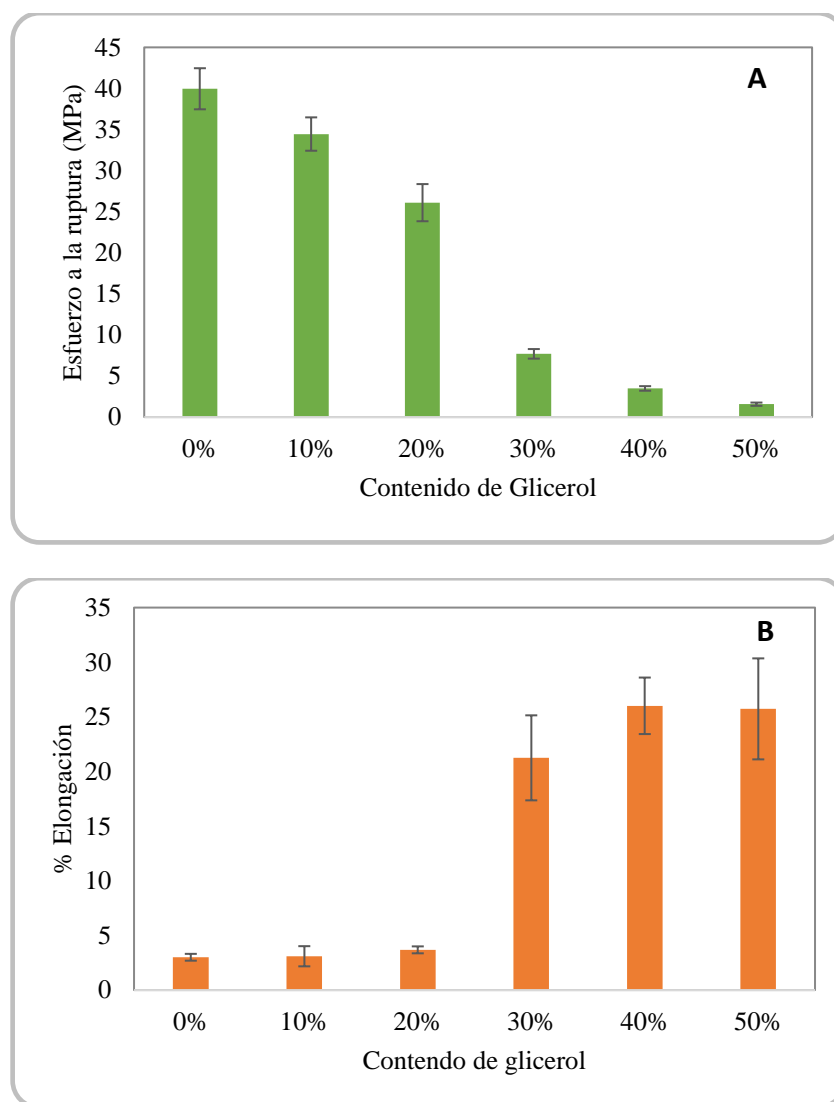


Figura 4.7: Influencia del contenido de glicerol sobre las propiedades mecánicas de almidón de mandioca. A) Esfuerzo máximo de ruptura y B) %Elongación.

Varios autores han informado que el glicerol puede ejercer diferentes efectos sobre las propiedades físicas de las películas dependiendo de su concentración. Godbillot y colaboradores (2006) informaron que el 20% de glicerol parece ser la cantidad máxima que puede actuar como plastificante con un efecto significativo en películas de almidón de trigo, ya que por encima de este porcentaje, se produce una separación de fases y la cantidad de agua adsorbida aumenta en la fase rica en glicerol y no en la fase rica de almidón. Myllärinen y colaboradores (2002) encontraron este mismo efecto en películas de amilosa de almidón de papa, con una concentración de glicerol alrededor del 20%.

Rodriguez-Gonzalez y colaboradores (2004) encontraron en almidón de trigo un efecto de inversión de fases cuando el contenido de glicerol es de alrededor del 30%, donde la matriz

elástica blanda (rica en glicerol) predomina sobre la matriz elástica dura (rica en almidón) y las propiedades viscoelásticas de las películas pasan a ser dominadas por la matriz blanda, la cual contiene mayor proporción de glicerol.

También han encontrado un efecto similar en películas de almidón de alta amilosa-quitosano (Liu y col., 2013), en películas de proteína de trigo utilizando sorbitol como plastificante (Aguirre y col., 2013) y en películas de almidón de mandioca enriquecidas con amilosa (Alves y col., 2007).

Según, Godbillot y colaboradores (2006) el efecto del plastificante, además, depende de la humedad relativa de equilibrio. La saturación de los sitios del almidón corresponde a la combinación de enlaces H del almidón con agua por un lado, y con agua y glicerol por el otro. Por lo tanto, cuando mayor es la concentración del glicerol, la cantidad de agua ligada al almidón disminuye. Por el contrario, la saturación de los sitios de almidón con glicerol ocurre con una baja concentración de glicerol cuando la humedad de equilibrio es alta.

Por lo tanto, se puede considerar que existe un contenido crítico de glicerol que marca el punto de inversión de fase en las películas plastificadas. Esto podría explicar el cambio brusco observado en las propiedades mecánicas de las películas cuando la concentración del glicerol pasó del 20 al 30%.

4.4.2.2 Películas de almidón acetilado.

Efecto del glicerol.

Se obtuvieron películas a partir de los almidones acetilados sintetizados en el capítulo 3 de la presente tesis. En estos ensayos se utilizaron AA con GS 0,04 y 0,22. Se evaluó el efecto contenido de glicerol sobre las propiedades mecánicas de las películas a los dos GS mencionados. La concentración de glicerol evaluada fue entre el 10 y 40% p/p. En la Figura 4.8 se muestran los resultados de esfuerzo de ruptura y en la Figura 4.9 el % de elongación.

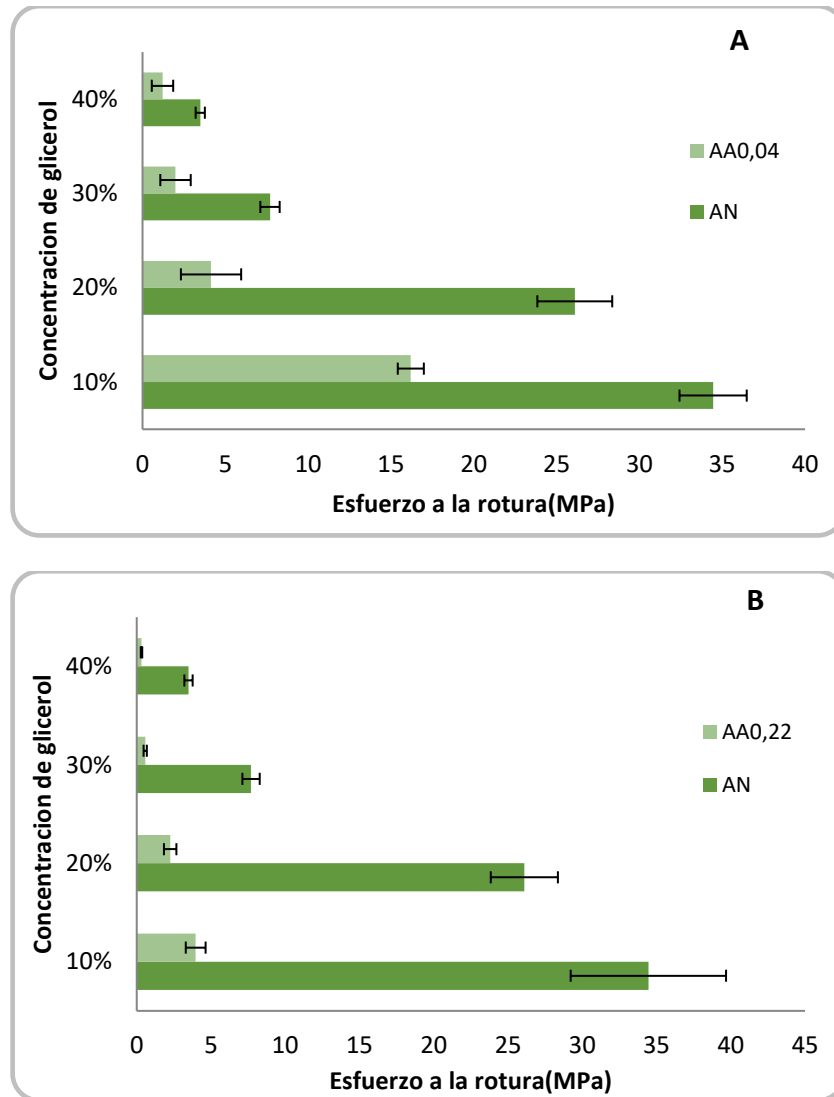


Figura 4.8: Influencia del contenido de glicerol sobre la tensión a la ruptura (σ) de películas de almidón Nativo y acetilado A) GS=0,04 y B) GS=0,22

Con respecto al Esfuerzo de ruptura, se observa una disminución de este parámetro tanto, al aumentar el contenido de glicerol como así también, al incrementarse el GS de los almidones acetilados. Las películas de AA con GS 0,04 presentan un rango de esfuerzo de ruptura entre 1 y 16 MPa, y las películas con GS 0,22 valores comprendidos entre 0,5 y 4 MPa, siendo estos valores significativamente inferiores a los correspondientes a las películas de almidón nativo ($p < 0,05$).

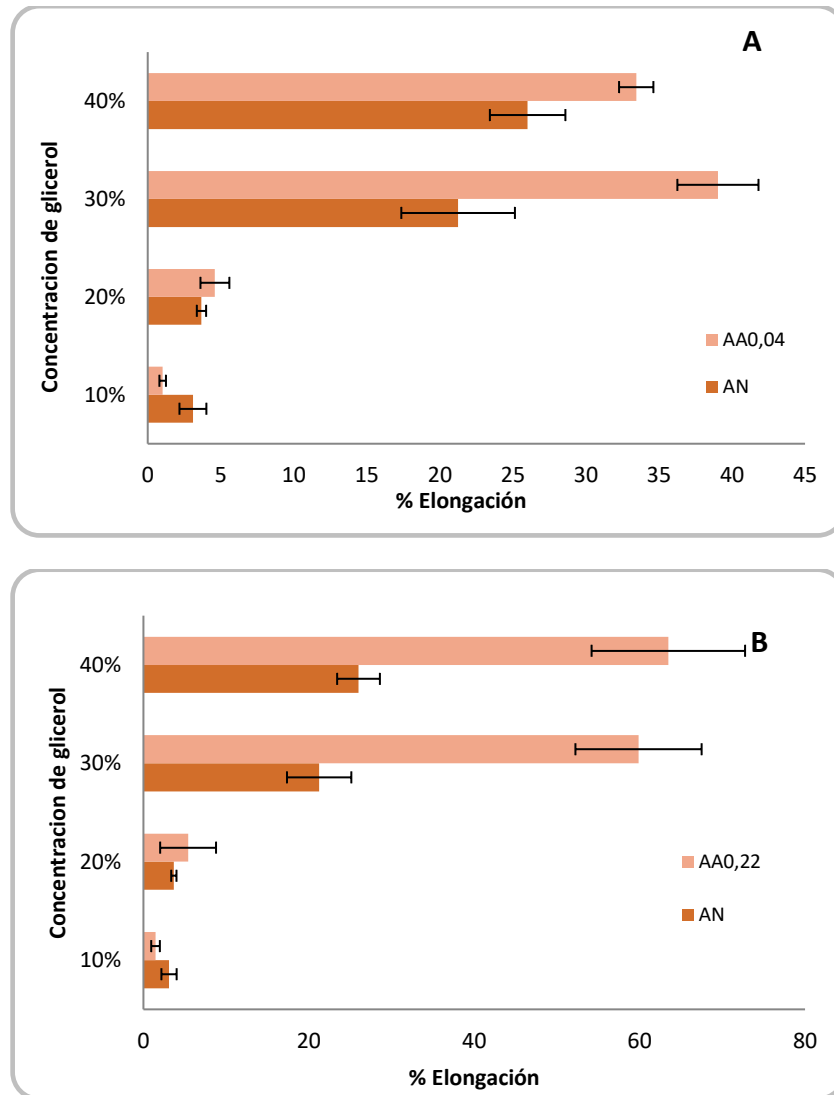


Figura 4.9: Influencia del contenido de glicerol sobre la elongación de películas de almidón Nativo y acetilado A) GS=0,04 y B) GS=0,22

El grado de sustitución también provocó un aumento en la elongación de las películas. Este aumento fue significativo, respecto al almidón nativo en aquellas películas que contienen 30 y 40% de glicerol para los dos GS. Todas las películas presentaron un aumento brusco en este parámetro cuando se incrementó el contenido de glicerol entre 20 y 30%. Es decir, que para estos almidones acetilados también se observa una zona crítica, donde se presentan cambios notables en la elongación de las películas, volviéndose más plásticas. Resultados similares fueron reportados por (Bonacucina y col., 2006).

4.4.2.3 Películas obtenidas con mezclas de AA/AN.

Efecto del glicerol.

Se evaluó el efecto de mezclas al 50% de almidón nativo con almidón acetilado (GS igual 0,04 y 0,22) en la formación y propiedades de las películas. Los resultados se muestran en las Figuras 4.10 y 4.11.

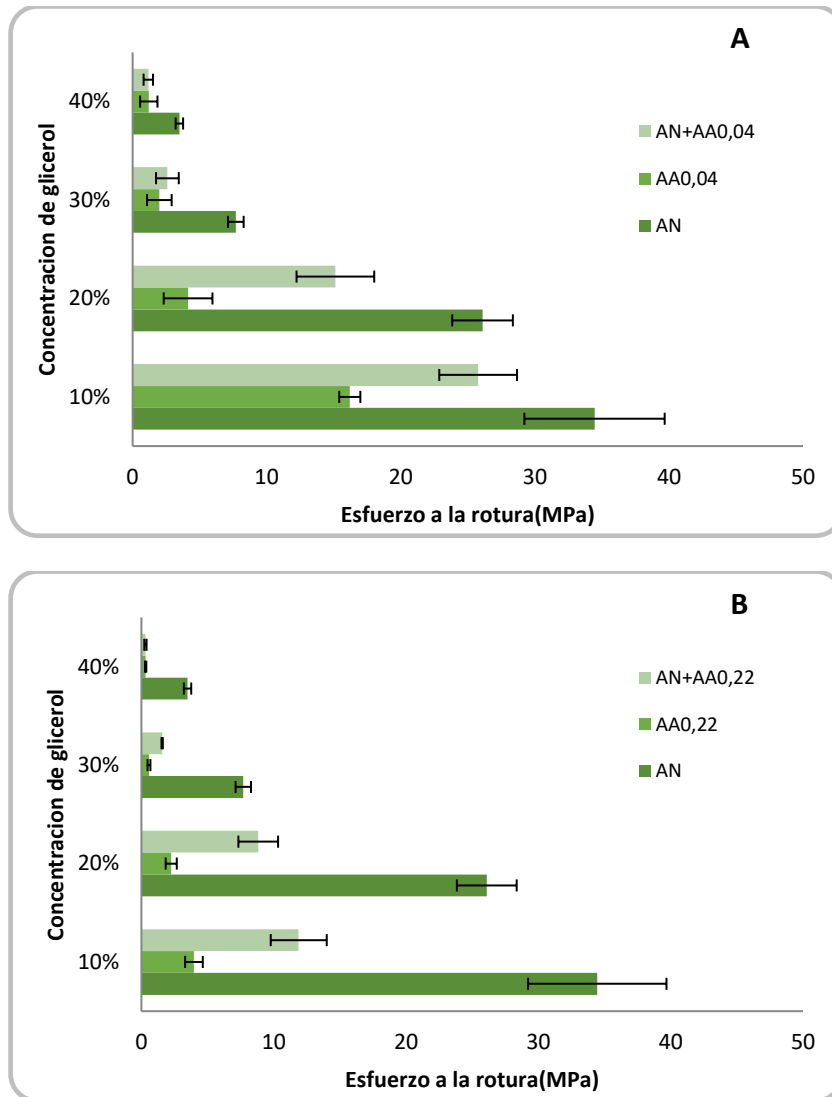


Figura 4.10: Influencia del contenido de glicerol sobre la tensión a la ruptura (σ) de películas de AN, AA y mezclas de AN/AA. A) GS=0,04 y B) GS=0,22

En estas películas se observó que la tensión de ruptura se encuentra en un valor medio a los encontrados en las películas puras de cada almidón. En cambio, con respecto a la elongación, para las muestra AA0,22 la película con mezcla presenta una elongación que duplica la de la película con AA conteniendo 30 y 40 % de glicerol.

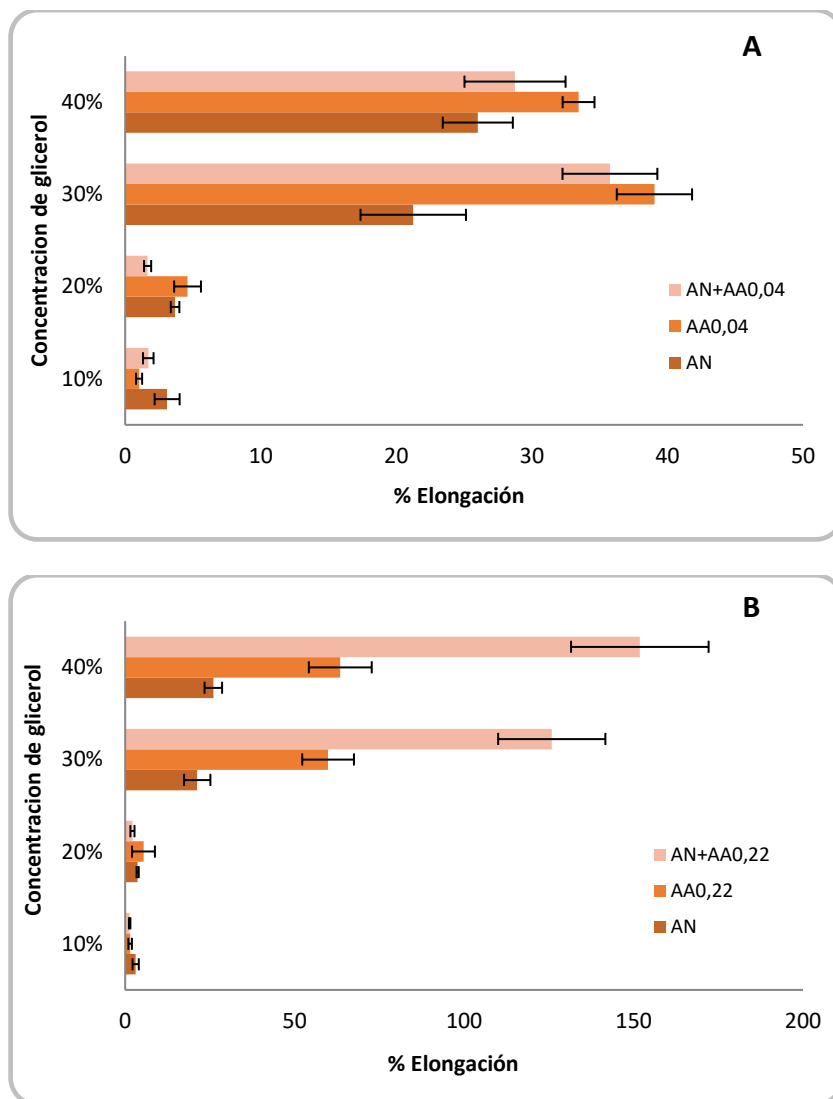


Figura 4.11: Influencia del contenido de glicerol sobre la elongación de películas de AN, AA y mezclas de AN/AA. A) GS=0,04 y B) GS=0,22

Además de los resultados expuestos, se observó que las películas al 10% de plastificante fueron muy quebradizas y difíciles de manipular, y las obtenidas con 40% de glicerol, fueron muy flexibles volviéndose muy pegajosas, lo cual también dificultó su manipulación.

4.4.3 Efecto del grado de sustitución.

Se evaluó el efecto del GS sobre las propiedades mecánicas de películas de almidones acetilados con GS igual a 0,04; 0,11; 0,22; 0,72 y 1,04. En estos ensayos se utilizaron concentraciones de glicerol del 20 y 30%, que representan los límites de la zona crítica discutidos en los resultados presentados anteriormente.

A medida que aumenta el grado de sustitución de los AA, disminuye la tensión máxima de ruptura para ambas concentraciones de plastificante (Figura 4.12). Esto indica que las películas de AA son significativamente menos tenaces que las de AN ($p < 0,05$) para las dos concentraciones de glicerol ensayadas. Sin embargo, las películas que contienen 20% de glicerol resultaron significativamente más tenaces respecto a las de 30% ($p < 0,05$) para todos los GS.

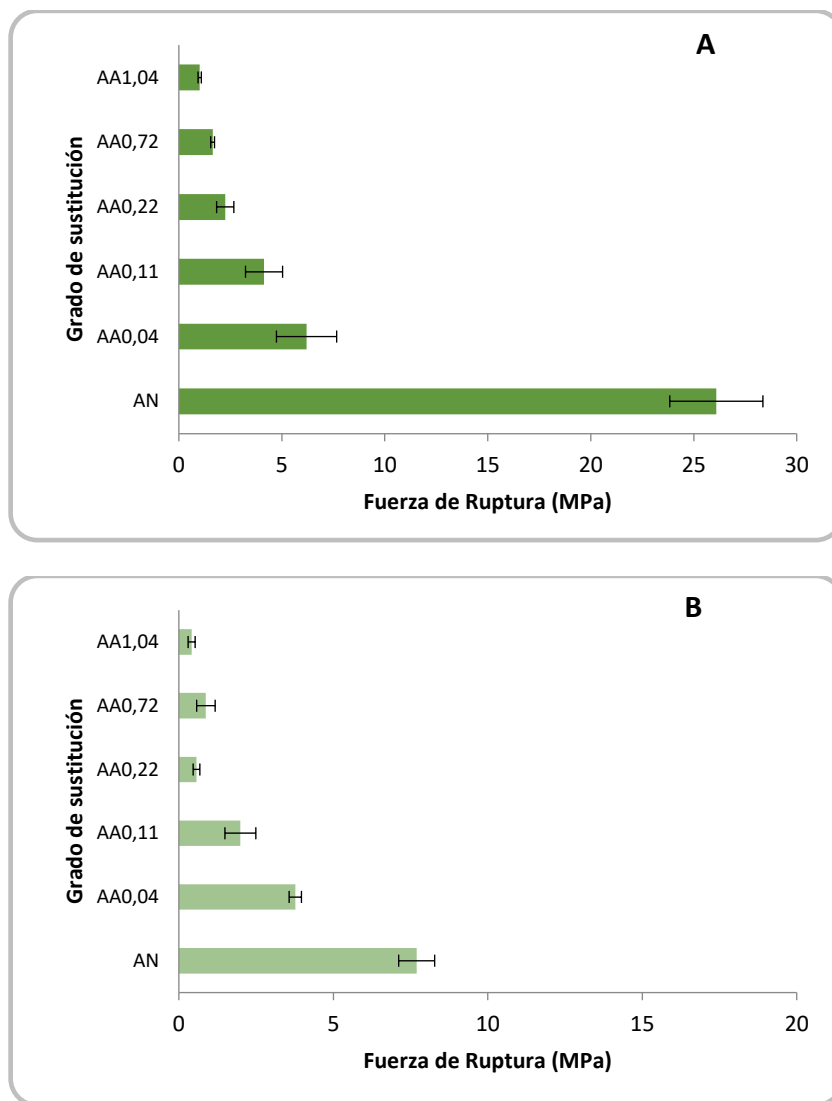


Figura 4.12: Efecto del grado de sustitución en la fuerza de ruptura de películas de almidón acetilado. A)20% glicerol y B)30% glicerol

Con respecto a la elongación (Figura 4.13), no presentan diferencias significativas ($p > 0,05$) las películas de AA con 20 % de glicerol. En cambio, si hubo una tendencia a un incremento en este parámetro en las películas con 30% de glicerol hasta un GS igual a 0,22, llegando a un máximo para este valor y luego, hubo una disminución en este parámetro para GS más elevados. Para esta concentración de plastificante, las películas de AA fueron más

plásticas respecto al almidón nativo ($p < 0,05$). Se observa que las películas AA0,22 presentaron mejor comportamiento a la elongación.

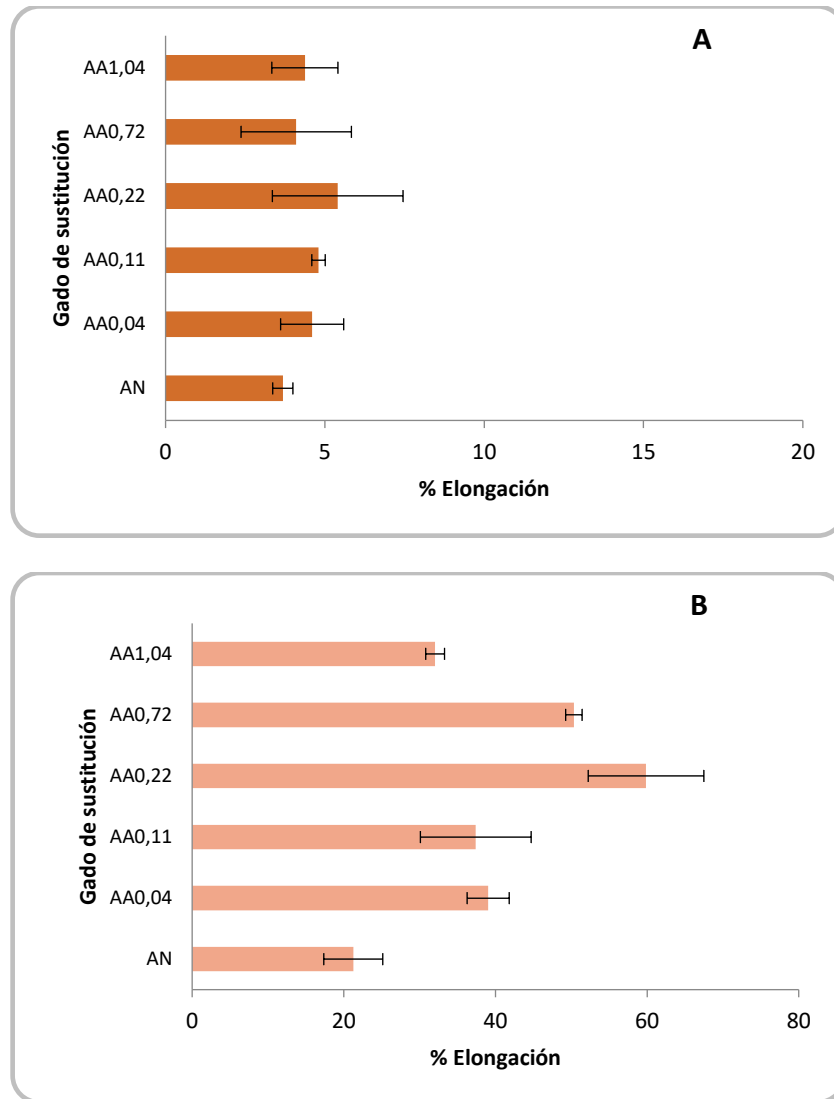


Figura 4.13: Efecto del grado de sustitución el % de Elongación en películas de almidón acetilado. A)20% glicerol y B)30% glicerol

4.4.4 Contenido de humedad de las películas

Las películas con 30% de glicerol presentaron mayor contenido de humedad respecto a las de 20%, como era de esperar, debido al carácter hidrofílico del plastificante (Figura 4.14). Además, se observó la influencia del grado de sustitución en el contenido de humedad de las películas. Al incrementarse el GS el contenido de humedad también aumentó hasta un valor de GS igual a 0,22 para las películas que contienen un 30% de glicerol y luego disminuyó para los GS más elevados. Esta disminución del contenido de humedad podría explicarse considerando el reemplazo de los grupos OH por grupos acetilos que ocurre durante la

acetilación. Como se mencionó en el capítulo 3, a mayor GS, mayor proporción de grupos acetilos son incorporados a la molécula del biopolímero, lo cual provoca una menor afinidad con la molécula de agua, disminuyendo así el contenido de humedad.

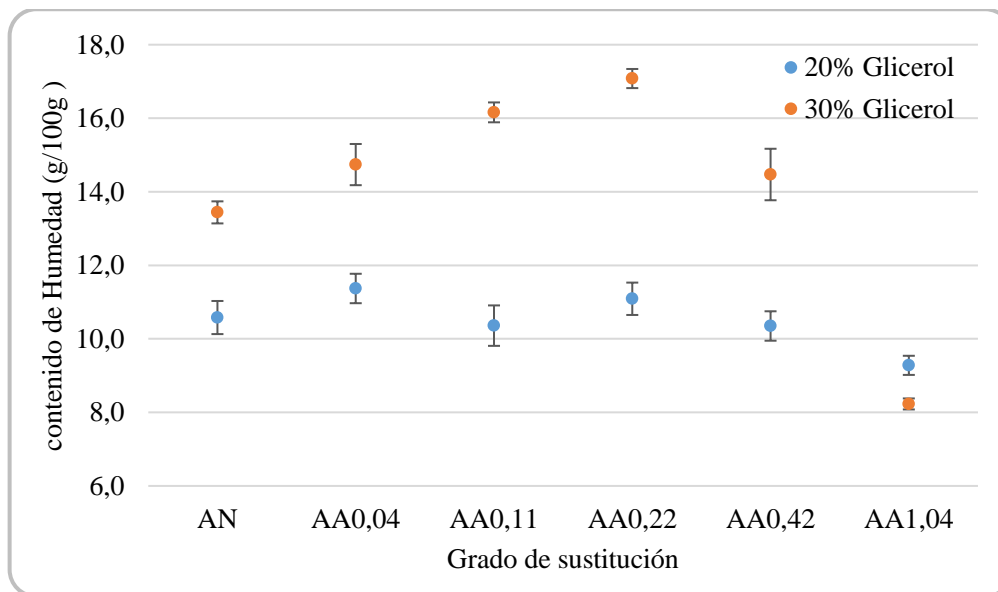


Figura 4.14: Contenido de humedad de las películas de AN y AA con diferentes GS

4.4.5 Solubilidad en agua

4.4.5.1 Efecto del contenido de glicerol

En la Figura 4.15 se presentan los resultados de la solubilidad de películas biopoliméricas obtenidas con AN y AA con GS0,22 en función del contenido de glicerol. Los resultados muestran que a mayor contenido de glicerol, aumenta la solubilidad en agua de las películas. Este efecto se observó tanto en películas de AN como así también en las de AA.

Teniendo en cuenta que el glicerol es un polialcohol, es totalmente esperable que el material con mayor contenido de glicerol sea más soluble en agua. Cuanto mayor es la cantidad de hidroxilos presentes en la película más enlaces por puente de hidrógeno pueden unirse a las moléculas de agua. Este ensayo también se realizó para películas de AA GS0,04 y GS0,11, y se observó un comportamiento similar.

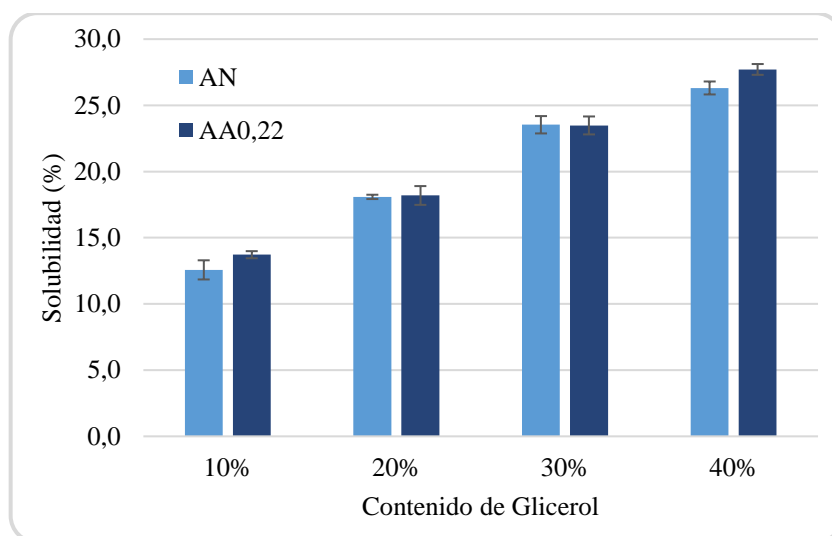


Figura 4.15: Solubilidad de películas de almidón nativo y almidones acetilados con GS 0,22 en función del contenido de glicerol

Fakhoury y colaboradores (2012) encontraron un efecto similar. Una mayor solubilidad implica una menor resistencia al agua, resultando una ventaja para algunas aplicaciones, por ejemplo, cuando las películas se consumirán con un producto que se calienta antes del consumo y también puede ser un factor importante que determina la biodegradabilidad de las películas cuando se utilizan como envoltura de embalaje (Bourtoom y Chinnan, 2008).

Además, se analizó el efecto de mezclas con 50% de AN y AA (GS 0,04 y 0,11), pero no hubo efecto en los valores de solubilidad para los cuatro niveles de glicerol ensayados. Los datos obtenidos se detallan en el ANEXO VI.

4.4.5.2 Efecto del Grado de Sustitución

Los resultados demostraron que la solubilidad en agua de las películas de AN y AA hasta un GS 0,43 no presentaron diferencias significativas entre ellas ($p < 0,05$), como se observa en la Figura 3.18.

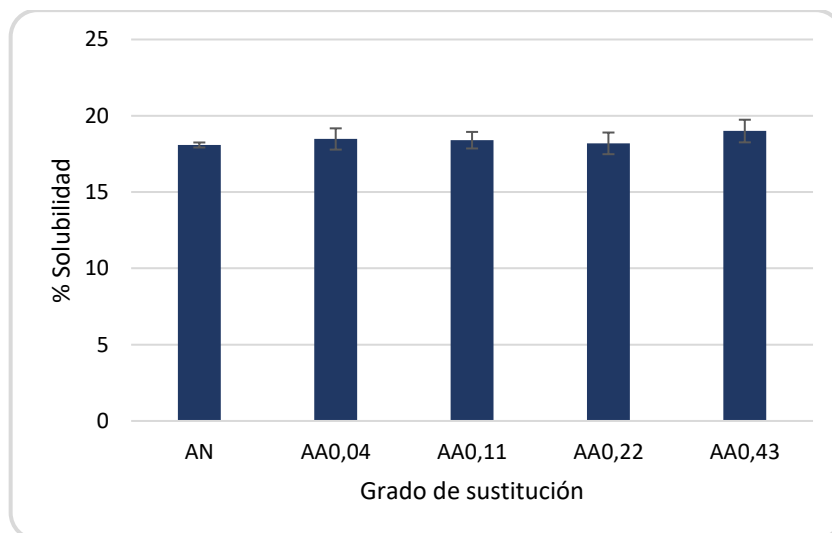


Figura 4.16: Solubilidad de películas de AN y AA con diferentes GS

En el capítulo 2, sección 3.4.2.3, se observó que el GS tuvo influencia significativa en la solubilidad en agua de los almidones, en cambio, en las películas obtenidas con los distintos GS, no se observaron diferencias significativas. Esto, probablemente puede deberse a que la presencia del plastificante incorporado en las matrices poliméricas, por su poder hidrofílico, influye de manera controlante en la solubilidad.

4.4.6 Isotermas de sorción

En general, todas las isotermas de adsorción de humedad de las películas de almidón de mandioca presentaron un leve aumento de la humedad de equilibrio respecto a la actividad acuosa hasta $a_w \approx 0,8$ y luego un incremento exponencial para a_w cercano a 1. La forma sigmoideal de las curvas corresponden a isotermas del tipo II, según la clasificación de S. Brunauer.

4.4.6.1 Efecto del GS en la humedad de equilibrio

Los valores experimentales ajustaron al modelo matemático propuesto por GAB y los parámetros del ajuste se presentan en la Tabla 4.2. En la Figura 4.17 se muestran los valores experimentales (símbolos) del contenido de humedad y el ajuste al modelo matemático (líneas continuas). Las curvas presentan una ligera pendiente a valores bajos de a_w , pero toman un curso exponencial en humedades relativas altas (por encima de 0,60). Las curvas de AN, AA0,04 y AA0,11 se superponen en todo el rango de a_w . Las películas con mayor GS, correspondiente a AA0,17 y AA0,42 presentaron mayores contenidos de humedad en todo el rango de a_w respecto a las películas mencionadas anteriormente. Esto indicaría que las

películas de almidón acetilado con mayor GS adsorben más agua que las películas de menor GS. Por otra parte, los valores correspondientes a las películas con GS 1,04 no pudieron ajustarse al modelo de GAB.

Tabla 4.2: Isotermas de sorción (25°C) de películas obtenidas a partir de almidón de mandioca nativo (AN) y acetilado (AA) con 20% de glicerol

Composición de las Películas	Xm	c	k	R ²
AN	0,0536	3,4123	0,9785	99,65
AA0,04	0,0623	1,6135	0,9597	99,70
AA0,11	0,0664	1,4918	0,9439	99,05
AA0,17	0,0639	3,0608	0,9985	99,47
AA0,42	0,0631	7,7657	0,9746	99,83

Las películas de AN presentaron el valor más bajo de monocapa ($X_m = 0,0536$ g de agua / g de sólidos), mientras que el valor más alto de monocapa ($X_m = 0,0664$ g de agua / g de sólidos) se observó para la película AA0,11. El valor de la monocapa indica la cantidad máxima de agua que puede ser adsorbida en una sola capa por gramo de película seca y es una medida del número de sitios de absorción (Strauss y col., 1991). Estos sitios no se encuentran disponibles para los microorganismos, es por eso, que este parámetro puede usarse como el contenido óptimo de humedad para un almacenamiento seguro, en el que el material tiene la máxima estabilidad (Teodoro y col., 2015).

El parámetro C, del modelo de GAB, está relacionado con la entalpía libre de una molécula de líquido y sorbato que se produce en la segunda y posteriores capas de adsorción (Teodoro y col., 2015). En las películas de bajo GS (0,04; 0,11 y 0,17) se observó una disminución de este parámetro con respecto a la película de AN y un efecto contrario en las películas con GS igual a 0,43. Por otro lado, el parámetro k, que es independiente de la composición de la película (Teodoro y col., 2015), no parece estar afectado por el GS.

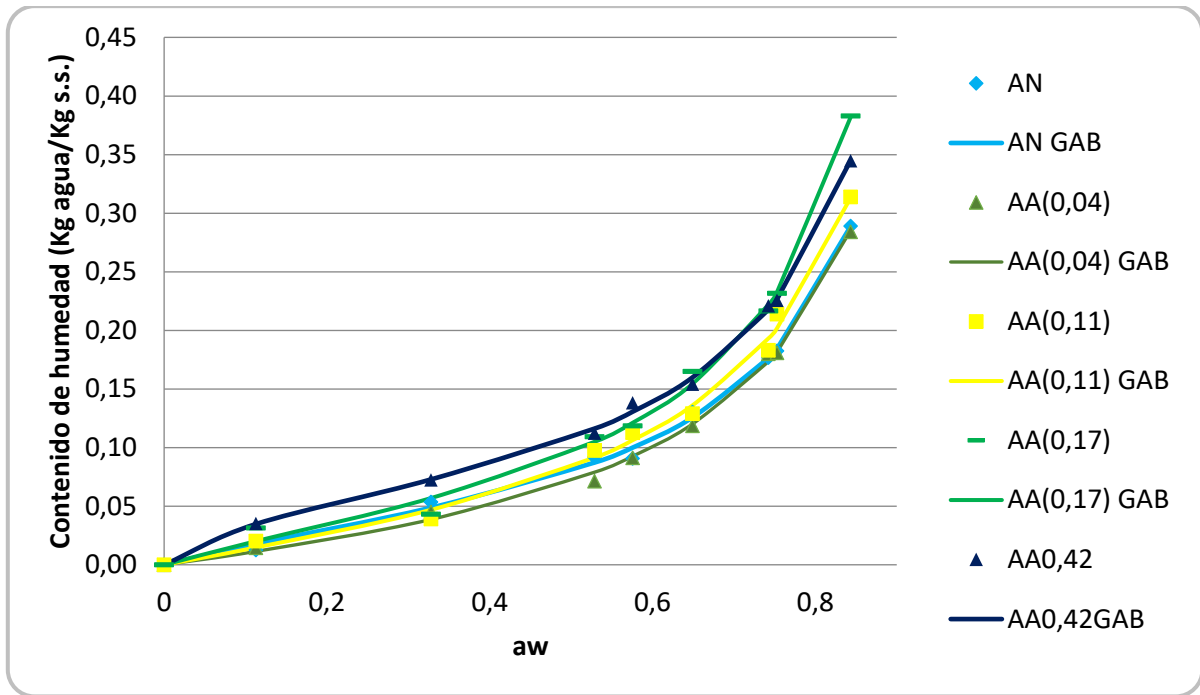


Figura 4.17: Isotermas de sorción (25°C) de películas obtenidas a partir de almidón de mandioca nativo (AN) y acetilados (AA) con distintos y 20% de glicerol

Los valores de los parámetros de GAB encontrados en el estudio de la presente tesis, concuerdan con los reportados por otros autores que trabajaron en condiciones similares con películas de almidón de mandioca (Mali y col., 2005; Muller y col., 2008), de maíz (Slavutsky y col. 2012), de avena (Galdeano y col., 2009).

4.4.6.2 Efecto del glicerol

El contenido de humedad de equilibrio de las películas con mayor contenido de glicerol fue significativamente mayor. En la Figura 4.18, se presenta el efecto de dos concentraciones de glicerol (20 y 30 g de plastificante / 100 g de almidón) en películas de almidón acetilado con grado de GS igual a 0,11.

Los valores de la humedad de la monocapa corresponden a 0,066 versus 0,078 g de agua / g de sólidos (Tabla 4.3). Los niveles más altos de plastificante aumentaron la afinidad de las películas con el agua y estos resultados pueden atribuirse a la hidrofiliidad de los plastificantes.

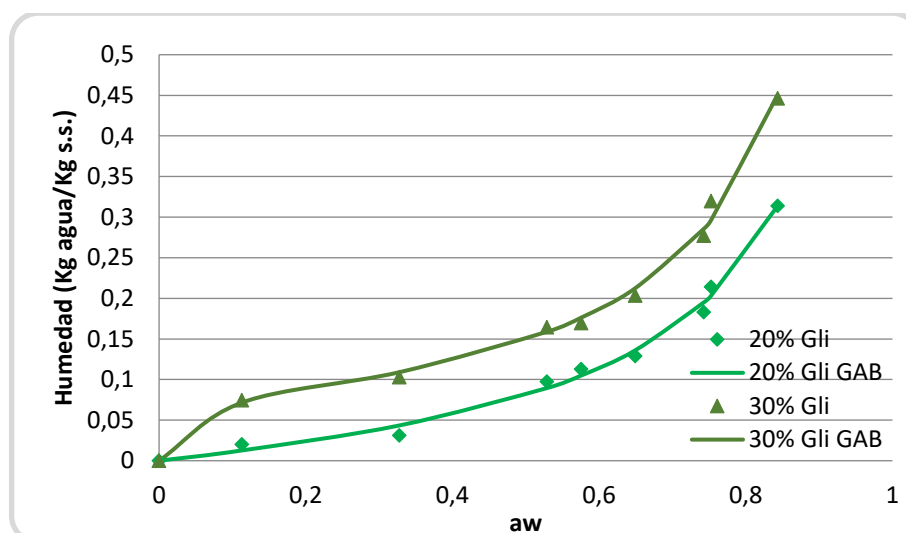


Figura 4.18: Isothermas de adsorción de películas de almidón acetilado (GS=0,11) con diferentes contenidos de glicerol (20 y 30%)

Tabla 4.3: Parámetros de isothermas de sorción (25°C) de películas obtenidas a partir de almidón de mandioca acetilado con GS 0,11 con diferentes concentraciones de glicerol

Composición de las Películas	Xm	c	k	R ²
AA0,11 - 20%Gli	0,0664	2,0499	0,9606	99,28
AA0,11 - 30%Gli	0,0785	34,3563	0,9801	99,23

Galdeano y colaboradores (2009) estudiaron el efecto de diferentes tipos de plastificantes en películas de almidón de avena. Encontraron que las películas con urea presentaron los valores más bajos para la monocapa (0,033 g de agua / g de sólidos). El valor más alto de la monocapa (0,057 g de agua / g de sólidos) se observó cuando se incorporó glicerol. Los autores concluyeron que como el glicerol es una molécula pequeña con alta afinidad por el agua, actúa como un plastificante más eficaz que los otros polioles, tales como sorbitol y sacarosa.

4.4.7 Propiedades ópticas

Las películas obtenidas de almidón de mandioca nativo con 20% de glicerol son transparentes, como se observa en la Figura 4.19. El valor medido de la transparencia de esta película es igual $61,86 \pm 1,42$.

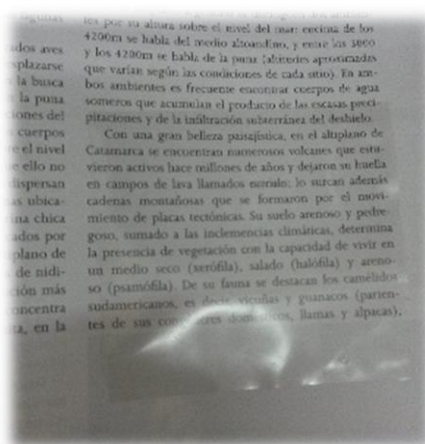


Figura 4.19: Película de almidón nativo de mandioca con 20% glicerol

4.4.7.1 Efecto del glicerol

En la Tabla 4.4 se presentan los valores de las medidas de opacidad, barrera a UV y transparencia de películas de almidón de mandioca nativo y acetilado (GS 0,17) con diferentes concentraciones de glicerol. En las Figuras 4.20 y 4.21 se presentan los espectros de absorbancia entre 200 y 800 nm para las mismas. Los resultados indican que la incorporación de glicerol provoca una ligera disminución de la opacidad, disminución de la barrera UV y por ende, un aumento en la transparencia.

Tabla 4.4. Propiedades ópticas de películas de almidón nativo y almidón acetilado (GS=0,10) con diferentes concentraciones de glicerol

Composición de las Películas	Opacidad	UV	Transparencia
AN Gli20%	83,14 ± 1,88a	75,35 ± 1,63a	61,86 ± 1,42a
AN Gli30%	80,62 ± 1,47a	75,38 ± 0,42a	60,79 ± 1,60a
AA0,17 Gli10%	56,96 ± 1,57b	70,50 ± 1,43b	73,80 ± 1,46b
AA0,17 Gli20%	53,98 ± 1,56b	68,55 ± 0,84b	74,47 ± 1,04b
AA0,17 Gli30%	46,71 ± 1,03c	55,96 ± 0,88c	76,52 ± 0,39c
AA0,17 Gli40%	33,95 ± 1,85d	42,76 ± 1,04d	81,73 ± 1,85d

*Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

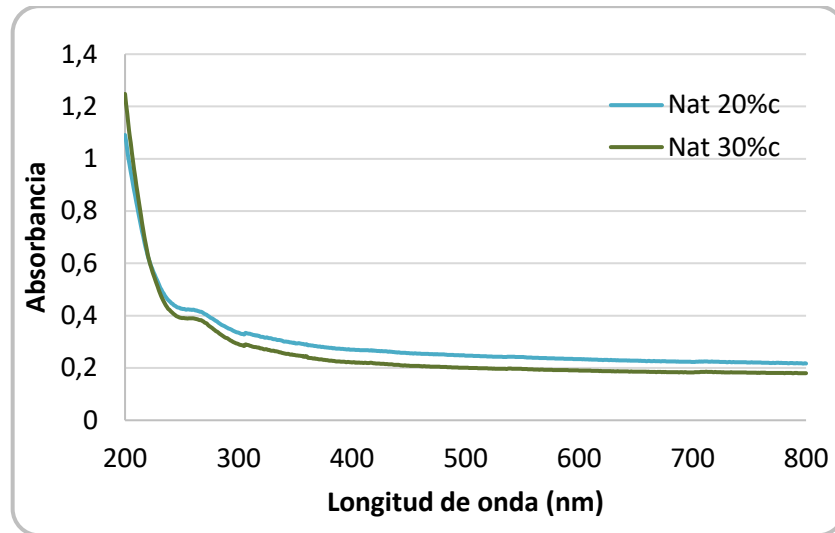


Figura 4.20: Espectro de absorción de luz UV-Visible de almidón nativo con diferentes concentraciones de glicerol (20 y 30% de glicerol)

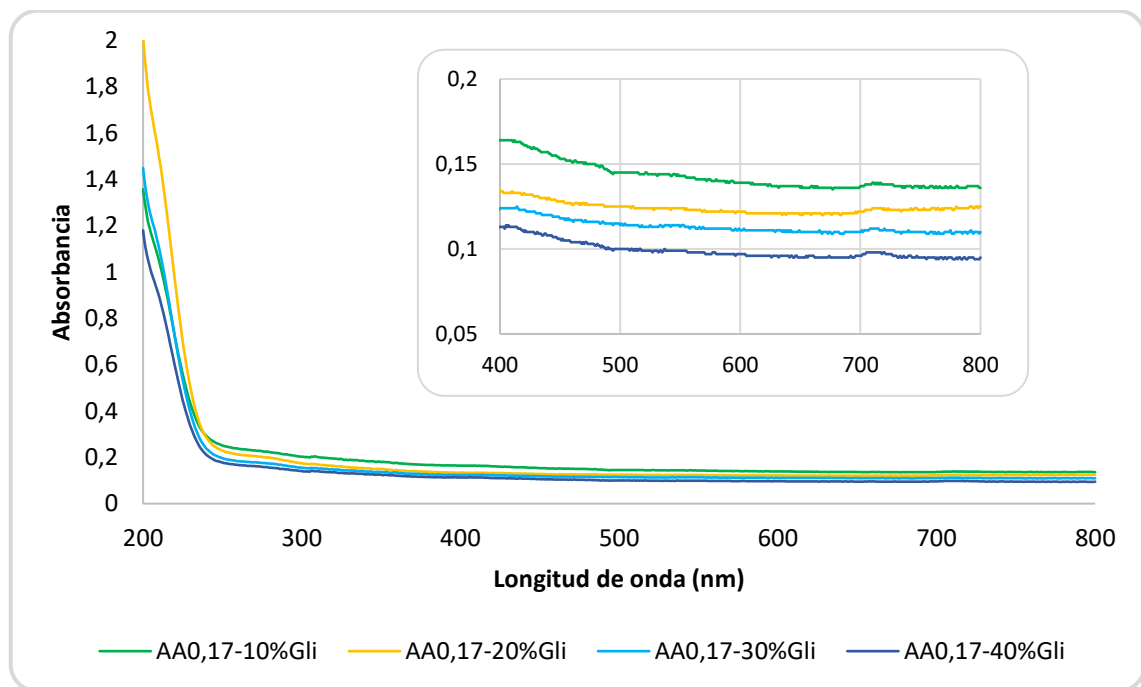


Figura 4.21: Espectro de absorbancia de almidón acetilado (GS=0,10) con diferentes concentraciones de glicerol

Estos resultados coinciden con los de Mali y colaboradores (2004) quienes además, encontraron que la opacidad de las películas estuvo influenciada por la fuente de almidón, ya que las películas de almidón de mandioca mostraron menor opacidad respecto de las de maíz y ñame.

Con respecto a las películas de almidón acetilado, el agregado de glicerol, disminuyó la opacidad desde un valor igual a 56,96 para la muestra de 10% de glicerol hasta un valor de 22,95 para la de 40%, también se observó el mismo efecto para la barrera al UV. En cambio, la transparencia de las películas aumentó con el agregado de plastificante.

4.4.7.2 Efecto del GS

En las Figuras 4.22, 4.23 y 4.24 se muestran los resultados de opacidad, barrera UV y transparencia de películas de almidón nativo y acetilado, respectivamente. La Figura 4.25 corresponde a los espectros obtenidos de las películas mencionadas. Según los resultados obtenidos, el grado de sustitución influyó en estos parámetros ópticos de la siguiente manera: las películas de almidón acetilado con bajos GS (0,04 y 0,17) resultaron menos opacas, con baja barrera a los rayos UV y más transparentes que las películas de almidón nativo ($p < 0,05$). En cambio, las películas con almidón acetilado de alto GS (0,41; 0,72 y 1,04) resultaron significativamente más opacas, con mayor barrera a UV y por lo tanto menos transparentes respecto al nativo ($p < 0,05$). Esto se puede apreciar a simple vista en la Figura 4.26. Este mismo comportamiento se encontró en las determinaciones de claridad de las pastas, presentado en el capítulo 3 de la presente tesis.

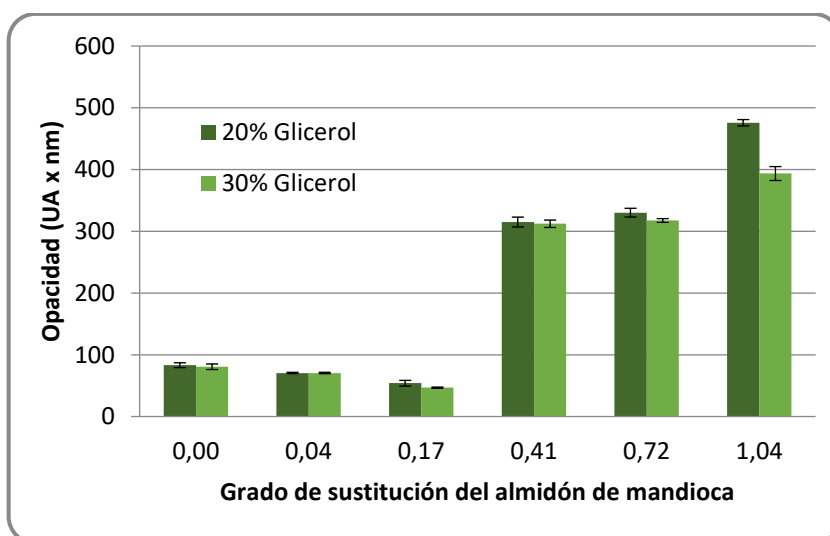


Figura 4.22: Influencia del grado de sustitución en la opacidad de películas conteniendo 20 y 30% de glicerol

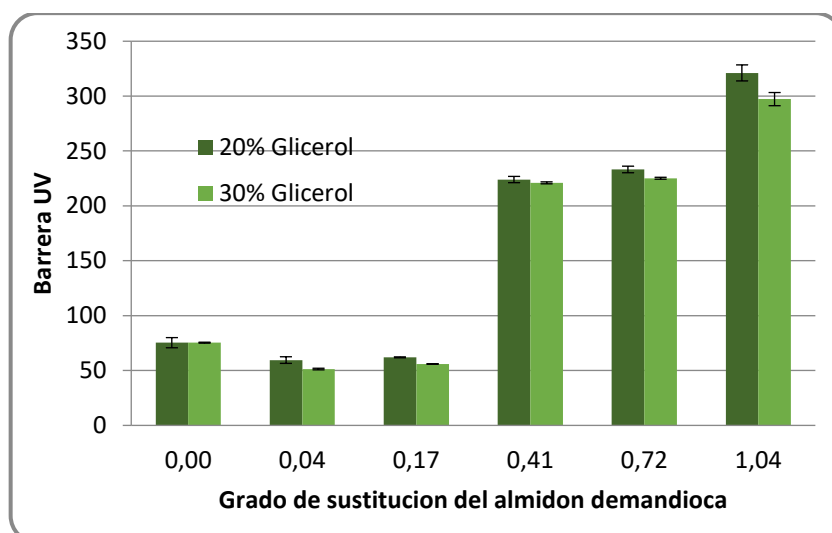


Figura 4.23: Influencia del grado de sustitución en la barrera al UV de películas conteniendo 20 y 30% de glicerol

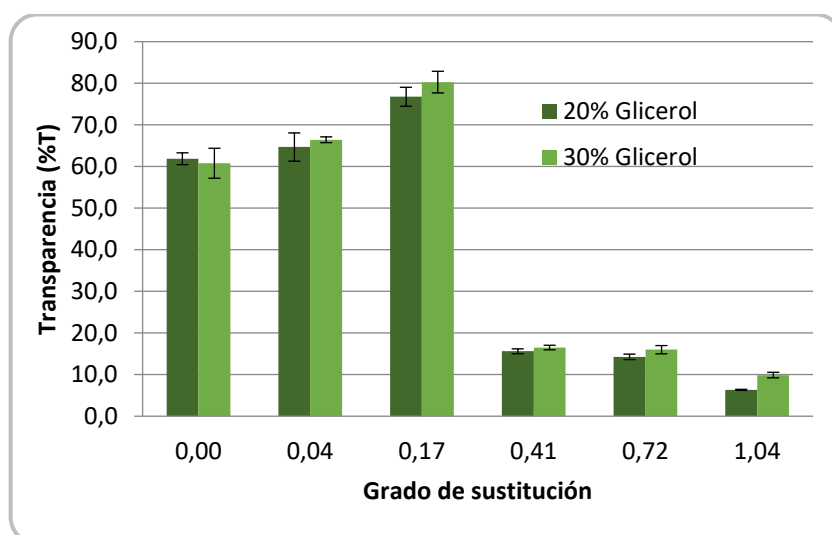


Figura 4.24: Influencia del grado de sustitución en la transparencia de películas conteniendo 20 y 30% de glicerol

Chen (1995) encontró menores valores de opacidad en bioplásticos obtenidos a partir de almidón modificado de bajos de GS respecto a los elaborados a partir de almidón no modificado. Los autores sugieren que la modificación química del almidón de mandioca causó su pérdida de cristalinidad y, como consecuencia, se volvió más transparente.

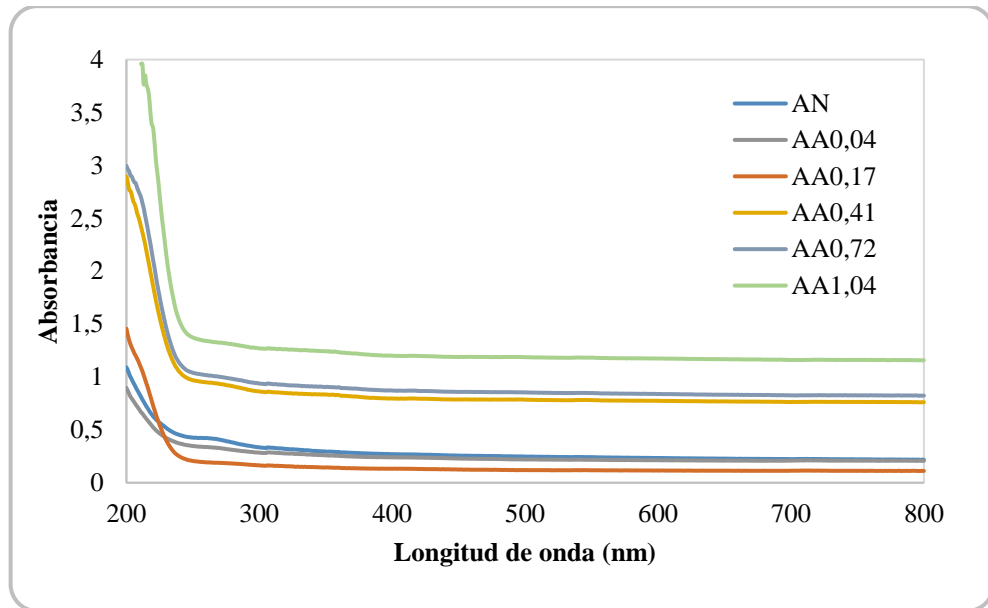


Figura 4.25: Espectro de absorción de películas de almidones: Nativo (AN) y acetilados(AA) con distintos GS y 20% glicerol

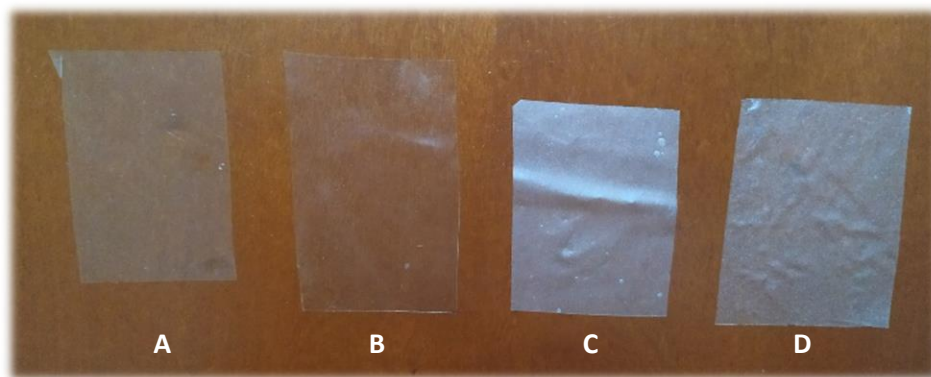


Figura 4.26: Películas obtenidas de almidón de mandioca nativo (A) y acetilados con diferentes GS: 0,17 (B); 0,41 (C) y 1,04 (D)

4.4.8 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

Las observaciones microscópicas de las películas de almidón se relacionan con las micrografías de los gránulos de almidón, analizadas en el capítulo 3 de la presente tesis, donde se observó que los gránulos del almidón nativo y acetilados hasta GS igual a 0,41 mantienen una relativa integridad y a partir de GS 0,89 comienzan a deformarse y a unirse en forma de conglomerados.

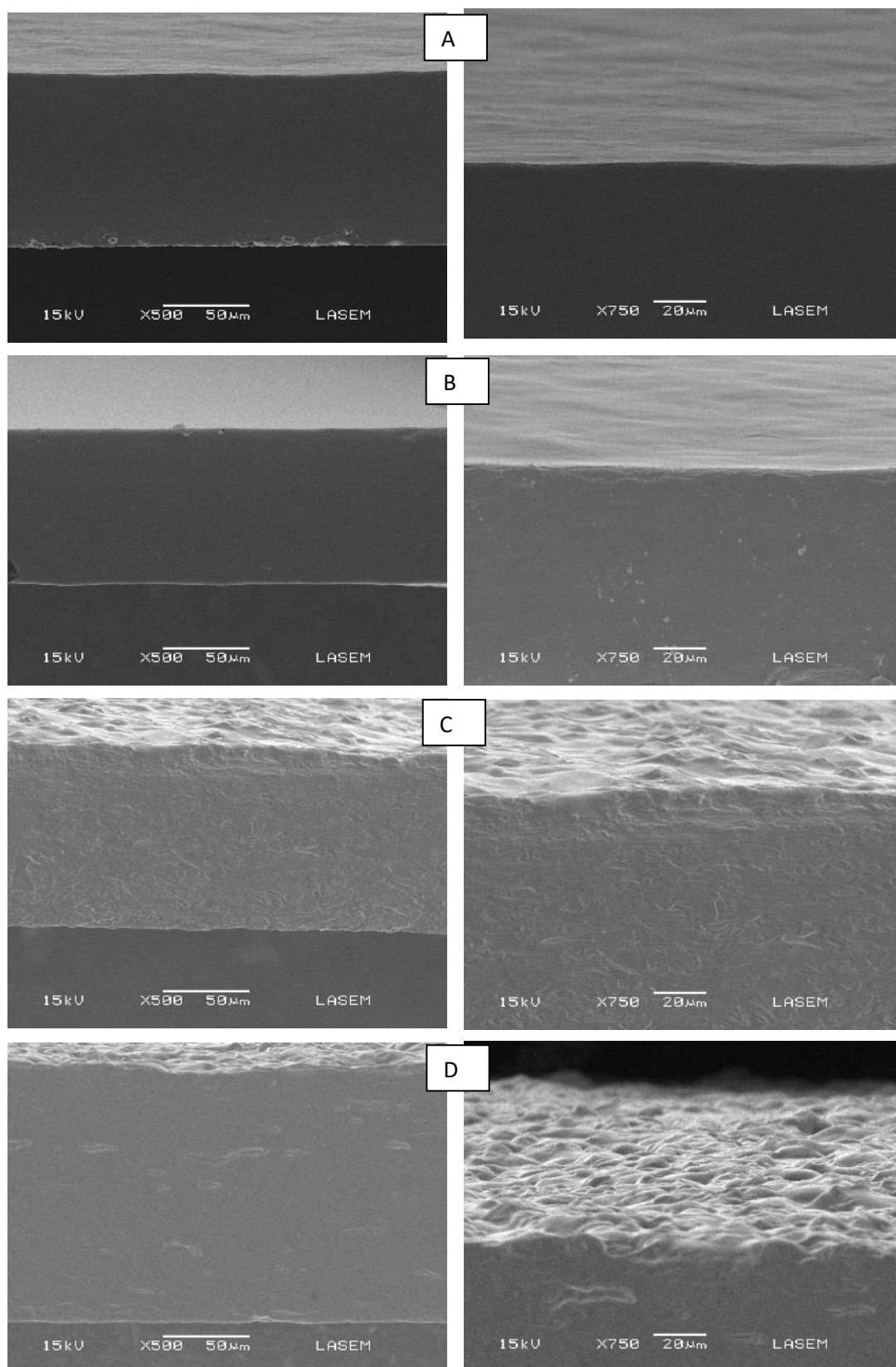


Figura 4.27: Imágenes SEM del corte transversal de películas de almidón nativo (A) y almidones acetilados GS 0,11 (B); GS 0,90 (C) y GS 1,04 (D)

En la Figura 4.27 se observan las micrografías de las películas mostrando la superficie expuesta al aire y la sección transversal. Las películas de almidón nativo y las de almidón acetilado con GS igual a 0,11 con 20% p/p de glicerol, presentan una superficie continua y homogénea, el corte transversal no evidencia fisuras ni heterogeneidades. En cambio, en las películas con almidones acetilados con mayores grados de sustitución (0,90 y 1,04), se observa una estructura rugosa e irregular, tanto en la superficie como en el corte transversal, pudiendo observarse además algunos poros.

4.4.9 Ángulo de contacto

Los ángulos de contacto del agua destilada sobre la superficie de las películas se determinaron con el fin de evaluar los efectos del grado de sustitución sobre la hidrofilia superficial de las mismas. Como se muestra en la Figura 4.28, para bajos GS (0,04 y 0,08) los ángulos de contacto no presentaron diferencias significativas, mientras que en películas de GS 0,20; 0,90 y 1,28 presentaron valores significativamente más elevados, sin presentar diferencias entre sí. Por lo tanto, estas últimas resultaron ser notablemente más hidrofóbicas que las de AN y las de AA con bajo GS.

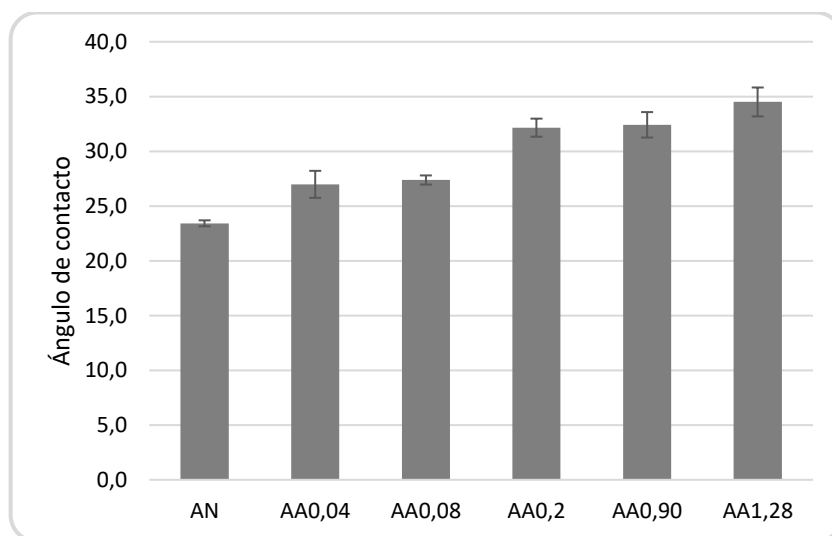


Figura 4.28: Ángulo de contacto de películas obtenidas a partir de almidones nativo y acetilados con diferentes GS y 20% de glicerol

Considerando que todos los valores de ángulos de contacto de las películas de almidón de mandioca nativo y acetilados son menores que 35°, se puede considerar que son películas hidrofílicas. Estos resultados coinciden con Medina-Jaramillo y colaboradores (2017). Otros

investigadores encontraron valores alrededor de 37° para películas con 5% almidón de mandioca y 30% de glicerol (Piñeros-Hernandez y col., 2017) y valores alrededor de 38° en películas de almidón de maíz (Slavutsky y Bertuzzi, 2014).

Las medidas de ángulo de contacto son importantes para conocer el comportamiento de la superficie de la película frente al solvente con el que se realiza el ensayo. Esta información es de utilidad a la hora de seleccionar una película, o bien un recubrimiento, para aplicarlo sobre un producto en particular. Por ejemplo, si se desea envasar un producto con alto contenido de agua se trataría de emplear una película que tenga carácter más hidrofóbico.

Se realizaron determinaciones del ángulo de contacto de las películas tanto del lado que estuvieron expuesta al aire en el casting como del lado en contacto con la placa. Los detalles de estos ensayos se presentan en el ANEXO VII.

4.4.10 Permeabilidad al vapor de agua

4.4.10.1 Efecto del contenido de glicerol

Se evaluó el efecto de la concentración de glicerol en la permeabilidad de vapor de agua de películas de almidón nativo (4% p/p de solución). Los datos se detallan en la Tabla 4.5. y en la Figura 4.29 se puede observar claramente el efecto del plastificante, siendo que para bajas concentraciones de plastificante la película presentó una disminución de la permeabilidad hasta una concentración del 20% de glicerol. En cambio, para concentraciones más altas de glicerol, se observó un aumento regular de dicho parámetro. Este comportamiento estaría asociado a los cambios estructurales producidos en la película con el agregado de plastificante. Probablemente los grupos polares de las cadenas del glicerol, que son moléculas de pequeño tamaño y pueden ubicarse fácilmente entre las cadenas del polímero, desarrollan enlaces de hidrógeno polímero-plastificante que reemplazan las interacciones polímero-polímero en la película. Este ordenamiento entre las moléculas, permite la flexibilidad de las películas y una apariencia homogénea, como puede observarse en las micrográficas SEM.

Para concentraciones mayores al 20% de glicerol, el agregado del plastificante ya no mejora la homogeneidad del film y por ser el glicerol una molécula hidrofílica, aumenta regularmente la permeabilidad de las películas. Este mismo comportamiento fue reportado por López y colaboradores (2008) quienes evaluaron el efecto de la concentración de glicerol en películas de almidón de maíz.

Tabla 4.5. Velocidad de transmisión de vapor de agua y Permeabilidad al vapor de agua de películas de AN con diferentes concentraciones de glicerol.

Contenido de glicerol	WVTR (g/m ² .día)	P (g/m.s.Pa)
0%	288,45	$4,3 \times 10^{-10} \pm 4,4 \times 10^{-11}$
10%	144,23	$2,0 \times 10^{-10} \pm 2,1 \times 10^{-11}$
20%	130,97	$1,9 \times 10^{-10} \pm 6,5 \times 10^{-12}$
30%	223,81	$3,5 \times 10^{-10} \pm 6,7 \times 10^{-12}$
40%	263,60	$3,9 \times 10^{-10} \pm 2,3 \times 10^{-11}$
50%	319,97	$4,8 \times 10^{-10} \pm 5,8 \times 10^{-12}$

Los ensayos se realizaron en celdas con 0% HR interna y 75% HR externa a 25°C

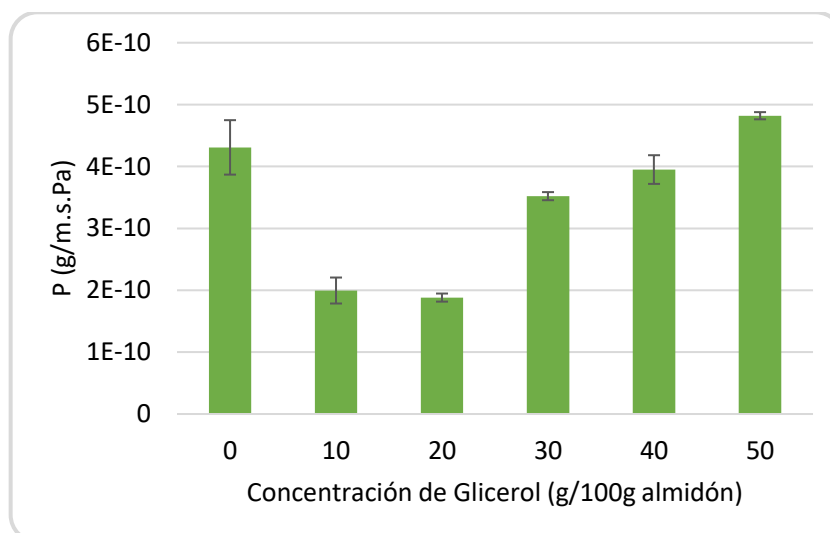


Figura 4.29: Efecto de la concentración de glicerol en la permeabilidad de películas de almidón al 4%

Los valores de P de las películas dependen de varios factores, como por ejemplo, la concentración del polímero, la humedad del ambiente, el tiempo de almacenamiento, entre otros. Es por eso que es difícil comparar en iguales condiciones con otros datos bibliográficos. De todas maneras, el valor de P obtenido para la película de almidón de mandioca nativo fue similar a los reportados por Mali y colaboradores (2006) que obtuvieron un valor igual a $4,02 \times 10^{-10}$ g/s m Pa y por Piñeros-Hernandez y colaboradores (2017) quienes reportaron un valor de $5,08 \times 10^{-10}$ g/s m Pa.

Otros autores reportaron valores de permeabilidad para materiales basados en almidones de otros orígenes botánicos. Como por ejemplo: Bertuzzi y colaboradores (2007) informaron que películas de almidón de alta amilosa, presentaron una permeabilidad igual a 4×10^{-10} g / s m Pa y valores de $4,21 \times 10^{-12}$ g / s m Pa para películas de avena (Galdeano y col., 2009).

4.4.10.2 Efecto del grado de sustitución

En la Figura 4.30 se presentan los valores de P para películas de almidón nativo y acetilado con diferentes grados de sustitución para un contenido de glicerol del 20%. Puede observarse claramente, que el aumento del GS de las películas de los almidones acetilados produce una significativa disminución de la permeabilidad al vapor de agua. Esto podría deberse a que como los grupos OH (hidrofílicos) del almidón fueron reemplazados por grupos acetilos que son más hidrófobos, se provocó una reducción en la capacidad del almidón de interactuar con el agua.

Tabla 4.6: Velocidad de transmisión de vapor de agua y Permeabilidad al vapor de agua de películas de AN y AA con 20% glicerol.

Composición de las Películas	WVTR (g/m ² .dia)	P (g/m.s.Pa)
AN	135,5 ± 6,4	$1,06 \times 10^{-10} \pm 4,72 \times 10^{-12}$
AA0,11	148,8 ± 4,13	$8,74 \times 10^{-11} \pm 2,42 \times 10^{-12}$
AA0,22	66,8 ± 5,63	$5,22 \times 10^{-11} \pm 4,40 \times 10^{-12}$
AA0,90	60,3 ± 4,32	$4,12 \times 10^{-11} \pm 3,81 \times 10^{-12}$

*Los ensayos se realizaron en celdas con 0% HR interna y 75% HR externa a 25°C

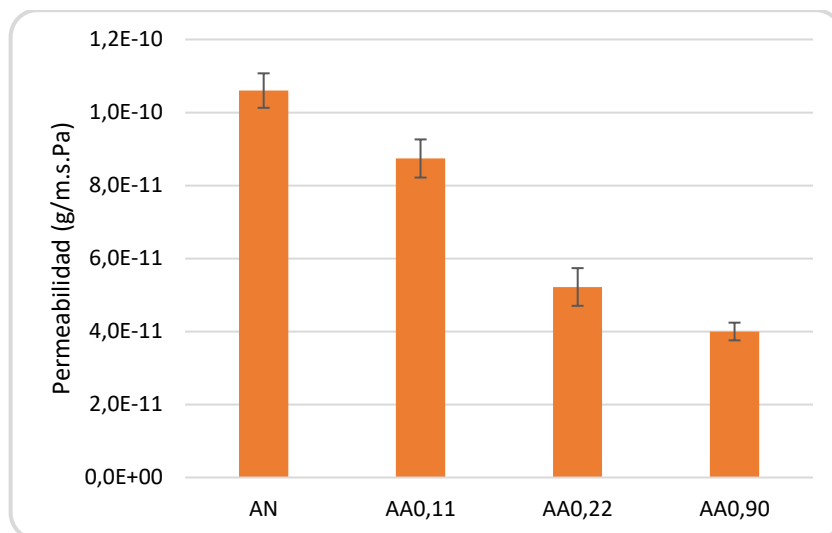


Figura 4.30: Efecto de grado de sustitución en la permeabilidad al vapor de agua de las películas

Este mismo efecto fue reportado por Teodoro y colaboradores (2015) que al utilizar almidón acetilado con GS igual a 1,24, obtuvieron menores valores de P respecto al nativo.

Estos resultados indican que la utilización de almidón acetilado podría ser una prometedora alternativa para el desarrollo de películas y así mejorar el inconveniente que tienen los almidones sin modificar al ser pobres barreras al vapor de agua. La permeabilidad al vapor de agua y el contenido de humedad están directamente relacionados con la solubilidad del agua en la matriz polimérica y proporcionan información sobre la susceptibilidad de cambio de la película durante el almacenamiento y el uso.

4.5 CONCLUSIONES

Se concluye que fue viable obtener buenas películas a partir de almidón de mandioca sin modificar como así también de almidón acetilado. En películas de almidón se evaluaron diferentes concentraciones del polímero y glicerol. Por otro lado, en películas a partir de almidones acetilados, se evaluaron distintas concentraciones de glicerol y diferentes grados de sustitución (entre 0,04 y 1,04). Cabe destacar, que hasta el momento no se han reportado en la bibliografía científica resultados sistemáticos sobre el efecto del GS de almidón de mandioca en el rango obtenido en la presente tesis.

Las soluciones filmogénicas al 4 % de almidón (g/100 g solución) fueron fáciles de manipular y las películas presentaron características adecuadas.

Los ensayos de propiedades mecánicas mostraron que las películas de almidón con contenidos de glicerol hasta el 20% presentaron altos valores de tensión de rotura y poca elasticidad, en cambio, las películas con más del 30% de glicerol, presentaron un comportamiento característico de un material plástico con valores de tensión de rotura todavía apreciable y buena capacidad de deformación. Este significativo cambio en el comportamiento de las películas indicaría que entre 20 y 30% de glicerol se produce una saturación de la matriz del almidón con el plastificante, y que agregando mayores concentraciones de plastificante no mejoran significativamente las propiedades de la película. Por otro lado, se observó que el aumento del GS de los AA, provocó una disminución de la tensión máxima de rotura, indicando que las películas de AA son significativamente menos tenaces que las de AN. En cambio, respecto a la elongación, no presentaron diferencias significativas las películas de AA con 20 % de glicerol. En cambio, si hubo una tendencia a un incremento en este parámetro en las películas con 30% de glicerol hasta un GS igual a 0,22, llegando a un máximo para este valor y luego, hubo una disminución en este parámetro para GS más elevados. Para esta concentración de plastificante, las películas de AA fueron más plásticas respecto al almidón nativo.

El aumento en la concentración de glicerol en las películas, causó un aumento en la solubilidad en agua de las mismas. Este efecto se observó tanto en películas de AN como en las de AA. Sin embargo, no se observó un efecto significativo del grado de sustitución en la solubilidad.

En cuanto a las isothermas de adsorción, los valores experimentales ajustaron al modelo matemático propuesto por GAB. Se observó un efecto significativo del valor de la humedad en equilibrio con el agregado de plastificante. En cambio, no hubo diferencias significativas respecto a los grados de sustitución de los almidones.

El aumento del GS tuvo un efecto significativo en las propiedades ópticas a partir de un valor de 0,41. Películas de almidón acetilado con altos GS se volvieron más opacas, es decir, menos transparentes que las películas de AN y las de bajo GS.

En las micrografías SEM se pudo observar que las películas de almidón nativo y las de almidón acetilado con bajo GS presentaron una superficie continua y homogénea, el corte transversal no evidencia fisuras ni heterogeneidades. En cambio, en las películas obtenidas con almidones acetilados con $GS > 0,90$, se observó una estructura rugosa e irregular, tanto en la superficie como en el corte transversal.

Al aumentar el GS de los almidones se observó un aumento en el ángulo de contacto entre la gota de agua y la superficie de las películas. Por lo tanto, el GS provocó un aumento

en la hidrofobicidad de los materiales. Así mismo, se concluyó que el aumento del GS (en el rango ensayado) de las películas mejora la barrera al pasaje de humedad.

En términos generales, los resultados demuestran que la utilización de almidón y de acetato de almidón de mandioca es una alternativa adecuada para el desarrollo de envases biodegradables flexibles que no requieran un rendimiento mecánico elevado, o bien, para el desarrollo de recubrimiento de alimentos.

CAPÍTULO 5:

APLICACIÓN DE RECUBRIMIENTOS A FRUTAS

5. APLICACIÓN DE RECUBRIMIENTOS A FRUTAS

5.1 INTRODUCCION

Se han realizado numerosos estudios para investigar la capacidad de los recubrimientos comestibles con el fin de preservar la calidad y prolongar la vida útil de las frutas frescas. La evidencia ha demostrado que un recubrimiento comestible podría funcionar como una barrera en la superficie de la fruta, modificar la atmósfera interna de gas, disminuir las pérdidas de agua y retrasar la maduración de la fruta. Se han aplicado recubrimientos comestibles a base de almidón y gomas para preservar la calidad de naranjas simulando condiciones de almacenamiento en el mercado (Saberri y col., 2018). Recubrimientos comestibles a base de alginato con el agregado de aceites esenciales se utilizó para mejorar las propiedades fisicoquímicas, la tasa de respiración, la calidad microbiológica y sensorial de la papaya recién cortada durante el almacenamiento refrigerado (Tabassum y Khan, 2020). Recubrimiento de almidón de mango en frutas de tomate (Nawab y col., 2017), recubrimientos a base de almidón de ñame en frutillas (Mali y Grossmann, 2003), recubrimientos de quitosano y alginato en fruta de guayaba (Nair y col., 2018); recubrimientos comestibles basados el polisacárido de cactus para extender la vida útil de las papas recién cortadas (Wu, 2019); recubrimiento de almidón de arroz y carragenano mezclado con ésteres de sacarosa y ácidos grasos en la vida útil de la ciruela (Thakur y col., 2018) y banana (Thakur y col., 2019). Todas estas frutas recubiertas con varias sustancias naturales han demostrado cambios significativos respecto a las frutas sin recubrir, en las propiedades fisicoquímicas durante el almacenamiento.

La aplicación de recubrimientos comestibles a base a almidón de mandioca ha demostrado un resultado positivo en términos de mejorar la vida útil y preservar la calidad de diferentes frutas. Un recubrimiento de almidón de mandioca y ácido ascórbico se aplicó sobre batatas recién cortadas, donde se observó una reducción del pardeamiento enzimático, la pérdida de peso y mejoró el valor nutricional luego de los 16 días de almacenamiento a 4°C (Ojeda y col., 2014). Se aplicó un recubrimiento con una mezcla de almidón de mandioca, gelatina y caseína en guayabas. El recubrimiento retrasó el proceso de maduración, aumentando la vida útil de las guayabas en 2 días (Pellá y col., 2020). También se estudió el efecto de la aplicación de recubrimientos a base de almidón de maíz y mandioca en el contenido de carotenoides en rodajas de calabaza deshidratadas. Los resultados demostraron que los productos deshidratados que fueron recubiertos retuvieron significativamente mayor contenido de carotenos (Lago-Vanzela y col., 2013).

En la presente tesis se optó por realizar la aplicación de un recubrimiento comestible a base de almidón de mandioca en tres frutas con características diferenciadas, como ser: carambola, quinoto y mora.

En ensayos preliminares se pudo verificar la no factibilidad de aplicación del recubrimiento en frutas de mora, ya que al segundo día de la experiencia, se observó que el recubrimiento no fue homogéneo debido a que las moras están conformadas por drupas que poseen formas irregulares, generando espacios libres y como consecuencia un mal aspecto de las frutas recubiertas. Lo mencionado, dificultó la impregnación de la solución filmogénica evidenciando la no viabilidad de aplicación de esta metodología.

Con respecto a las otras frutas, se optó por trabajar con dos tipos de muestras. Las carambolas fueron cortadas en rodajas de espesores uniformes y los quinotos fueron tratados como fruta entera. Esto conllevó a la necesidad de efectuar medidas diferentes en ambas frutas, ya que la evolución de la calidad y las dificultades experimentales de adherencia fueron distintas.

5.2 OBJETIVOS

El objetivo del presente capítulo consistió en evaluar el efecto de la aplicación de recubrimientos a base de almidón de mandioca y almidón acetilado, sobre la calidad de frutas de carambola y quinoto durante el almacenamiento refrigerado.

5.3 **PARTE A: CARAMBOLA**

APLICACIÓN DE RECUBRIMIENTO A BASE DE ALMIDÓN DE MANDIOCA A FRUTAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS

5.4 MATERIALES Y METODOS

Los materiales utilizados para la elaboración de las películas fueron: almidón de mandioca nativo (ALDEMA, Puerto Rico, Misiones, Argentina) y glicerol (Anedra, Buenos Aires, Argentina). Las frutas de carambola (*Averrhoa carambola L.*) se recolectaron de árboles de la ciudad de Posadas, Misiones, adquiridos el mismo día en que fueron procesadas.

5.4.1 Acondicionamiento de las frutas

Luego de la cosecha, las frutas maduras de carambola se trasladaron al laboratorio donde se seleccionaron en base al color como indicador del grado de maduración del fruto (≈ 8 °Brix), tamaño uniforme (290 cm de long, 220 cm de diámetro), y ausencia de daños físicos. Se lavaron con agua potable y luego se desinfectaron con solución al 2 ppm de hipoclorito de sodio por inmersión durante 2 minutos. Luego se dejaron escurrir, a temperatura ambiente, sobre papel tissue, durante 1 hora y finalmente se cortaron transversalmente en rodajas con un espesor de 6 ± 1 mm.

5.4.2 Aplicación del recubrimiento

Se ensayaron recubrimientos utilizando inmersión a $T=25^{\circ}\text{C}$, empleando soluciones de almidón de mandioca al 4, 5 y 6% (p/p) y glicerol al 20% (p/p). La inmersión de la fruta en la solución filmogénica se realizó por un periodo de 1 minuto, dejándola secar con flujo de aire a temperatura ambiente $T=25^{\circ}\text{C}$ durante 2 horas. Se utilizó como control la fruta fresca sin recubrir. Posteriormente los frutos se almacenaron a temperatura de refrigeración (8 ± 1 °C) y humedad relativa del 75% por un periodo de 12 días. Para mantener la humedad relativa constante se utilizó un recipiente hermético con solución saturada de NaCl.

Este ensayo se realizó con la finalidad de evaluar la manipulación del recubrimiento teniendo en cuenta la concentración del almidón.

5.4.3 Ensayos de caracterización

5.4.3.1 Pérdida de masa

La pérdida de peso se realizó pesando las rodajas de frutas antes y después de la aplicación del recubrimiento y a cada tiempo durante el almacenamiento. Se utilizó una balanza analítica con una desviación de $\pm 0,0001\text{g}$. El ensayo se realizó por triplicado. Los resultados se expresaron en porcentaje respecto al peso inicial, utilizando la siguiente ecuación:

$$Pp = \frac{(Pi - Pf)}{Pi} * 100$$

Donde:

Pp= Pérdida de masa

Pi= Peso inicial (g)

Pf= Peso final (g)

5.4.3.2 Sólidos solubles totales

Las frutas se trituraron en un mortero para facilitar la extracción del jugo; el producto resultante se filtró y se realizó la medida del contenido de sólidos solubles utilizando un refractómetro Abbe (ICSA-OPTIC, modelo WY 1^a), calibrado con agua destilada. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

5.4.3.3 Medición de pH

Se homogeneizó 3 gramos de fruta en 270 ml de agua destilada en un mixer durante 1 minuto. Para la medición de pH se utilizó un pHmetro digital ALTRONIX Modelo TPA-III. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

5.4.3.4 Parámetros de color

Se utilizó un medidor de color portátil MiniScan (EZ 4500L HunterLab, USA). Se midió el color en sistema CIELab en frutas frescas y recubiertas. En el sistema CIE LAB se define un espacio de coordenadas rectangulares ($L^*a^*b^*$) y otro en coordenadas cilíndricas (Croma, Hue) (Figura 5.1). L^* indica luminosidad (0=negro a 100=blanco); a^* y b^* cromaticidad. Donde $+a^*$ =rojo, $-a^*$ =verde, $+b^*$ =amarillo y $-b^*$ =azul. Y coordenadas cilíndricas: Croma, que indica la saturación, intensidad o pureza de la tonalidad del color que va desde el cero en el centro y

aumenta de acuerdo con la distancia respecto al centro. El ángulo Hue representa el tono, y se define comenzando en el eje $+a^*$ y se expresa en grados: 0° sería $+a^*$ (rojo), 90° sería $+b^*$ (amarillo), 180° sería $-a^*$ (verde) y 270° sería $-b^*$ (azul) Otro parámetro que se emplea para el análisis de color fue la variación de color total ΔE que se utiliza para saber cuánta diferencia hay entre los colores de 2 muestras.

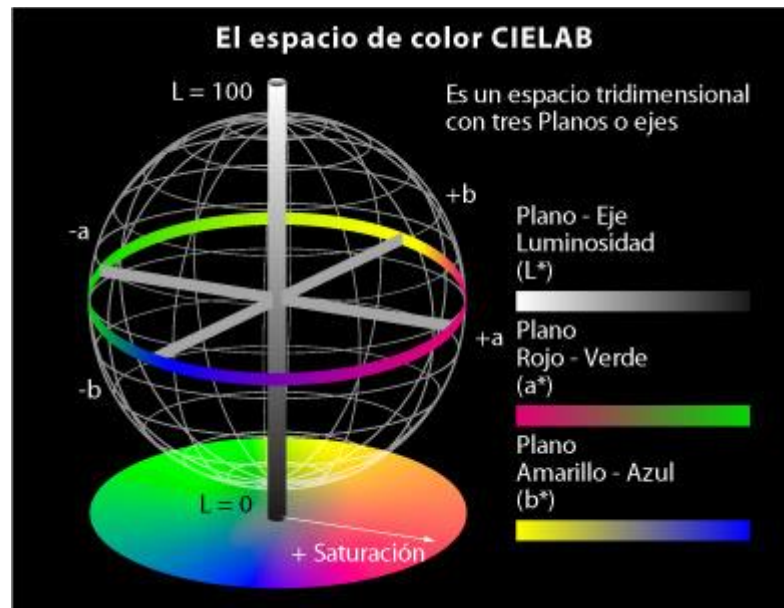


Figura 5.1: Círculo de cromaticidad en Sistema CIEL^{*}a^{*}b^{*}

Los parámetros: ángulo Hue, Chroma y variación total del color ΔE se calcularon mediante las siguientes ecuaciones:

$$Hue = \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right), (\text{cuando } a^* > 0)$$

$$Chroma = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

$$\Delta L^* = L^* - L_0^*$$

$$\Delta a^* = a^* - a_0^*$$

$$\Delta b^* = b^* - b_0^*$$

Siendo L_0^* , a_0^* y b_0^* corresponde a los parámetros de color de la fruta al inicio del ensayo (inmediatamente después de recubrir) y L^* , a^* y b^* , los correspondientes a las muestras recubiertas a los distintos tiempos de almacenamiento.

Todas las mediciones se realizaron por triplicado, registrando medidas en cinco puntos en cada muestra.

5.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.5.1 Pérdida de peso y apariencia de las frutas recubiertas

En la Figura 5.3, se aprecian los resultados de la evolución de la pérdida de masa durante el almacenamiento refrigerado de las rodajas de carambolas sin recubrir y recubiertas con almidón. Las carambolas recubiertas mostraron valores de pérdida de peso significativamente menores que la muestra sin recubrir (control) al día 12 de almacenamiento ($p < 0,05$), a su vez, las frutas recubiertas con almidón al 4% presentaron menor pérdida de peso respecto a las demás frutas recubiertas. Este efecto puede deberse a la relación viscosidad-adherencia de las soluciones.

En períodos de almacenamiento menores (8 días) no se registraron diferencias significativas de pérdida de peso entre las muestras.

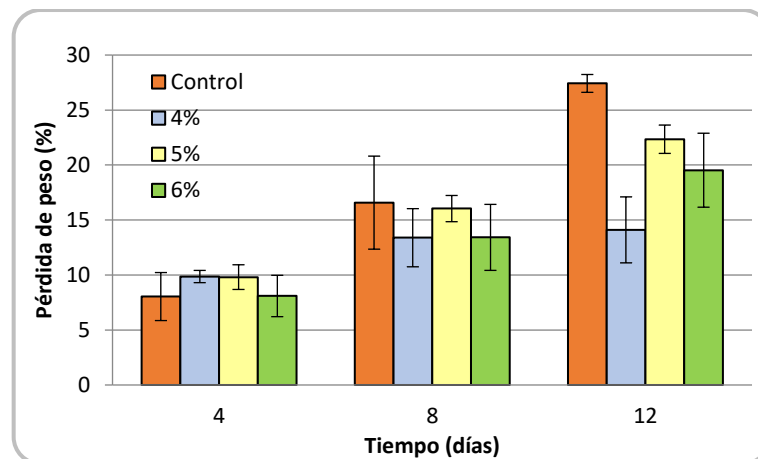


Figura 5.2: Pérdida de peso de rodajas de carambola recubiertas con almidón de mandioca al 4, 5 y 6% con 1,5% de glicerol durante el almacenamiento en refrigeración.

Resultados similares fueron encontrados por Gol y colaboradores (2015b) quienes recubrieron rodajas de carambola con quitosano, goma arábica y alginato y almacenaron a 26 ± 1 °C con 65–70 % de humedad relativa durante 12 días. Los porcentajes de pérdida de peso fueron 8,2; 10,9 y 11,2% para las frutas recubiertas con quitosano 0.3%, goma arábica 1% y alginato 2%, respectivamente, contra un 22,4% en la fruta de control.

Barco Hernández y colaboradores (2011) evaluaron el efecto del recubrimiento sobre tomates enteros y encontraron que la formulación con 4% de almidón de mandioca provocó la menor pérdida de peso en comparación a otros recubrimientos con 2 y 3% de almidón.

Chiumarelli y colaboradores (2011) encontraron que el recubrimiento a base de almidón de mandioca redujo la pérdida de peso de rodajas de mango. Otro estudio realizado por Pellá y colaboradores (2020) encontraron que la aplicación de un recubrimiento a base de almidón de mandioca, gelatina y caseína sobre frutas enteras de guayaba provocó una pérdida de peso del 16,5% para guayabas recubiertas, mientras que para la fruta control la reducción fue del 20 % al noveno día de almacenamiento.

En la Figura 5.4 se pueden observar fotografías de los diferentes recubrimientos aplicados a las frutas al día 0 (considerado el inicio del ensayo) y al día 12 (final del almacenamiento). En general, todas las formulaciones impartieron brillo a los frutos y mejoraron el aspecto de las frutas mínimamente procesadas.

El punto final del almacenamiento estuvo relacionado con el desarrollo de mohos. Motivo por el que se decidió incorporar en las siguientes formulaciones de los recubrimientos un agente antimicrobiano.

La reducción de pérdida de peso en las frutas recubiertas con almidón puede deberse al hecho de que los recubrimientos comestibles actúan como una barrera semipermeable contra el intercambio de gases, y humedad, lo que disminuye la respiración, las cinéticas de reacción de oxidación y la transmisión de humedad (Nawab y col., 2017).

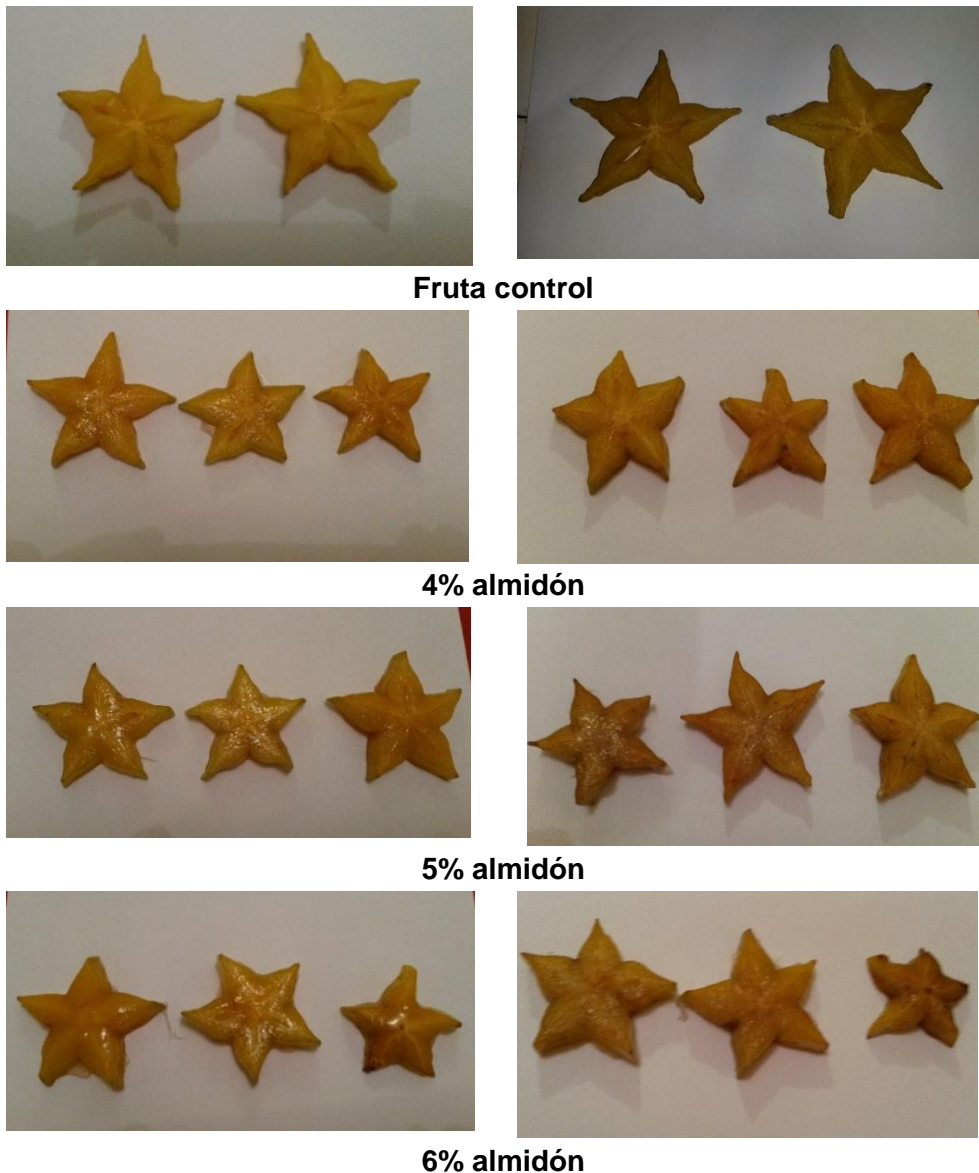


Figura 5.3: Fotografías de rodajas de carambola recubiertas con almidón de mandioca, día 0 (fotos a la izquierda) y luego de los 12 días de almacenamiento a temperatura de 8°C (fotos a la derecha)

5.5.2 Contenido de agua

Con respecto al contenido de agua de las frutas, a los 12 días de almacenamiento se registró una disminución del 16,5% en la muestra control y una disminución del 13%, 15% y 14,3% en las recubiertas al 4, 5 y 6% respectivamente (Figura 5.4). El análisis estadístico demostró que no hubo diferencias significativas entre el control y los tratamientos ($p > 0,05$). Estos resultados reafirman que el recubrimiento tiene un efecto combinado de barrera a los gases y al vapor de agua, lo que se traduce en una reducción de la cinética de algunas las

reacciones metabólicas de las frutas (Nawab y col., 2017) y no solo es una barrera al pasaje de humedad.

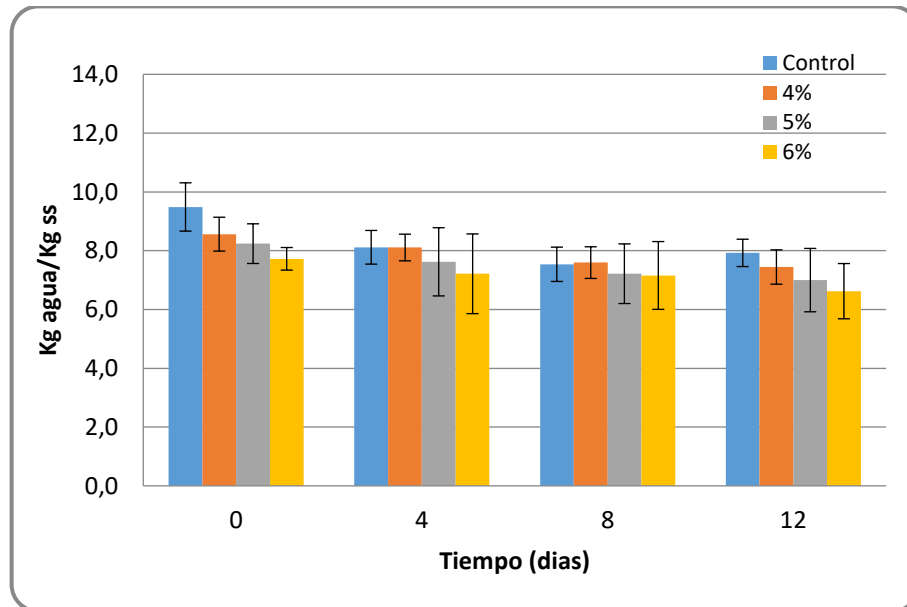


Figura 5.4: Variación del contenido de agua de las frutas durante el almacenamiento

5.5.3 Sólidos solubles totales

Los cambios en los sólidos solubles de las rodajas de carambola durante el período de almacenamiento se presentan en la Tabla 5.2. La concentración de sólidos solubles aumentó progresivamente con el aumento del período de almacenamiento. Esta tendencia creciente fue más pronunciada en las frutas control. El mayor contenido de sólidos solubles al finalizar el período de almacenamiento se observó en las frutas control (50%) seguidas de las frutas recubiertas al 4%, 6% y 5% de almidón, las cuales presentaron un aumento en los sólidos solubles del 42, 31 y 26% respectivamente. Sin embargo, no hubo diferencia significativa ($p < 0,05$) entre los tratamientos. El aumento en los sólidos solubles puede estar asociado con la degradación del almidón y la deshidratación de la fruta durante el almacenamiento (Khaliq y col., 2015).

Resultados similares en el aumento más lento de los sólidos solubles se encontraron al aplicar un recubrimiento a base de almidón de batata en frutas de frutillas (Mali y Grossmann, 2003), al igual que en frutas de guayabas recubiertas con quitosano (Hong y col., 2012).

Tabla 5.1: Variación de los sólidos solubles de rodajas de carambola recubiertas con almidón de mandioca durante el almacenamiento

Recubrimientos	Sólidos solubles (°Brix)			
	0	4	8	12
Control	7,45±0,07 ^{aA}	9,25±0,86 ^{bB}	10,75±0,35 ^{dC}	11,17±0,28 ^{bC}
4%	7,21±0,75 ^{aA}	8,75±0,73 ^{abA}	9,67±0,15 ^{cB}	10,25±0,45 ^{aB}
5%	7,35±0,75 ^{aA}	7,75±0,75 ^{aA}	8,00±0,18 ^{aA}	9,25±0,60 ^{aB}
6%	7,43±0,95 ^{aA}	7,93±0,35 ^{aA}	8,75±0,50 ^{bA}	9,75±0,35 ^{aB}

*Cada valor representa la media de 3 réplicas ± la desviación estándar.

**Las medias en la misma línea con diferentes letras mayúsculas indican que son significativamente diferentes (prueba de Tukey $p < 0,05$).

**Las medias en la misma columna con diferentes letras minúscula indican que son significativamente diferentes (prueba de Tukey, $p < 0,05$).

Gol y colaboradores (2015a) aplicaron recubrimientos en rodajas de carambola con quitosano, alginato y goma arábica, y en sus resultados demostraron que los recubrimientos redujeron el aumento de sólidos solubles totales respecto al control e infirieron que probablemente se debió a la desaceleración de la respiración y la actividad metabólica, lo que retrasó el proceso de maduración. La propiedad filmogénica del quitosano y la goma arábica dio como resultado una excelente película semipermeable alrededor de la fruta, modificando la atmósfera interna reduciendo el O_2 y/o elevando el CO_2 , y suprimiendo la evolución del etileno. Una tasa de respiración suprimida también ralentiza la síntesis y el uso de metabolitos, lo que resulta en un menor TSS debido a la hidrólisis más lenta de los carbohidratos a azúcares.

5.5.4 pH

En la Tabla 5.3 se presentan la variación de pH de las frutas durante el almacenamiento. Estos resultados demuestran que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos y tampoco durante el período de ensayo.

Tabla 5.2: Variación de pH de rodajas de carambola recubiertas con almidón de mandioca durante el almacenamiento

Recubrimientos	pH			
	0	4	8	12
Control	4,63±0,10 ^{aB}	4,47±0,05 ^{aA}	4,63±0,10 ^{aB}	4,51±1,05 ^{aAB}
4%	4,93±0,29 ^{bB}	4,75±0,03 ^{aA}	4,61±0,03 ^{aA}	4,97±0,06 ^{bB}
5%	4,93±0,18 ^{bA}	4,75±0,08 ^{bA}	4,81±0,07 ^{bA}	4,86±0,22 ^{bA}
6%	4,94±0,17 ^{bA}	4,89±0,03 ^{cA}	4,99±0,30 ^{cA}	4,90±0,32 ^{bA}

*Cada valor representa la media de 4 réplicas ± la desviación estándar.

**Las medias en la misma línea con diferentes letras mayúsculas indican que son significativamente diferentes (prueba de Tukey, $p < 0,05$).

**Las medias en la misma columna con diferentes letras minúscula indican que son significativamente diferentes (prueba de Tukey, $p < 0,05$).

5.5.5 Color

El color es un atributo de calidad importante asociado con las frutas recién cortadas que juega un papel clave en la determinación de la preferencia del consumidor y su aceptabilidad hacia los alimentos (Tabassum y Khan, 2020). Los atributos de color de las rodajas de carambola se evaluaron midiendo L^* (claridad), a^* (enrojecimiento) y b^* (amarillez), que se utilizaron para evaluar los valores de cambio de color, tono y croma durante los 12 días de almacenamiento a 8 °C.

La aplicación de los recubrimientos no evidenció diferencias significativas en las frutas respecto al parámetros L^* durante los 12 días de almacenamiento (Figura 5.6). Esto demuestra que no hubo cambios en la luminosidad (no hubo oscurecimiento). Respecto al parámetro b^* se observa una reducción leve en la fruta sin recubrir y sin diferencias en las frutas recubiertas (Figura 5.8). En cambio, en el parámetro de color a^* se observó que hubo un ligero aumento tanto la fruta sin recubrir como en las recubiertas encontrándose diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las frutas tratadas y en el control, pero no así entre los diferentes recubrimientos (Figura 5.7). Esto indica que las frutas se volvieron levemente más rojizas. Este incremento en el enrojecimiento probablemente pueda deberse al incremento de procesos enzimáticos, causando el pardeamiento y otras reacciones químicas (Chien y col., 2007).

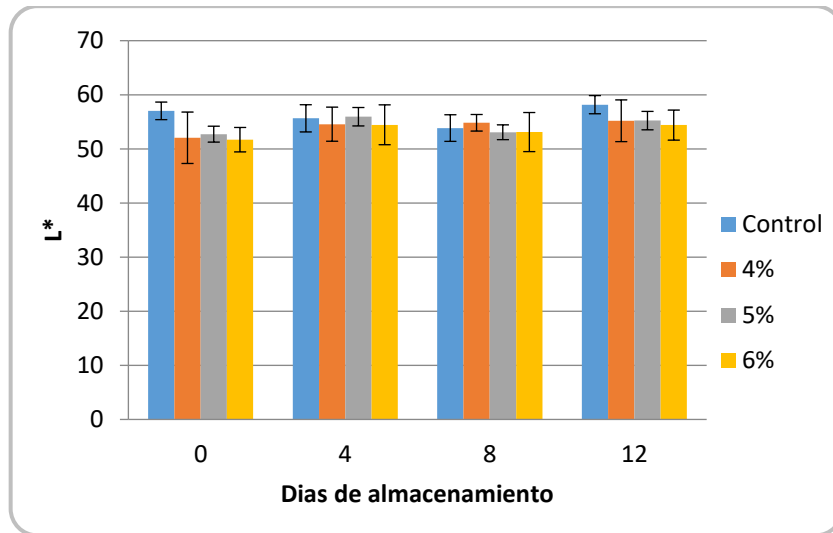


Figura 5.5: Evolución del parámetro L^* en frutas de carambola sin recubrir (control) y recubiertas con AN (4, 5 y 6%) durante el almacenamiento a 8°C

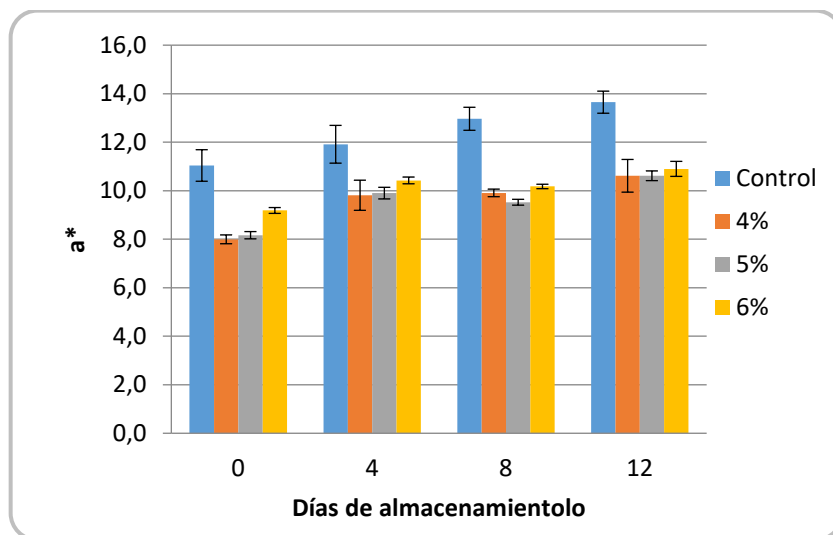


Figura 5.6: Evolución del parámetro a^* en frutas de carambola sin recubrir (control) y recubiertas con AN (4, 5 y 6%) durante el almacenamiento a 8°C

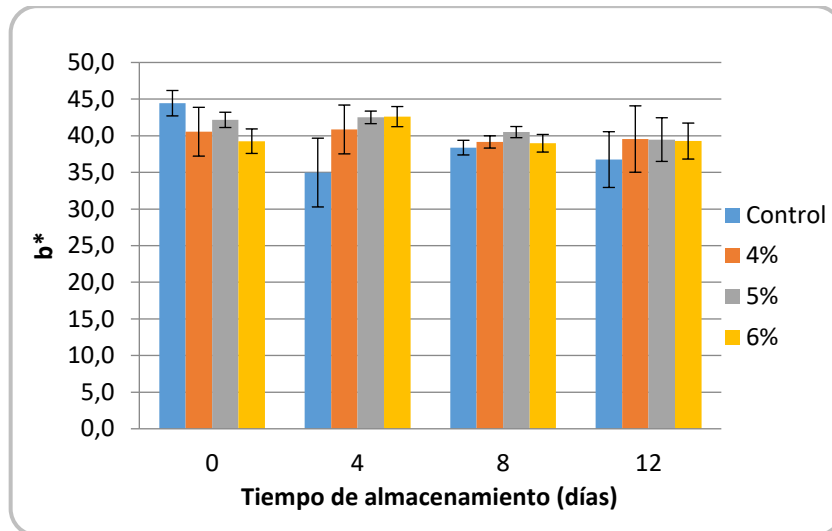


Figura 5.7: Evolución del parámetro b* en frutas de carambola sin recubrir (control) y recubiertas con AN (4, 5 y 6%) durante el almacenamiento a 8°C

El ángulo Hue disminuyó al finalizar el almacenamiento, tanto para la fruta control como para las recubiertas. Las frutas recubiertas se acercan a valores de 75° que corresponde al tono naranja y la fruta sin recubrir a valores de 70°, indicando un naranja más fuerte (Tabla 5.4). En cambio, el círculo cromático Chroma, no presentó diferencias significativas durante el almacenamiento en frutas recubiertas, pero si una disminución en la fruta control, indicando una pérdida en la nitidez (pureza) del color.

El parámetro ΔE nos da información comparativa sobre el cambio de color global de las frutas inmediatamente después de haber sido recubiertas y al final del almacenamiento (día 12). Los resultados fueron de 9,1±4,4 para la fruta control y 5,2±1,6; 5,7±2,1 y 9,0±3,4 para las frutas recubiertas con 4%, 5% y 6% de almidón, respectivamente. Estos valores son relativamente bajos indicando poca variación de color.

Tabla 5.3: Parámetros de coloración HUE, CHOMA de rodajas de carambola recubiertas con almidón de mandioca al día 0 y 12 de almacenamiento a 8°C

	HUE		CHROMA	
	0	12	0	12
Control	76,05±0,50a	70,13±1,04b	45,7±1,8a	39,2±3,7b
4%	78,80±0,90a	74,68±0,35b	41,3±3,2a	40,9±4,2a
5%	77,68±1,32a	75,66±0,40b	43,1±1,2a	41,3±2,4a
6%	78,06±0,47a	75,11±0,06b	40,6±1,7a	41,0±2,1a

*Las medias en la misma fila con diferentes letras indican que son significativamente diferentes (prueba de Tukey, p<0,05).

5.6 **PARTE B: QUINOTOS**

APLICACIÓN DE RECUBRIMIENTOS A BASE DE ALMIDON ACETILADO DE MANDIOCA EN FRUTAS ENTERAS

5.7 MATERIALES Y MÉTODOS

5.7.1 Selección y acondicionamiento de las frutas

Se utilizaron frutas de quinoto (*Fortunella spp*) cosechadas de árboles de la zona de ciudad de Posadas, provincia de Misiones.

Luego de la cosecha, las frutas maduras se trasladaron al laboratorio donde se seleccionaron según su uniformidad, tamaño, color (prestando especial atención a su estado de madurez por su coloración amarilla) y la ausencia de daños mecánicos. Se lavaron con agua potable y desinfectaron con solución al 5 ppm de hipoclorito de sodio por inmersión durante 2 minutos, dejando escurrir durante 1 hora.

Se utilizaron para cada ensayo 10 frutas seleccionadas al azar. La aplicación del recubrimiento se realizó sobre la fruta entera.

5.7.2 Preparación y aplicación del recubrimiento

Para la preparación de los recubrimientos se utilizó 4 g de almidón, 0,8 g de glicerol, 0,3 g de sorbato de potasio (Anedra, Buenos Aires, Argentina), como antimicrobiano, y ácido cítrico (Cicarelli, Santa Fe, Argentina) para ajustar el pH a 4,5, todo expresado por cada 100 g de solución. Se ensayaron 3 recubrimientos sobre las frutas, utilizando almidón nativo (AN), almidón acetilado con GS 0,08 y almidón acetilado con GS 0,90. La fruta sin recubrir se utilizó como control.

Los almidones acetilados fueron obtenidos en el laboratorio como se describió en el Capítulo 3 de la presente tesis.

La aplicación de los recubrimientos se realizó mediante el mismo procedimiento descrito para las frutas de carambola mencionado en la sección 5.4.2.

5.7.3 Evaluación de textura

Las propiedades mecánicas fueron evaluadas con un texturómetro universal (TA.XT2 Texture Analyser, Stable Micro Systems, USA), con una celda de carga de 5 N. Se realizaron

ensayos de compresión uniaxial a las muestras mediante una sonda de acero inoxidable, de sección circular con 75 mm de diámetro, a velocidad constante (3 mm/s), hasta un nivel de deformación del 60% del espesor de la muestra. Los ensayos de compresión se realizaron sobre las frutas enteras por sextuplicado al final del periodo de almacenamiento. Los resultados se informaron como fuerza en Newton (N).

5.7.4 Ángulo de contacto y tensión superficial crítica de las soluciones filmogénicas sobre la superficie de quinoto

Las mediciones de los ángulos de contacto (θ) se realizaron mediante el método de gota sésil a temperatura ambiente, utilizando un goniómetro (Goniómetro estándar con imagen DROP estándar, modelo 200-00, Ram e-Hart Instrument Co., Succasunna, EE. UU), como se puede observar en la Figura 5.2. El ángulo de contacto en las superficies de la fruta se midió colocando una gota del líquido en una superficie horizontal y se observó con un medidor de ángulo de contacto frontal. Para evitar cambios en la superficie, las mediciones se realizaron inmediatamente luego de colocar la gota (en menos de 30 s). Las mediciones del ángulo de contacto se realizaron con los siguientes líquidos puros: etilenglicol, diyodometano, formamida, glicerol y agua destilada. Se realizaron 10 réplicas de cada formulación de película y sobre la superficie de la fruta.

Los componentes de tensión superficial de los líquidos puros se presentan en la Tabla 5.1 (Baldan, 2012; Ghanbarzadeh y col., 2007; Hershko y Nussinovitch, 1998).

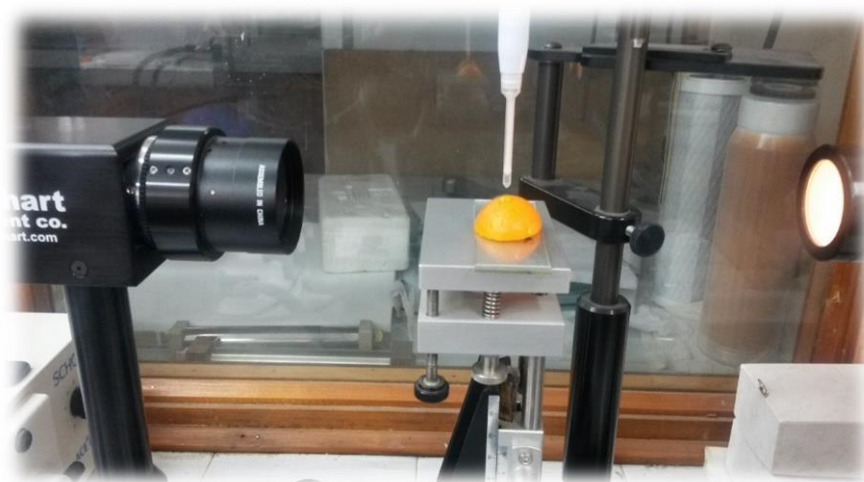


Figura 5.8: Fotografía de la medición del ángulo de contacto sobre la superficie de quinoto

Tabla 5.4: Componentes de tensión superficial de los líquidos puros

Líquidos de referencia	Tensión superficial (mN/m)	Componente dispersa (mN/m)	Componente polar (mN/m)
Etilenglicol	48,3	29,3	19
Di iodo metano	50,8	48,5	2,3
Formamida	58,2	32,2	26
Glicerol	63,4	37,1	26,3
Agua	72,1	19,9	59,2

5.8 RESULTADOS

5.8.1 Pérdida de peso y apariencia

Los quinotos recubiertos mostraron al finalizar el ensayo menor pérdida de peso respecto a la muestra control, como se observa en la Figura 5.9. El análisis de estos resultados señala que hubo diferencias significativas ($p > 0,05$), entre la fruta control y las frutas recubiertas, pero no entre las frutas con los diferentes recubrimientos. Las frutas recubiertas mostraron menor pérdida de peso al finalizar el ensayo en un porcentaje de 7,23%; 8,44% y 7,69% para los recubrimientos con AN, AA0,08 y AA0,90 respectivamente; el control tuvo una pérdida de peso del 11,10%. La muestra AA0,08 presentó diferencia significativa respecto al control recién a los 31 días del ensayo, sin embargo, las demás muestras, presentaron diferencias durante todo el tiempo de almacenamiento.

Mali y Grossmann (2003) encontraron resultados similares en frutillas recubiertas con almidón de batata, donde el efecto del recubrimiento produjo una menor pérdida de peso durante el almacenamiento respecto a las frutas sin recubrir.

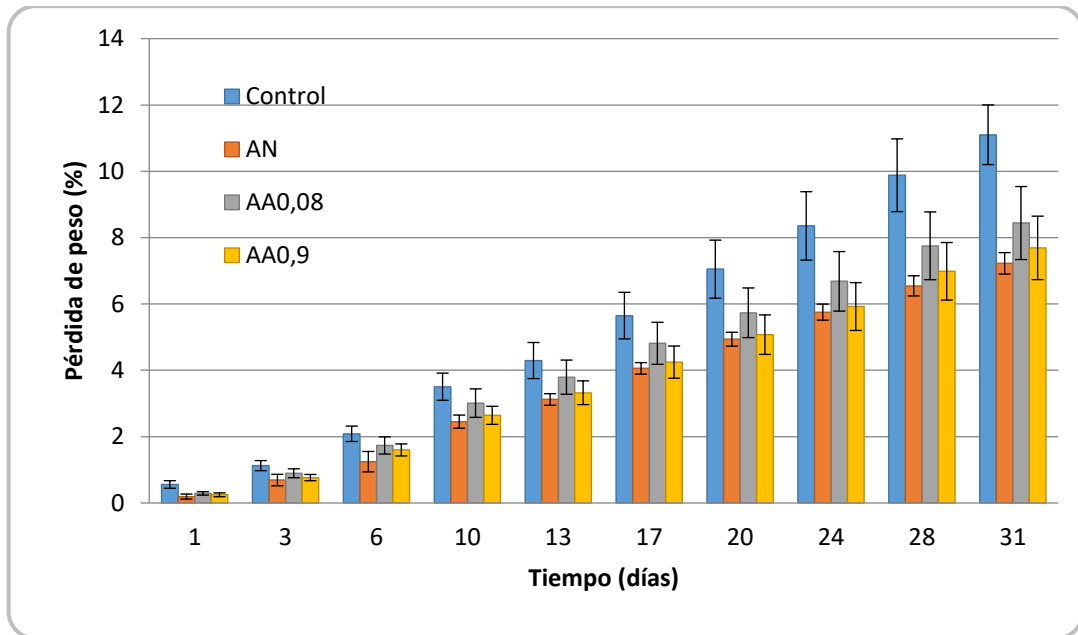


Figura 5.9: Pérdida de peso de frutas de quinoto con y sin recubrimiento durante el almacenamiento a 8°C. Control: fruta sin recubrir, AN: recubrimiento con almidón nativo, AA0,08: recubrimiento con almidón acetilado (GS=0,08) y AA0,90: recubrimiento con almidón acetilado (GS=0,90)

En la Figura 5.10 se observan las fotografías de los quinotos al final del almacenamiento. En general, todas las formulaciones impartieron un brillo atractivo a los frutos, sin embargo, la formulación con AN fue significativamente más brillante que el resto de las formulaciones, además, presentó una apariencia más fresca. Las frutas recubiertas con AA0,90 presentaron la superficie más opaca.

Entre los efectos benéficos que pueden obtenerse con la aplicación de recubrimientos se encuentra el mejoramiento de la apariencia. En el caso de los frutos no-climatéricos, como los cítricos, es muy importante reducir la tasa de transpiración ya que el estrés de agua se manifiesta físicamente en una marchitez de los frutos que reduce su valor comercial y la deshidratación también acelera drásticamente su senescencia disminuyendo su vida útil postcosecha.

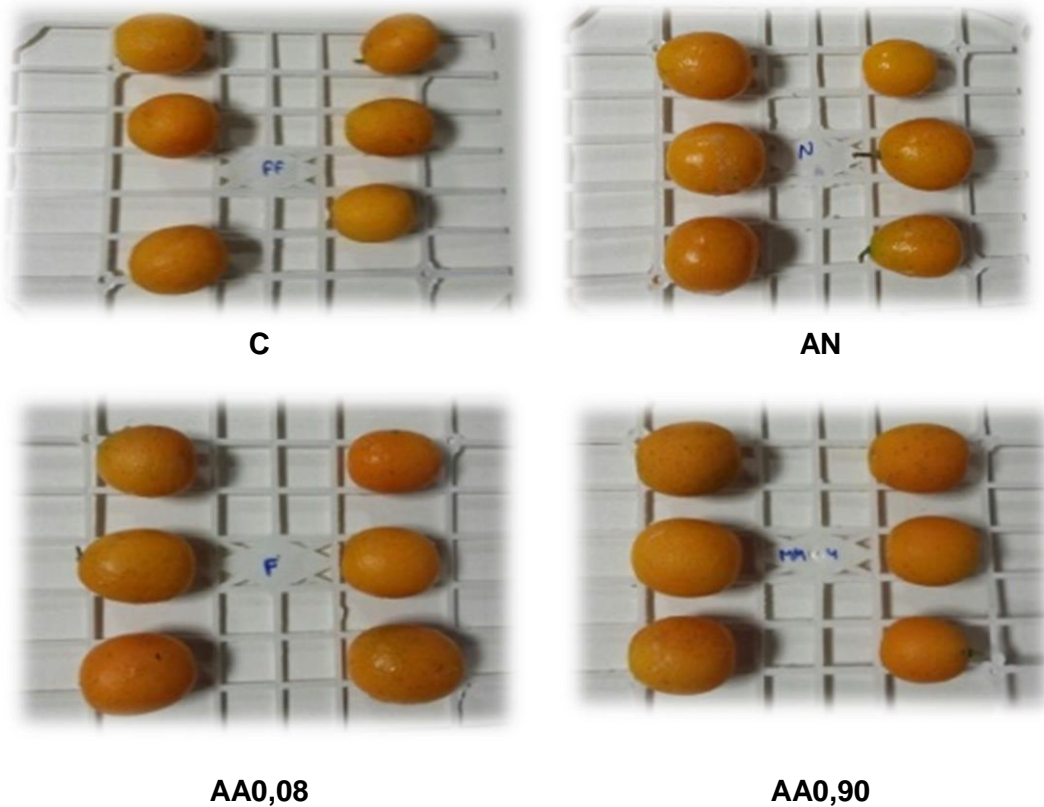


Figura 5.10: Frutos de quinoto al final del almacenamiento (31 días a 8°C). Control (C), recubrimiento con almidón nativo (AN), recubrimiento con almidón acetilado (AA0,08) y recubrimiento con almidón acetilado (AA0,9)

5.8.2 Sólidos solubles totales

Como es de esperar, la maduración de la fruta continúa durante el almacenamiento y a los 31 días se registra un incremento del 15,5 % en el contenido de sólidos solubles en la fruta sin recubrir. Sin embargo, no se observó efecto significativo del recubrimiento (Figura 5.11).

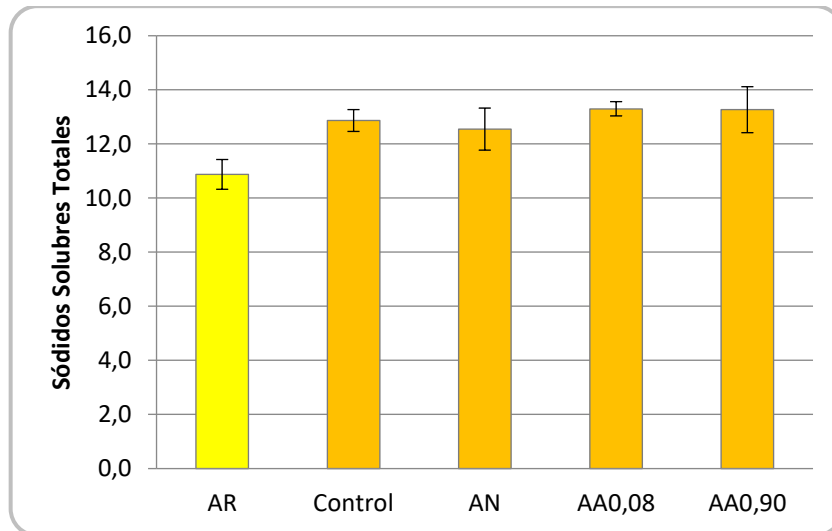


Figura 5.11: Sólidos solubles totales de fruta fresca antes de recubrir (AR) al día 0 y frutas: Control, recubrimiento con almidón nativo (AN), recubrimientos con almidón acetilado (GS=0,08) y (GS=0,90) a los 31 días de almacenamiento a 8°C

5.8.3 Firmeza:

Los resultados de firmeza se presentan en la Figura 5.12. Los mismos demuestran que no hay diferencia significativa ($p < 0,05$) entre la fruta sin recubrir y las recubiertas con AN y AA0,08.

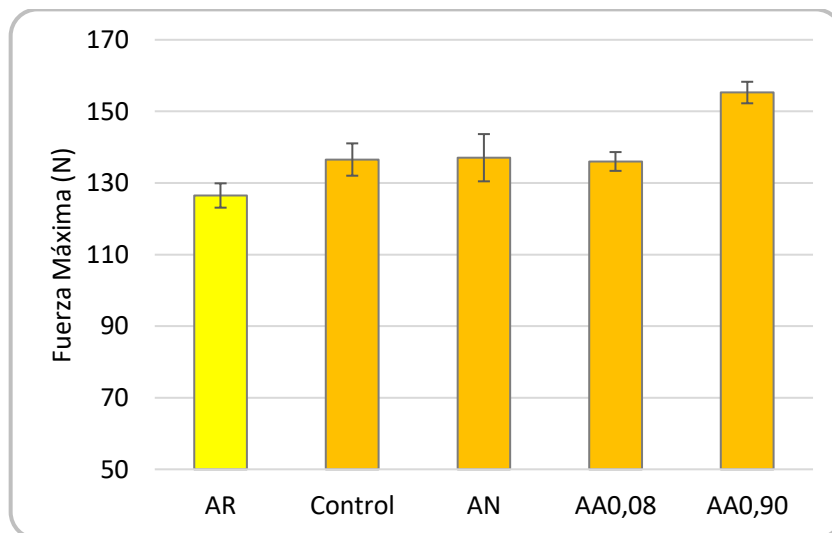


Figura 5.12: Fuerza máxima de fruta fresca antes de recubrir (AR) al día 0 y frutas: Control, recubrimiento con almidón nativo (AN), recubrimientos con almidón acetilado (GS=0,08) y (GS=0,90) a los 31 días de almacenamiento a 8°C

Se observa mayor firmeza en la fruta recubierta con almidón acetilado de mayor grado de sustitución (AA0,90) con diferencia significativa respecto a los demás recubrimientos y al control. Esto indicaría que el recubrimiento con AA0,90 logró retener la firmeza de las frutas de quinoto por una degradación más lenta de sus tejidos debido a la disminución de las actividades metabólicas y enzimáticas.

5.8.4 Variación del color

La aplicación de los recubrimientos no mostraron diferencias significativas ($p > 0,05$) en los valores de L^* y b^* luego de los 31 días de almacenamiento (Figura 5.13 y 5.15). Esto implica que no hubo cambios en la luminosidad y en la coloración amarilla de las superficies de los frutos. En cambio, con respecto al parámetro de color a^* se observó que hubo una ligera disminución tanto en la fruta sin recubrir como en las recubiertas, encontrándose diferencias significativas ($p < 0,05$) entre la fruta fresca (control) y las recubiertas con almidón acetilado luego del almacenamiento (Figura 5.14 y Tabla 5.5). Esto indica que las frutas se volvieron levemente menos rojizas.

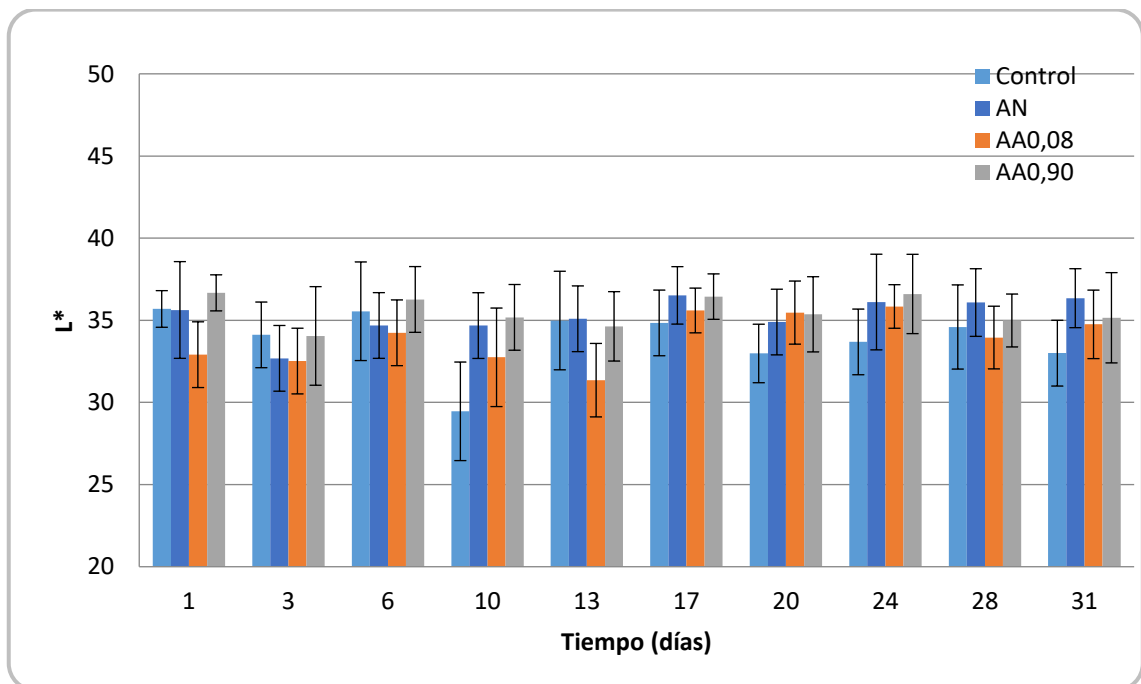


Figura 5.13: Evolución del parámetro L^* en frutas de quinoto sin recubrir (control) y recubiertas con AN, AA0,08 y AA0,90 durante el almacenamiento a 8°C

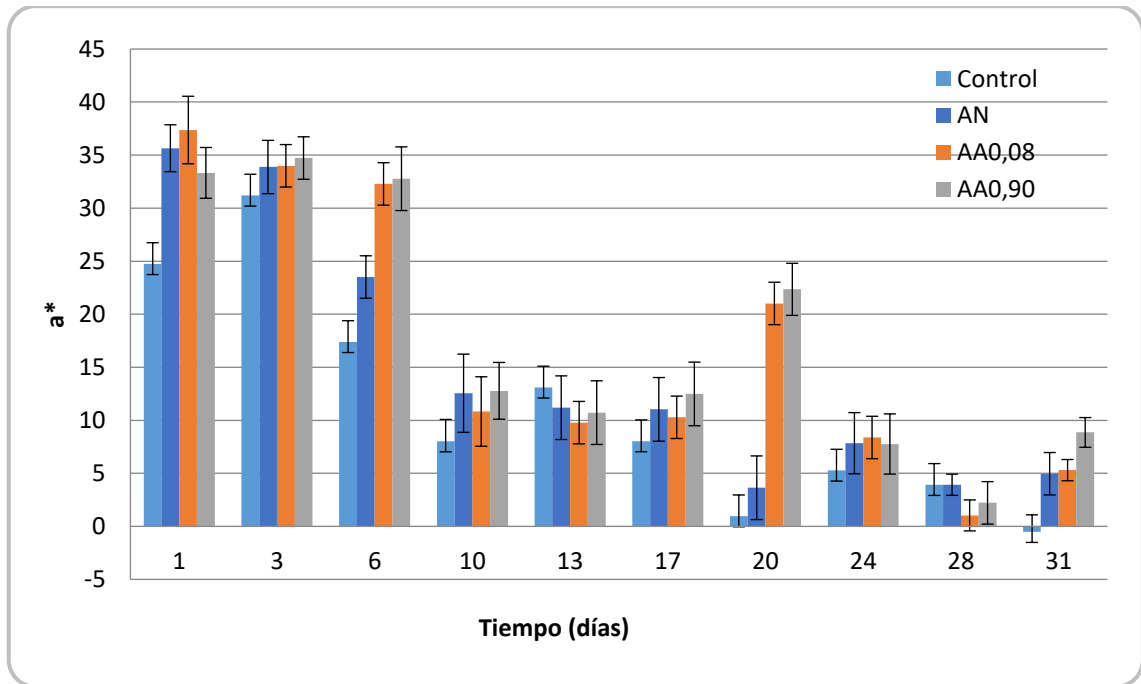


Figura 5.14: Evolución del parámetro a* en frutas de quinoto sin recubrir (control) y recubiertas con AN, AA0,08 y AA0,90 durante el almacenamiento a 8°C

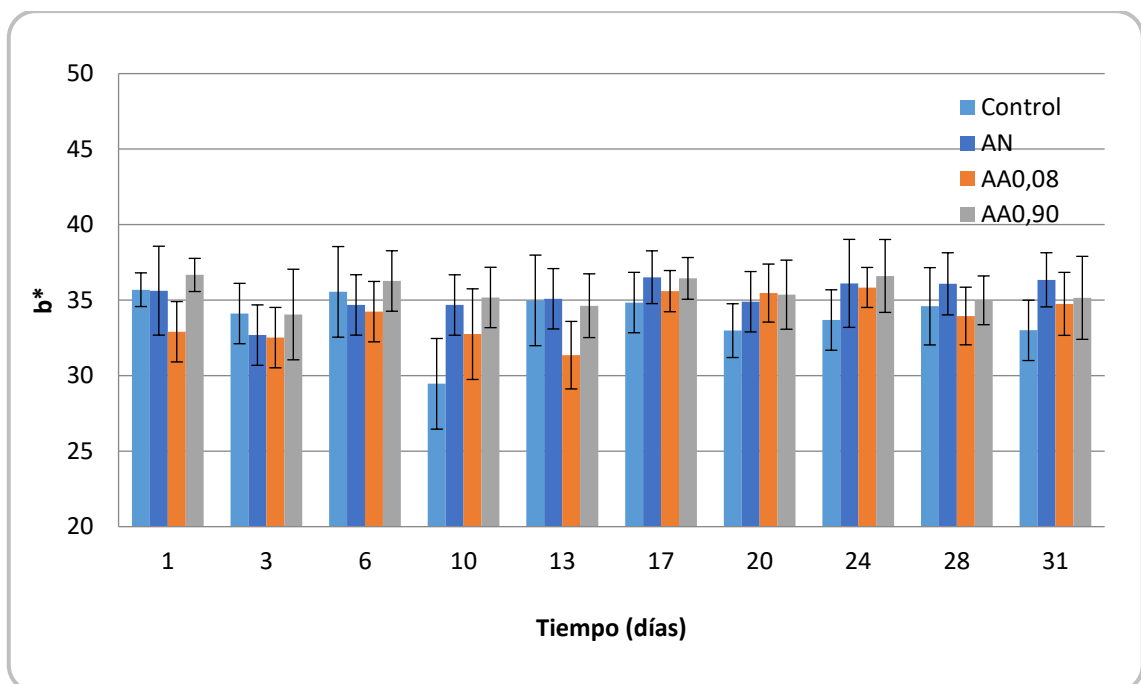


Figura 5.15: Evolución del parámetro b* en frutas de quinoto sin recubrir (control) y recubiertas con AN, AA0,08 y AA0,90 durante el almacenamiento a 8°C

Tabla 5.5: Valores promedio \pm Variación Standard del parámetro a^* de color de frutas de quinotos durante el almacenamiento

	a^*	
	Día 0	Día 31
Control	24,74 \pm 2,00aA	- 0,51 \pm 1,64aB
AN	35,65 \pm 2,21bA	4,96 \pm 2,03bB
AA0,08	37,36 \pm 3,18bA	5,30 \pm 1,00bB
AA0,90	33,32 \pm 2,39bA	8,86 \pm 1,49cB

*Las medias en la misma línea con diferentes letras mayúsculas indican que son significativamente diferentes (prueba de Tukey, $p < 0,05$).

**Las medias en la misma columna con diferentes letras minúscula indican que son significativamente diferentes (prueba de Tukey, $p < 0,05$).

En todas las muestras se observó que hubo un aumento en el ángulo Hue durante el almacenamiento (Tabla 5.6). Esto indica que en la fruta control y en las recubiertas se acercaron a una tonalidad más clara al finalizar el ensayo. De igual manera, se observó que hubo un aumento en el ΔE en mayor medida en las frutas recubiertas.

Tabla 5.6: Valores promedio \pm Variación Standard de los parámetros HUE, CHOMA y ΔE de color de quinotos durante el periodo de almacenamiento

Tratamientos	HUE		CHROMA		ΔE
	Día 0	Día 31	Día 0	Día 31	Día 31
Control	57,72 \pm 3,58a	86,70 \pm 1,77b	45,94 \pm 2,76a	41,54 \pm 2,29a	25,23 \pm 3,96
AN	44,54 \pm 3,75a	82,48 \pm 5,23b	50,79 \pm 1,43a	41,62 \pm 2,59b	31,89 \pm 4,08
AA0,08	39,97 \pm 3,03a	83,02 \pm 1,14b	49,02 \pm 1,76a	42,61 \pm 2,53b	35,29 \pm 3,86
AA0,90	47,71 \pm 2,14a	77,92 \pm 2,98b	49,52 \pm 2,00a	43,19 \pm 2,96b	28,42 \pm 4,43

*Las medias en la misma línea con diferentes letras indican que son significativamente diferentes (prueba de Tukey, $p < 0,05$).

Además, se observó una reducción significativa en el parámetro Chroma a lo largo del almacenamiento para todos los recubrimientos (Tabla 5.6). Sin embargo, no hubo una disminución significativa para la fruta sin recubrir. La reducción fue más pronunciada para las muestras recubiertas con almidón nativo. La disminución de este parámetro de color indicaría que las tonalidades de las frutas pasaron de colores vivos a tonalidades más grises o apagadas (Pomeranz y Meloan, 1994).

El efecto de recubrimientos comestibles sobre la conservación de color de las frutas también fue reportado por otros investigadores (Chien y col., 2007; García y col., 1998).

5.8.5 Ángulo de contacto y tensión superficial crítica

En la Tabla 5.7 se presentan los resultados de las mediciones del ángulo de contacto entre la superficie de las frutas de quinoto y de las películas respecto a las soluciones puras: agua, glicerol, etilenglicol, formamida y diiodometano. El ángulo de contacto con agua, glicerol y formamida de la superficie de las películas de AA fueron mayores que la de AN, indicando que las películas de acetato tienen menor afinidad al agua que las de almidón debido a que son más hidrofóbicas. Además, se observó que la superficie de quinoto presentó valores significativamente más elevados que las películas ($>70^\circ$), por lo tanto, su superficie es altamente hidrofóbica.

Tabla 5.7: Ángulo de contacto de las soluciones patrones sobre las superficies de quinotos y las películas

Muestras	Agua	Glicerol	Etilenglicol	Formamida	Di iodo metano
Quinotos	97,85±2,73	73,61±8,11	64,26±4,69	64,73±7,65	
Película AN	20,94±0,64	35,63±1,56		20,88±1,22	36,67±1,56
Película AA0,08	25,46±1,85	46,72±1,41		22,72±1,49	35,07±1,28
Película AA0,90	27,04±1,07	58,19±1,20		38,22±1,60	27,54±2,87

Teniendo en cuenta los valores de tensión superficial de los líquidos puros (Tabla 5.1) y los ángulos de contacto de las superficies, se obtuvieron las componentes polares y dispersivas mediante una regresión lineal. En la Figura 5.16 se presenta la regresión lineal correspondiente a la superficie del quinoto y en la Tabla 5.7, se presentan los valores de tensión superficial (γ_{sv}), tensión superficial crítica (γ_c) y las componentes polares (γ_s^p) y dispersivas (γ_s^d) del quinoto y las películas de almidón.

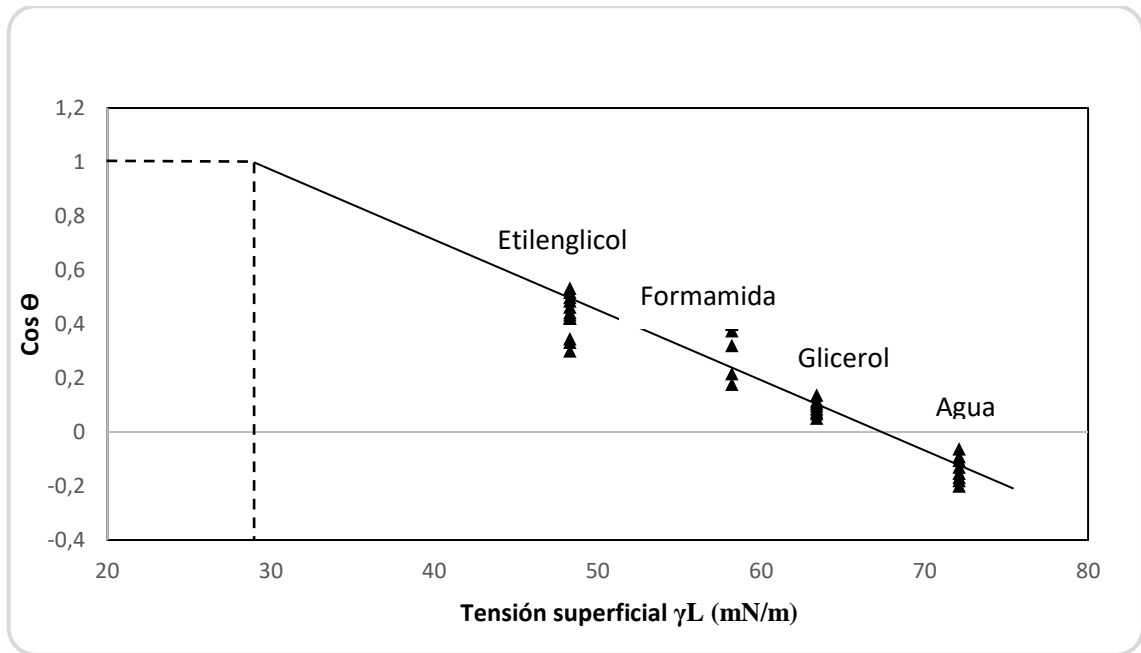


Figura 5.16: Regresión lineal para el cálculo de las tensiones superficiales del quínoto

Tabla 5.8: Tensión superficial crítica (γ_c), tensión superficial (γ_{sv}) y componentes polares (γ_{S^P}) y dispersivas (γ_{S^d}) de quínoto y películas de almidón

Muestras	γ_c (mN/m)	γ_{sv} (mN/m)	γ_{S^P} (mN/m)	γ_{S^d} (mN/m)
Quínoto	29,1881	31,52	0,67	30,85
Película AN	57,97	59,93	37,03	22,91
Película AA0,08	56,48	57,22	35,03	22,19
Película AA0,90	47,73	53,57	33,27	20,30

En todos los casos, las muestras estudiadas tienen superficies de baja energía (es decir, por debajo de 100 mN/m). Y además, los valores de la tensión superficial crítica γ_C son más bajos que los valores de tensión superficial de las mismas superficies. Esto está en concordancia con otros autores (Ribeiro y col., 2007).

La superficie del quínoto presentó el componente dispersivo más alto, indicando que posee mayor capacidad para participar en interacciones no polares. Esto también fue demostrado por Cerqueira y colaboradores (2009), quienes estudiaron en frutas de acerola, cajá, mango, pitanga y seriguela. Las componentes polares de estas frutas estuvieron comprendidas entre 1,47 y 4,59 mN/m y las componentes dispersas entre 23,59 y 27,86 mN/m. Estos autores atribuyeron a que una superficie con estas características interactúa con el líquido principalmente por las fuerzas de dispersión y que la naturaleza de estas

interacciones pueden influir en la difusión efectiva del recubrimiento sobre la superficie de los frutos, mediante la compatibilidad entre la polaridad de la superficie y del recubrimiento. Otros autores informaron valores de los componentes polares y dispersivos de la tensión superficial igual a 1,71 y 24,77 mN/m para mango, y 0,68 y 27,13 mN/m para manzana, respectivamente (Lima y col., 2010). Ribeiro y colaboradores (2007) midieron la tensión superficial en frutillas y obtuvieron valores de 28,94 mN/m, siendo sus componentes polares y dispersivos iguales a 5,95 y 22,99 mN/m, respectivamente. En todos los casos, las frutas indican que son superficies de baja energía.

Con respecto a las superficies de las películas, se observó que presentaron mayor componente polar, observándose valores más altos en las películas de almidón nativo, seguida por AA0,08. Mientras que AA0,90 presentó el valor más bajo. Por lo tanto, esto indicaría que la película con mayor grado de sustitución presenta menor capacidad para participar en interacciones polares.

De todas maneras, estos valores indican que las películas de almidón pueden interactuar con sustancias hidrofílicas e hidrofóbicas (Wong y col., 1992).

Slavutsky y Bertuzzi (2015) midieron las componentes polares y dispersivas en películas de almidón de mandioca y obtuvieron valores $\gamma_S^p = 36,10 \frac{mN}{m}$ y $\gamma_S^d = 16,38 \frac{mN}{m}$, siendo éstos similares a los reportados en la presente tesis.

En general, resulta que la superficie del quinoto presentó bajos valores del componente polar y por ende, valores altos del componente dispersivo, a diferencia de las superficies de las películas, que presentaron una mayor contribución del componente polar que el dispersivo. Con respecto a las películas, la de mayor GS presentó menor valor en su componente polar. Esto indicaría, que la película con mayor grado de sustitución presenta mayor capacidad para participar en interacciones apolares, es decir, que tendría mayor afinidad con la superficie del quinoto.

5.9 CONCLUSIONES

La aplicación de recubrimientos comestibles a partir del almidón de mandioca logró mantener la calidad de frutas de carambola mínimamente procesadas y quinotos enteros durante el periodo de almacenamiento. En ambas frutas se logró una reducción en la pérdida de peso y mejorar el aspecto general de las frutas. Sin embargo, también se evidenció la no viabilidad en la conservación de moras.

Los recubrimientos comestibles a base de almidón de mandioca ensayados lograron disminuir la pérdida de calidad de las frutas de carambola mínimamente procesadas. Se evidenció una mejora en la pérdida de peso en las frutas recubiertas respecto al control. Durante los primeros días de ensayo, no hubo diferencias significativas en la pérdida de peso entre los 3 recubrimientos aplicados. Al finalizar el almacenamiento, las frutas recubiertas al 4% de almidón fueron las que presentaron menor pérdida de peso, motivo por el que se eligió esa formulación para continuar con los ensayos siguientes. Además, las frutas recubiertas presentaron menor pérdida de sólidos solubles respecto a las frutas sin recubrir.

Las frutas que fueron recubiertas con las formulaciones al 4 y 5 % de almidón fueron las que a simple vista presentaron mejor aspecto al finalizar en ensayo, observándose una coloración nítida. Mientras que la fruta control, presentó un leve oscurecimiento debido a los procesos biológicos característicos de la maduración del fruto.

En frutas de quinoto, los recubrimientos con almidón nativo y acetilado lograron reducir la pérdida de peso durante el almacenamiento en refrigeración. Se observaron diferencias significativas entre la fruta sin recubrir y en las recubiertas, sin embargo, no hubo diferencias entre los distintos tratamientos. El recubrimiento con almidón nativo mejoró la apariencia de las frutas resultando en un mayor brillo. Mientras que los quinotos recubiertos con AA con mayor GS presentaron un aspecto más opaco. Se observó mayor firmeza en las frutas recubiertas con almidón acetilado de mayor grado de sustitución respecto a los demás recubrimientos y al control.

CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES GENERALES

Los resultados del presente trabajo de tesis permitieron aportar al conocimiento sobre el comportamiento de las propiedades de los almidones acetilados de mandioca con diferentes grados de sustitución en todo el rango soluble en medio acuoso.

La caracterización de los almidones acetilados permitió demostrar el comportamiento complejo de solubilidad, hinchamiento y opacidad de las pastas de almidón con la presencia de picos a determinados valores de GS, para cada parámetro, mostrando el efecto del fenómeno competitivo entre la apertura del gránulo (progresiva desintegración del mismo) y la sustitución de grupos OH por los grupos acetilos. Además, en todo el rango de GS, se verificó una disminución de la temperatura de gelatinización, siendo una interesante ventaja en el proceso de preparación de geles.

De este trabajo de tesis surge que fue viable obtener buenas películas a partir de almidón de mandioca sin modificar como así también de almidón acetilado.

Respecto a las propiedades mecánicas, se concluyó que películas de almidones acetilados con bajo GS presentaron fragilidad y alta tenacidad. En cambio, con GS más elevado, presentaron una significativa pérdida de la tensión de rotura con mayor elasticidad. Con respecto al plastificante, se observó que para concentraciones de glicerol entre 20 y 30% se produce una saturación de la matriz del almidón con el plastificante, demostrándose que a mayores concentraciones de plastificante las propiedades de las películas no mejoran significativamente.

Las películas de almidón acetilado con bajos GS fueron más transparentes que las de almidón sin sustituir, en cambio, a mayores GS se volvieron más opacas. En el mismo sentido, con el aumento del GS, se observó una mayor hidrofobicidad de las películas, con un significativo aumento del ángulo de contacto.

Por otra parte, se concluyó que con el aumento del GS de los almidones, las películas presentaron una mejor barrera al pasaje de humedad, concordantemente, las películas con bajo GS presentaron una superficie continua y homogénea, mientras que en las más sustituidas, su estructura fue rugosa, irregular y con algunas fisuras.

Respecto a la aplicación de los almidones de mandioca como recubrimientos comestibles en frutas, se concluyó que lograron disminuir la pérdida de calidad, tanto en frutas de carambola mínimamente procesadas, como así también en frutos enteros de quinoto. Se evidenció una menor pérdida de peso y sólidos solubles, mayor firmeza y mejoras en la apariencia global de las frutas recubiertas.

En nuestra provincia, la producción de mandioca representa una importante actividad agrícola, siendo el almidón el principal producto. Por lo tanto, el desarrollo de almidones modificados y sus diversas aplicaciones, impactaría de manera positiva en la economía regional.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC method 56-20, 1983. Hydration capacity of pregelatinized cereal products. In American Association of Cereal Chemists Approved Methods, eighth ed. The Association St. Paul, MN.

Aguirre A., Borneo R., Leóna A.E. (2013). Properties of triticale protein films and their relation to plasticizing–antiplasticizing effects of glycerol and sorbitol. *Industrial Crops and Products* 50, 297–303.

Aila-Suárez S., Palma-Rodríguez H.M., Rodríguez-Hernández A.I., Hernández-Uribe J.P., Bello-Pérez L.A., Vargas-Torres A. (2013) Characterization of films made with chayote tuber and potato starches blending with cellulose nanoparticles. *Carbohydrate Polymers* 98 102– 107.

Alves, V. D., Mali, S., Beléia, A., Grossmann, M. V. E. (2007). Effect of glycerol and amylose enrichment on cassava starch film properties. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 941–946. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.12.007>

Annisson, G., Illman, R. J., Topping, D. L. (2003). Acetylated, propionylated or butyrylated starches raise large bowel short-chain fatty acids preferentially when fed to rats. *The Journal of Nutrition*, 133(11), 3523–3528. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14608068>

Barco Hernández, P., Burbano Delgado, A., Mosquera Sánchez, S., Villada Castillo, H., Navia Porras, D. (2011). Efecto de recubrimiento a base de almidón sobre la maduración de la guayaba (*Psidium guajava*). *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustria*, 8(2), 96–103.

Bello-Pérez, L. A., Agama-Acevedo, E., Zamudio-Flores, P. B., Mendez-Montealvo, G., Rodríguez-Ambríz, S. L. (2010). Effect of low and high acetylation degree in the morphological, physicochemical and structural characteristics of barley starch. *LWT - Food Science and Technology*, 43(9), 1434–1440. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.04.003>

Bertuzzi, M. A., Armada, M., Gottifredi, J. C. (2007). Physicochemical characterization of starch based films. *Journal of Food Engineering*, 82(1), 17–25. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.12.016>

Bertuzzi, M. A., Castro Vidaurre, E. F., Armada, M., & Gottifredi, J. C. (2007). Water vapor permeability of edible starch based films. *Journal of Food Engineering*, 80(3), 972–978. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.07.016>

Bonacucina, G., Di Martino, P., Piombetti, M., Colombo, A., Roversi, F., Palmieri, G. F. (2006).

- Effect of plasticizers on properties of pregelatinised starch acetate (Amprac 01) free films. *International Journal of Pharmaceutics*, 313(1–2), 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.01.046>
- Cerqueira, M. A., Lima, Á. M., Teixeira, J. A., Moreira, R. A., Vicente, A. A. (2009). Suitability of novel galactomannans as edible coatings for tropical fruits. *Journal of Food Engineering*, 94(3–4), 372–378. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.04.003>
- Chen, G., Liu, B., Zhang, B. (2014). Characterization of composite hydrocolloid film based on sodium cellulose sulfate and cassava starch. *Journal of Food Engineering*, 125(1), 105–111. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.10.026>
- Chi, H., Xu, K., Wu, X., Chen, Q., Xue, D., Song, C., Zhang, W., Wang, P. (2008). Effect of acetylation on the properties of corn starch. *Food Chemistry*, 106(3), 923–928. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.002>
- Chien, P. J., Sheu, F., Yang, F. H. (2007). Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. *Journal of Food Engineering*, 78(1), 225–229. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.09.022>
- Chiumarelli, M., Ferrari, C. C., Sarantópoulos, C. I. G. L., Hubinger, M. D. (2011). Fresh cut Tommy Atkins mango pre-treated with citric acid and coated with cassava (*Manihot esculenta* Crantz) starch or sodium alginate. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12(3), 381–387. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2011.02.006>
- Colussi, R., Pinto, V. Z., El Halal, S. L. M., Vanier, N. L., Villanova, F. A., Marques E Silva, R., Da Rosa Zavareze, E., Dias, A. R. G. (2014). Structural, morphological, and physicochemical properties of acetylated high-, medium-, and low-amylose rice starches. *Carbohydrate Polymers*, 103(1), 405–413. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.12.070>
- Craig, S. A. S., Maningat, C. C., Seib, P. A., Hosney, R. C. (1989). Starch paste clarity. In *Cereal Chem* (Vol. 66, Issue 3, pp. 173–182). <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- De Almeida Meneghel, R. F., De Toledo Benassi, M., Yamashita, F. (2008). Revestimento comestível de alginato de sódio para frutos de amora-preta (*Rubus ulmifolius*). *Semina: Ciências Agrárias*, 29(3), 609–618. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2008v29n3p609>
- Diop, C. I. K., Li, H. L., Xie, B. J., Shi, J. (2011). Effects of acetic acid/acetic anhydride ratios on the properties of corn starch acetates. *Food Chemistry*, 126(4), 1662–1669. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.050>
- Fakhoury, F. M., Maria Martelli, S., Canhadas Bertan, L., Yamashita, F., Innocentini Mei, L. H.,

- Collares Queiroz, F. P. (2012). Edible films made from blends of manioc starch and gelatin - Influence of different types of plasticizer and different levels of macromolecules on their properties. *LWT - Food Science and Technology*, 49(1), 149–154. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.04.017>
- Falguera, V., Quintero, J. P., Jiménez, A., Muñoz, J. A., Ibarz, A. (2011). Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Science and Technology*, 22(6), 292–303. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.02.004>
- Famá, L., Goyanes, S., Gerschenson, L. (2007). Influence of storage time at room temperature on the physicochemical properties of cassava starch films. *Carbohydrate Polymers*, 70(3), 265–273. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.04.003>
- Ferreira Nogueira, G., Matta Fakhouri, F., de Oliveira, R. A. (2019). Incorporation of spray dried and freeze dried blackberry particles in edible films: Morphology, stability to pH, sterilization and biodegradation. *Food Packaging and Shelf Life*, 20(July 2018), 100313. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100313>
- Galdeano, M. C., Mali, S., Grossmann, M. V. E., Yamashita, F., García, M. A. (2009). Effects of plasticizers on the properties of oat starch films. *Materials Science and Engineering C*, 29(2), 532–538. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2008.09.034>
- Ghosh, S., Gnam, R., Greiserman, S., Fadeev, L., Gozin, M., Golberg, A. (2019). Macroalgal biomass subcritical hydrolysates for the production of polyhydroxyalkanoate (PHA) by *Haloferax mediterranei*. *Bioresource Technology*, 271, 166–173. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.09.108>
- Godbillot, L., Dole, P., Joly, C., Rogé, B., Mathlouthi, M. (2006). Analysis of water binding in starch plasticized films. *Food Chemistry*, 96(3), 380–386. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.02.054>
- Gol, N. B., Chaudhari, M. L., Rao, T. V. R. (2015a). Effect of edible coatings on quality and shelf life of carambola (*Averrhoa carambola* L.) fruit during storage. *Journal of Food Science and Technology*, 52(1), 78–91. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-0988-9>
- Gol, N. B., Chaudhari, M. L., & Rao, T. V. R. (2015b). Effect of edible coatings on quality and shelf life of carambola (*Averrhoa carambola* L.) fruit during storage. *Journal of Food Science and Technology*, 52(1), 78–91. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-0988-9>
- GONTARD, N., GUILBERT, S., CUQ, J. L. (1992). Edible Wheat Gluten Films: Influence of the Main Process Variables on Film Properties using Response Surface Methodology. *Journal of Food Science*, 57(1), 190–195. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1992.tb05453.x>

- Halal, S. L. M. El, Colussi, R., Pinto, V. Z., Bartz, J., Radunz, M., Carreo, N. L. V., Dias, A. R. G., Zavareze, E. D. R. (2015). Structure, morphology and functionality of acetylated and oxidised barley starches. *Food Chemistry*, 168, 247–256. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.046>
- Han, J. H. (2013). Edible Films and Coatings: A Review. In *Innovations in Food Packaging: Second Edition*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394601-0.00009-6>
- Hong, K., Xie, J., Zhang, L., Sun, D., Gong, D. (2012). Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of guava (*Psidium guajava* L.) fruit during cold storage. *Scientia Horticulturae*, 144, 172–178. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.07.002>
- Horvitz, S., Chanaguano, D., Arozarena, I. (2017). Andean blackberries (*Rubus glaucus* Benth) quality as affected by harvest maturity and storage conditions. *Scientia Horticulturae*, 226(March), 293–301. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.09.002>
- Joo, M., Lewandowski, N., Auras, R., Harte, J., Almenar, E. (2011). Comparative shelf life study of blackberry fruit in bio-based and petroleum-based containers under retail storage conditions. *Food Chemistry*, 126(4), 1734–1740. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.071>
- Khaliq, G., Muda Mohamed, M. T., Ali, A., Ding, P., Ghazali, H. M. (2015). Effect of gum arabic coating combined with calcium chloride on physico-chemical and qualitative properties of mango (*Mangifera indica* L.) fruit during low temperature storage. *Scientia Horticulturae*, 190, 187–194. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.04.020>
- Lago-Vanzela, E. S., do Nascimento, P., Fontes, E. A. F., Mauro, M. A., Kimura, M. (2013). Edible coatings from native and modified starches retain carotenoids in pumpkin during drying. *LWT - Food Science and Technology*, 50(2), 420–425. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.09.003>
- Larotonda, F. D. S., Matsui, K. N., Sobral, P. J. A., Laurindo, J. B. (2005). Hygroscopicity and water vapor permeability of Kraft paper impregnated with starch acetate. *Journal of Food Engineering*, 71(4), 394–402. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.11.002>
- Lawal, O. S. (2004). Composition, physicochemical properties and retrogradation characteristics of native, oxidised, acetylated and acid-thinned new cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) starch. *Food Chemistry*, 87(2), 205–218. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.11.013>
- Lima, Á. M., Cerqueira, M. A., Souza, B. W. S., Santos, E. C. M., Teixeira, J. A., Moreira, R. A., Vicente, A. A. (2010). New edible coatings composed of galactomannans and collagen blends to improve the postharvest quality of fruits - Influence on fruits gas transfer rate.

- Journal of Food Engineering*, 97(1), 101–109.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.09.021>
- López-Córdoba, A., Estevez-Areco, S., Goyanes, S. (2019). Potato starch-based biocomposites with enhanced thermal, mechanical and barrier properties comprising water-resistant electrospun poly (vinyl alcohol) fibers and yerba mate extract. *Carbohydrate Polymers*, 215(March), 377–387.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.03.105>
- Lopez-Rubio, A., Clarke, J. M., Ben Scherer, Topping, D. L., Gilbert, E. P. (2009). Structural modifications of granular starch upon acylation with short-chain fatty acids. *Food Hydrocolloids*, 23(7), 1940–1946. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.01.003>
- López, O. V., García, M. A., Zaritzky, N. E. (2008). Film forming capacity of chemically modified corn starches. *Carbohydrate Polymers*, 73(4), 573–581.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.12.023>
- López, O. V., Lecot, C. J., Zaritzky, N. E., García, M. A. (2011). Biodegradable packages development from starch based heat sealable films. *Journal of Food Engineering*, 105(2), 254–263. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.02.029>
- López, O. V., Zaritzky, N. E., García, M. A. (2010). Physicochemical characterization of chemically modified corn starches related to rheological behavior, retrogradation and film forming capacity. *Journal of Food Engineering*, 100(1), 160–168.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.03.041>
- Lourdin, D., Bizot, H., Colonna, P. (1996). "Antiplasticization " in Starch – Glycerol Films. ?Antiplasticization? in starch-glycerol films. *Journal of applied polymer science*, 63(8) , 1047–1053. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4628\(19970222\)63:8<1047::AID-APP11>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4628(19970222)63:8<1047::AID-APP11>3.0.CO;2-3)
- Mali, S., Grossmann, M. V. E. (2003). Effects of Yam Starch Films on Storability and Quality of Fresh Strawberries (*Fragaria ananassa*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(24), 7005–7011. <https://doi.org/10.1021/jf034241c>
- Mali, S., Grossmann, M. V. E., García, M. A., Martino, M. N., Zaritzky, N. E. (2006). Effects of controlled storage on thermal, mechanical and barrier properties of plasticized films from different starch sources. *Journal of Food Engineering*, 75(4), 453–460.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.04.031>
- Mali, S., Karam, L. B., Ramos, L. P., & Grossmann, M. V. E. (2004). Relationships among the composition and physicochemical properties of starches with the characteristics of their films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(25), 7720–7725.

<https://doi.org/10.1021/jf049225+>

- Masina, N., Choonara, Y. E., Kumar, P., du Toit, L. C., Govender, M., Indermun, S., Pillay, V. (2017). A review of the chemical modification techniques of starch. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1226–1236. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.09.094>
- Mbougueng, P. D., Tenin, D., Scher, J., Tchigang, C. (2012). Influence of acetylation on physicochemical, functional and thermal properties of potato and cassava starches. *Journal of Food Engineering*, 108(2), 320–326. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.08.006>
- Medina-Jaramillo, C., Ochoa-Yepes, O., Bernal, C., Famá, L. (2017). Active and smart biodegradable packaging based on starch and natural extracts. *Carbohydrate Polymers*, 176(May), 187–194. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.08.079>
- Mohamed, S. A. A., El-Sakhawy, M., El-Sakhawy, M. A.-M. (2020). Polysaccharides, Protein and Lipid -Based Natural Edible Films in Food Packaging: A Review. *Carbohydrate Polymers*, 116178. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116178>
- Myllärinen, P., Partanen, R., Seppälä, J., Forssell, P. (2002). Effect of glycerol on behaviour of amylose and amylopectin films. *Carbohydrate Polymers*, 50(4), 355–361. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(02\)00042-5](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(02)00042-5)
- López, O. V. (2011). Desarrollo, caracterización y aplicación de envases biodegradables a partir de almidón. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de la Plata.
- Nair, M. S., Saxena, A., Kaur, C. (2018). Effect of chitosan and alginate based coatings enriched with pomegranate peel extract to extend the postharvest quality of guava (*Psidium guajava* L.). *Food Chemistry*, 240(July 2017), 245–252. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.122>
- Nawab, A., Alam, F., Hasnain, A. (2017). Mango kernel starch as a novel edible coating for enhancing shelf- life of tomato (*Solanum lycopersicum*) fruit. *International Journal of Biological Macromolecules*, 103, 581–586. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.057>
- Nisperos-Carriedo, M., Baldwin, E., Shaw, P. (1991). Development of an edible coating for extending postharvest life of selected fruits and vegetables. *Proc. Fla. State Hort. Soc.*, 104, 122–125. <http://fshs.org/proceedings-o/1991-vol-104/122-125> (NISPEROS.pdf)
- Ojeda, G. A., Sgroppo, S. C., Zaritzky, N. E. (2014). Application of edible coatings in minimally processed sweet potatoes (*Ipomoea batatas* L.) to prevent enzymatic browning. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(3), 876–883. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12381>

- Oliveira, D. M., Kwiatkowski, A., Rosa, C. I. L. F., Clemente, E. (2012). Refrigeration and edible coatings in blackberry (*Rubus* spp.) conservation. *Journal of Food Science and Technology*, 51(9), 2120–2126. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0702-3>
- Olkku, J., Rha, C. K. (1978). Gelatinisation of starch and wheat flour starch-A review. *Food Chemistry*, 3(4), 293–317. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(78\)90037-7](https://doi.org/10.1016/0308-8146(78)90037-7)
- Osundahunsi, O. F., Seidu, K. T., Mueller, R. (2014). Effect of presence of sulphurdioxide on acetylation and sorption isotherm of acetylated starches from cultivars of cassava. *Food Chemistry*, 151, 168–174. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.020>
- Palma, A., & D'Aquino, S. (2018). Kumquat— *Fortunella japonica*. In *Exotic Fruits*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-803138-4.00035-6>
- Parra, D., Tadini, C., Ponce, P., Lugao, A. (2004). Mechanical properties and water vapor transmission in some blends of cassava starch edible films. *Carbohydrate Polymers*, 58(4), 475–481. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.08.021>
- Pellá, M. C. G., Silva, O. A., Pellá, M. G., Beneton, A. G., Caetano, J., Simões, M. R., Dragunski, D. C. (2020). Effect of gelatin and casein additions on starch edible biodegradable films for fruit surface coating. *Food Chemistry*, 309, 125764. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125764>
- Piñeros-Hernandez, D., Medina-Jaramillo, C., López-Córdoba, A., Goyanes, S. (2017). Edible cassava starch films carrying rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging. *Food Hydrocolloids*, 63, 488–495. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.09.034>
- Quirijns, E. J., Van Boxtel, A. J. B., Van Loon, W. K. P., Van Straten, G. (2005). Sorption isotherms, GAB parameters and isosteric heat of sorption. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(11), 1805–1814. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2140>
- Ribeiro, A. P. L. (2011). *Estudo dos amidos de mandioca nativo, modificados e modificados combinados por via química para utilização na indústria alimentícia*. 109.
- 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(1), 63–70. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.11.015>
- Rodriguez-Gonzalez, F. J., Ramsay, B. A., Favis, B. D. (2004). Rheological and thermal properties of thermoplastic starch with high glycerol content. *Carbohydrate Polymers*, 58(2), 139–147. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.06.002>
- Saberi, B., Golding, J. B., Marques, J. R., Pristijono, P., Chockchaisawasdee, S., Scarlett, C.

- J., Stathopoulos, C. E. (2018). Application of biocomposite edible coatings based on pea starch and guar gum on quality, storability and shelf life of 'Valencia' oranges. *Postharvest Biology and Technology*, 137(November 2017), 9–20. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.11.003>
- Shogren, R. L. (2003). Rapid preparation of starch esters by high temperature/pressure reaction. *Carbohydrate Polymers*, 52(3), 319–326. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(02\)00305-3](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(02)00305-3)
- Singh, J., Kaur, L., McCarthy, O. J. (2007). Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications-A review. *Food Hydrocolloids*, 21(1), 1–22. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.02.006>
- Singh, N., Chawla, D., Singh, J. (2004). Influence of acetic anhydride on physicochemical, morphological and thermal properties of corn and potato starch. *Food Chemistry*, 86(4), 601–608. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.10.008>
- Singh, N., Singh, J., Kaur, L., Sodhi, N. S., Gill, B. S. (2003). Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chemistry*, 81(2), 219–231. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00416-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00416-8)
- Sjöqvist, M., Gatenholm, P. (2005). The effect of starch composition on structure of foams prepared by microwave treatment. *Journal of Polymers and the Environment*, 13(1), 29–37. <https://doi.org/10.1007/s10924-004-1213-8>
- Slavutsky, A. M., Bertuzzi, M. A. (2012). A phenomenological and thermodynamic study of the water permeation process in corn starch/MMT films. *Carbohydrate Polymers*, 90(1), 551–557. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.05.077>
- Slavutsky, A. M., Bertuzzi, M. A. (2014). Water barrier properties of starch films reinforced with cellulose nanocrystals obtained from sugarcane bagasse. *Carbohydrate Polymers*, 110, 53–61. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.03.049>
- Slavutsky, A. M., Bertuzzi, M. A. (2015). Formulation and characterization of nanolaminated starch based film. *LWT - Food Science and Technology*, 61(2), 407–413. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.12.034>
- Sodhi, N. S., Singh, N. (2005). Characteristics of acetylated starches prepared using starches separated from different rice cultivars. *Journal of Food Engineering*, 70(1), 117–127. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.09.018>
- Tabassum, N., Khan, M. A. (2020). Modified atmosphere packaging of fresh-cut papaya using alginate based edible coating: Quality evaluation and shelf life study. *Scientia*

- Horticulturae*, 259(March 2019), 108853. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108853>
- Teixeira, G. H A, Durigan, J. F., Alves, R. E., O'Hare, T. J. (2010). Use of modified atmosphere to extend shelf life of fresh-cut carambola (*Averrhoa carambola* L. cv. Fwang Tung). *Acta Horticulturae*, 864, 329–336. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.11.007>
- Teixeira, Gustavo H A, Durigan, J. F., Alves, R. E., O'Hare, T. J. (2008). Response of minimally processed carambola to chemical treatments and low-oxygen atmospheres. *Postharvest Biology and Technology*, 48(3), 415–421. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.08.011>
- Teixeira, Gustavo H A, Durigan, J. F., Ferraudo, A. S., Alves, R. E., O'Hare, T. J. (2012). Multivariate analysis of fresh-cut carambola slices stored under different temperatures. *Postharvest Biology and Technology*, 63(1), 91–97. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.09.005>
- Teodoro, A. P., Mali, S., Romero, N., De Carvalho, G. M. (2015). Cassava starch films containing acetylated starch nanoparticles as reinforcement: Physical and mechanical characterization. *Carbohydrate Polymers*, 126, 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.03.021>
- Thakur, R., Pristijono, P., Golding, J. B., Stathopoulos, C. E., Scarlett, C. J., Bowyer, M., Singh, S. P., Vuong, Q. V. (2018). Development and application of rice starch based edible coating to improve the postharvest storage potential and quality of plum fruit (*Prunus salicina*). *Scientia Horticulturae*, 237(April), 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.04.005>
- Thakur, Rahul, Pristijono, P., Bowyer, M., Singh, S. P., Scarlett, C. J., Stathopoulos, C. E., Vuong, Q. V. (2019). A starch edible surface coating delays banana fruit ripening. *Lwt*, 100, 341–347. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.055>
- Travalini, A. P., Lamsal, B., Magalhães, W. L. E., Demiate, I. M. (2019). Cassava starch films reinforced with lignocellulose nanofibers from cassava bagasse. *International Journal of Biological Macromolecules*, 139, 1151–1161. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.115>
- Valera, A., Materano, W., Maffei, M., Zambrano, I. Q. J. (2011). Uso de recubrimientos comestibles y baja temperatura para mantener la calidad de frutos de mango ' Bocado ' durante el almacenamiento Use of edible coatings and low temperature for keeping the quality on storage of mango ' Bocado ' fruit Introducción. *Revista de La Facultad de Agronomía LUZ*, 600–608.
- Van de Velde, F., Méndez-Galarraga, M. P., Pirovani, M. É. (2020). Effect of enriched O₂ and

- CO₂ atmospheres on the overall quality and the bioactive potential of fresh blackberries. *Postharvest Biology and Technology*, 164(January), 111166. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111166>
- Vilaplana, R., Guerrero, K., Guevara, J., Valencia-Chamorro, S. (2020). Chitosan coatings to control soft mold on fresh blackberries (*Rubus glaucus* Benth.) during postharvest period. *Scientia Horticulturae*, 262(September 2019), 109049. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109049>
- Weber, C. J. (2000). *Biobased packaging materials for the food industry: status and perspectives: a european concerted action* (Issue November). <https://books.google.com.co/books?id=W9OQAAAACAAJ>
- Wu, S. (2019). Extending shelf-life of fresh-cut potato with cactus *Opuntia dillenii* polysaccharide-based edible coatings. *International Journal of Biological Macromolecules*, 130, 640–644. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.022>
- Xu, Y., Miladinov, V., Hanna, M. A. (2004). This article is from the November-December 2004 issue of published by the American Association of Cereal Chemists , Inc . Synthesis and Characterization of Starch Acetates with High Substitution 1. *Cereal Chemistry*, 81(December), 735–740.
- Xu, Y. X., Dzenis, Y., Hanna, M. A. (2005). Water solubility, thermal characteristics and biodegradability of extruded starch acetate foams. *Industrial Crops and Products*, 21(3), 361–368. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2004.05.004>
- Zhao, K., Li, B., Xu, M., Jing, L., Gou, M., Yu, Z., Zheng, J., Li, W. (2018). Microwave pretreated esterification improved the substitution degree, structural and physicochemical properties of potato starch esters. *LWT - Food Science and Technology*, 90(September 2017), 116–123. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.021>

INFORMACION COMPLEMENTARIA

8. INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

8.1 RECOMENDACIONES PARA TRABAJOS FUTUROS

A partir de los resultados obtenidos en la presente tesis, se consideran los siguientes temas para futuras investigaciones:

- Utilizar los acetatos de almidón de mandioca como soporte de una matriz biopolimérica para el desarrollo de películas y recubrimientos comestibles activos. Resulta interesante la incorporación de antimicrobianos naturales, con el objetivo de mejorar la conservación de frutas mínimamente procesadas, y la evaluación de la liberación del componente activo.
- Debido a problemática ambiental causada por la contaminación de los plásticos, se podría investigar el uso del almidón de mandioca y derivados como sustituto natural para el desarrollo de envases por extrusión-soplado y extrusión-termoformado.

8.2 PRODUCCIONES CIENTIFICAS

Parte de los resultados obtenidos en este trabajo de tesis doctoral han sido publicados en los siguientes trabajos:

Publicaciones en revistas

- Trela, Valeria D.; Ramallo, Ana L.; Albani, Oscar A. (2020). “Synthesis and Characterization of Acetylated Cassava Starch with Different Degrees of Substitution”. Brazilian Archives of Biology and Technology. Vol: 63, ISSN 1678-4324 Online Edition.

Publicaciones en congresos

- Trela, Valeria D., Albani, Oscar A., Ramallo, Laura A. (2014). “Aplicación de recubrimientos de almidón de mandioca para la conservación de frutas de carambola”. Actas del V Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CICYTAC) – Córdoba – Argentina ISBN 978-987-45738-8-9. Trabajo completo y póster.
- Trela Valeria D., Albani, Oscar, Ramallo, Laura A. (2015). “Efecto del plastificante en películas comestibles de almidón de mandioca”. Libro de resúmenes IX Jornadas de Investigación Científico-Tecnológicas de la FCEQyN – UNaM. ISBN 978-950-766-112-9. Pág. 330. Resumen y poster.
- Trela, Valeria D., Kachuk Leonardo L., Albani, Oscar A., Ramallo, Laura A. (2016). “Recubrimiento de almidón de mandioca nativo y acetilado para la conservación de frutas de quinoto (kumquat)”. Actas del VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CICYTAC) – Córdoba – Argentina. ISBN 978-987-45380-0-0. Resumen y poster.
- Trela, Valeria D., Ramallo, Laura A., Albani, Oscar. (2018). “Obtención y caracterización de películas a partir de almidón de mandioca nativo y acetilado de bajo grado de sustitución”. Libro de resúmenes VIII Jornadas Científico-Tecnológicas UNaM. Posadas, Misiones, Argentina. ISBN 978-950-579-495-9. Resumen y poster.
- Trela, Valeria D., Ramallo, Laura A., Albani, Oscar. (2018). “Efecto del grado de sustitución en las propiedades del almidón de mandioca”. Libro de resúmenes VIII Jornadas Científico-Tecnológicas UNaM. Posadas, Misiones, Argentina. ISBN 978-950-579-495-9. Resumen y poster.

- Trela, Valeria D., Albani, Oscar A., Ramallo, Laura A. (2018). “Influencia del grado de sustitución del almidón de mandioca acetilado en las características de las películas resultantes”. Actas del VII Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CICYTAC) – Córdoba – Argentina. ISBN 978-987-45380-9-3. Resumen y poster.

8.3 PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN DENTRO DE LOS CUALES SE DESARROLLÓ LA TESIS

- DESARROLLO Y APLICACION DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES A BASE DE ALMIDON DE MANDIOCA NATIVO Y ACETILADO PARA PRESERVAR LA CALIDAD DE FRUTAS TROPICALES- FCEQyN- UNaM
Fecha: 01-2015 al 12-2017
Director: Albani Oscar A. Co-director: Ramallo Laura A.

- DESARROLLO Y CARACTERIZACION DE BOLSAS Y ENVASES FLEXIBLES BIODEGRADABLES A PARTIR DE ALMIDON DE MANDIOCA- FCEQyN- UNaM
Fecha: 01-2019 al 12-2020
Director: Albani Oscar A. Co-director: Ramallo Laura A.

- DESARROLLO DE MATERIALES COMPUESTOS BASADOS EN BIOPOLIMEROS DE FUENTES REGIONALES Y ADITIVOS NANOESTRUCTURADOS- Proyecto de Unidad Ejecutora. IMAM-CONICET-UNaM
Fecha: 12-2018 al 12-2023
Director: Area María Cristina

8.4 BECA OBTENIDA EN EL DESARROLLO DE LA TESIS

Beca Interna Doctoral

Institución: Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Tema: "Preservación de frutas tropicales (quinoto, mora y carambola) aplicando recubrimientos comestibles y atmósferas modificadas"

Resolución N°: 4358

Directora: Dra. Laura A. Ramallo.

Co-Director: Dr. Oscar A. Albani

Lugar de trabajo: Instituto de Materiales de Misiones (UNaM-Conicet)

Fecha de inicio: 01/04/2013

Finalización: 31/03/2018

8.5 ANEXOS

ANEXO I: Capítulo IX- CAA - Almidón

Artículo 674 - (Dec. 112, 12.1.76)

"Con la denominación de Almidón o Fécula (según corresponda), se entiende la materia orgánica que en forma de gránulos se encuentran en los corpúsculos especiales incluidos en el protoplasma de células vegetales en la etapa de la maduración. La denominación de Almidón corresponderá a los gránulos que se encuentran en los órganos aéreos de las plantas, y la de Fécula, a los que se encuentran en las partes subterráneas (raíces, tubérculos, rizomas). El almidón y la fécula deberán cumplimentar las siguientes condiciones:

- a) Por hidrólisis total o enzimática deberán producir dextrosa como único glúcido.
- b) La morfología de los gránulos será variable de acuerdo al vegetal de origen y al examen microscópico con luz polarizada; presentarán la birrefringencia típica.
- c) Se presentarán en forma de polvo fino o grumos friables.
- d) Humedad a 100°-105°C, Máx: 15% e) Cenizas a 500°-550°C, Máx: 0,5%
- f) Nitrógeno total (en N), Máx: 0,15%
- g) Grasas, Máx: 0,15%
- h) Celulosa, Máx: 0,30%
- i) Acidez (en ml.sol. 0,1 N), Máx: 5,00%
- j) Anhídrido sulfuroso total, Máx: 80 mg/kg (80 ppm) Arsénico (como As), Máx: 3 mg/kg (3 ppm) Plomo (como Pb), Máx: 5 mg/kg (5 ppm) Metales pesados, como Pb, Máx: 40 mg/kg (40 ppm) Como excepción queda permitido para las féculas un contenido de humedad de hasta el 18,0%. En un mismo envase no se admitirán almidones o féculas de distintos vegetales. Este producto se rotulará: Almidón o Fécula (según corresponda), pudiendo indicarse el vegetal de origen. La fécula de papa podrá rotularse: Chuño.

ANEXO II: Capítulo XVIII- CAA – Almidones modificados

ALMIDONES MODIFICADOS (Res 101, 8.8.75)

Se presentarán en forma de polvo, grumos o laminillas friables; de color blanco o casi blanco; sin olor ni sabor; insolubles en alcohol, éter, cloroformo Las formas no gelificadas son prácticamente insolubles en agua, pero las demás la absorben cuando se encuentran en suspensión acuosa fría y gelifican cuando se calientan entre 45° y 80°C Cumplimentarán las siguientes condiciones:

- a) Humedad a 100-105°C: almidones, máx: 15,0%; féculas, máx: 21,0%
- b) cenizas a 500-550°C , máx: 2,0%
- c) N total x 6,25, máx 0,5%
- d) Grasas (extrac. CCl4) máx 0,15%
- e) Anhídrido sulfuroso total, máx 80 mg/kg
- f) Residuos de los agentes de tratamiento en las cantidades que se establecen en cada caso Los almidones podrán ser modificados por algunos de los tratamientos siguientes:
 - 1. Por medio del HCl y/o H₂SO₄
 - 2. Blanqueado por uno o más de los siguientes:
 - a) 0,45% máx de oxígeno activo procedente de peróxido de hidrógeno o ácido peracético
 - b) Persulfato de amonio, máx 0,075% y bióxido de azufre, máx 0,05%
 - c) Cloro como hipoclorito de sodio, máx 0,819% sobre almidón seco
 - d) Permanganato de potasio, máx 0,2%
 - e) Clorito de sodio, máx 0,5%. Residuos de manganeso, como Mn), máx 50 ppm
 - 3. Oxidado por:
 - a) Cloro como hipoclorito de sodio, máx: 5,5% sobre almidón seco
 - 4. Esterificado por:
 - a) Anhídrido acético. Residuo en el almidón modificado, máx: 2,5% de grupos acetilo
 - b) Anhídrido adípico, máx: 0,12% y anhídrido acético. Residuo en el almidón modificado, máx: 2,5% de grupos acetilo
 - c) O-fosfato monosódico. Residuo en el almidón modificado, máx: 0,4% de fosfatos como P
 - d) Anhídrido octenil-succínico, máx: 3%
 - e) Anhídrido octenil-succínico, máx: 2% y sulfato de aluminio, máx: 2%
 - f) Oxidocloruro de fósforo, máx: 0,1%, trimetafosfato de sodio. Residuo en el almidón modificado, máx: 0,04% de fosfatos como P
 - g) Tripolifosfato de sodio y trimetafosfato de sodio. Residuo en el almidón modificado, máx: 0,4% de fosfatos como P.

5. Eterificado por:

a) Acroleína, máx: 0,6%

b) Epiclorhidrina, máx: 0,3%

c) Epiclorhidrina, máx: 0,1% y óxido de propileno, máx: 10%. Residuo en el almidón modificado, máx: 5 mg por mil de clorhidrinpropileno

d) Oxido de propileno, máx: 25%. Residuo en el almidón modificado, máx: 5 mg por mil.

6. Eterificado y esterificado por:

a) Acroleína, máx: 0,6% y acetato de vinilo, máx: 7,5%. Residuo en el almidón modificado: 2,5% de grupos acetilo

b) Epiclorhidrina, máx: 0,3% y anhídrido acético. Residuo en el almidón modificado, máx: 2,5 de grupos de acetilo

c) Epiclorhidrina, máx: 0,3% y anhídrido succínico, máx: 4%

d) Oxicloruro de fósforo, máx: 0,1% y óxido de propileno, máx: 10%. Residuo en el almidón modificado: 5 mg por mil de clorhidrinpropileno

7. Eterificado y oxidado por: Cloro como hipoclorito de sodio, máx: 5,5% sobre almidón seco; oxígeno activo obtenido de peróxido de hidrógeno, máx: 0,45%; óxido de propileno, máx: 25%. Residuo en el almidón modificado, máx: 5 mg por mil de clorhidrinpropileno.

8. Gelatinizado por:

a) Hidróxido de sodio, máx: 1%.

Espesante, Estabilizante - FAO/OMS/FCC

ANEXO III: Informe de Re-evaluación de los derivados de almidón. Autoridades europeas de seguridad alimentaria.

EFSA Journal. 22 de junio de 2017.

Re-evaluation of oxidised starch (E 1404), monostarch phosphate (E 1410), distarch phosphate (E 1412), phosphated distarch phosphate (E 1413), acetylated distarch phosphate (E 1414), acetylated starch (E 1420), acetylated distarch adipate (E 1422), hydroxypropyl starch (E 1440), hydroxypropyl distarch phosphate (E 1442), starch sodium octenyl succinate (E 1450), acetylated oxidised starch (E 1451) and starch aluminium octenyl succinate (E 1452) as food additives

4.1.6. Acetylated starch (E 1420)

In vitro studies

Digestibility of acetylated starches (not further specified) by fungal amyloglucosidase was shown to be 68–81% of that of native starch (Kruger, 1970; unpublished report, cited in JECFA, 1982f). The digestibility of various potato starches, including unmodified starch and starch acetate (modified to 1.98% acetyl content) was compared by using incubation (5 h) with pancreatin, in combination with porcine mucosal enzymes (Documentation provided to EFSA n. 15). The starch acetate showed a lower in vitro digestibility (90%, no information on statistical significance) when compared to the unmodified potato starch used as a control. Acetylated starch (Fielders Pty Ltd., Australia, DS 0.07) was hydrolysed with porcine pancreatic α -amylase (about 0.4 mg) for 1 h (Wootton and Chaudhry, 1979). The digestibility was estimated by increase in reducing power and by decrease in the ratio of spectrophotometric absorbance of digested to undigested starches (blue value). The digestibility of acetylated starch after 60 min was 70.5 0.8% compared to 81.3 0.6% for unmodified wheat starch used as control.

In vivo studies

Caloric value was determined in groups of 10 male rats fed for 4 weeks a diet supplemented with graded doses of 0, 1.5, 3.0, 4.5 and 6.0 g dextrose (equivalent to 0, 6, 12, 18 and 24 calories) (Oser, 1961a; cited in JECFA, 1982f). The dose–response curve was used to estimate the caloric value of supplements of 3 and 4.5 g of acetylated (1.8% acetyl) or native starch. No significant difference was found between the starch samples with regard to caloric value. Preliminary to in vivo studies, the digestibility of an acetylated starch containing 2.5% acetyl groups ('type 2.5–0.20') was measured by the biochemical oxygen demand (BOD) of samples incubated with bacteria or fungal amyloglucosidase (Documentation provided to EFSA n. 16). An increase of the acetyl content corresponded to decreased BOD values and

decreased digestibility. Starch acetate was only 93.7% as digestible as native starch. In a first in vivo experiment, the effect of varying the degrees of acetylation and cross-linking of native starch on the weight gain, feed efficiency, caecal weight and incidence of diarrhoea was measured in male weanling rats during 28 days of feeding. Acetylated starch containing 2.6% acetyl groups had no significant effect on feed efficiency or rate of survival, but slightly reduced the rate of weight gain. The observed caecal enlargement and diarrhoea were not accompanied by tissue damage or inflammation. In another in vivo experiment in rats, the relative digestibilities and caloric values of various acetylated starches (0.46, 1.77, 2.20 and 3.50 acetyl groups) were compared to those of native starch. The results of this experiment indicated that the Re-evaluation of modified starches as food additives www.efsa.europa.eu/efsajournal 54 EFSA Journal 2017;15(10):4911 relative digestibilities and caloric values of native and acetylated starches were essentially equivalent under the conditions used in the experiment. The author concluded that 'acetylated starch type 2.5–0.20, which represents the highest degree of acetylation and cross-linking requested in this application, can be used safely as a complete replacement for native starch in human foods. Although it appears to digest somewhat more slowly than native starch, their relative digestibilities and caloric values are essentially equivalent. It causes no observable tissue damage or irritation.' Annisson et al. (2003) described experiments in rats to determine whether feeding of starches acylated with acetate, propionate or butyrate could elevate SCFA concentrations in the large bowel. In this study, maize starch was acylated with acetic anhydride to produce the corresponding acetylated starch (DS of ~ 0.18). Body weight gain did not differ between rats fed acetylated starch or a control starch for 14 days. Large bowel pH was significantly lower and digesta mass significantly higher throughout the large bowel in rats fed the acylated starches. Caecal and distal colonic starch averaged 12 mg in rats fed the control starch and 103 mg in rats fed acetylated starch, respectively. Large bowel SCFA concentrations and pools were significantly higher in rats fed acetylated starch. In the caecum, acetate, propionate and butyrate pools were 280% higher in rats fed the acetylated starch than in those fed the control diet. In the distal colon, the corresponding increase was 320%. These data indicated that acetylated starches are resistant starches (RS) and raise large bowel SCFA concentrations, apparently through bacterial release of the esterified fatty acid and fermentation of the residual starch.

Human studies

The excretion of starch and esterified SCFA by ileostomy subjects after ingestion of acylated starches was described by Clarke et al. (2007). The aim of the study was to determine whether cooked, highly acylated starches were resistant to small intestine digestion in ileostomy volunteers. Volunteers consumed single doses of custards containing 20 g cooked

acetylated, propionylated or butyrylated high-amylose maize starches (HAMSA, HAMSP and HAMSB, respectively) on each collection day. The amounts of starch and of esterified SCFA ingested and subsequently excreted in the stoma effluent were measured. Custards containing unacylated high-amylose maize starch (Hylon VII, HAMS) and low-amylose maize starch (3401C, LAMS) were consumed as controls. 73.9% of the esterified SCFA survived small intestine digestion, which showed the potential of acetylated starches to deliver specific SCFA to the large bowel. The resistance of starches to small intestine digestion, as measured by ileal excretion, was significantly greater for HAMSA, HAMSP, HAMSB and HAMS than for LAMS. The concentration of acetate in stoma digesta was higher than expected in all groups; this additional acid may have been derived from endogenous sources. The authors concluded that 'acylated starches are a potentially effective method of delivering significant quantities of specific SCFA to the colon in humans.

ANEXO IV: Solubilidad de almidones

Tabla 8.1: Solubilidad en agua de almidón nativo y acetilados con diferentes grados de sustitución a distintas temperaturas

Temp Muestras	50°C	60°C	70°C	80°C	90°C
AN	0,758	1,380	3,971	10,900	9,542
	0,749	1,280	3,762	11,722	9,629
AA_{0,03}	1,326	2,086	7,032	9,243	11,853
	1,429	2,051	6,307	9,429	11,377
AA_{0,08}	5,352	8,691	8,050	10,903	4,807
	4,657	8,542	8,922	10,017	4,584
AA_{0,20}	5,702	7,948	4,079	6,343	6,798
	5,633	7,821	5,537	6,233	7,949
AA_{0,43}	5,070	7,314	8,886	4,115	11,132
	5,730	8,005	9,881	3,444	10,616
AA_{0,72}	27,165	22,804	22,735	22,454	26,138
	26,771	21,801	22,596	20,332	26,336
AA_{0,88}	21,518	18,583	10,899	16,099	17,402
	20,258	18,185	12,755	16,053	17,690
AA_{1,04}	14,872	20,127	13,073	15,831	22,779
	13,122	20,790	14,089	15,926	23,216
AA_{1,28}	16,083	21,112	6,839	7,038	6,687
	15,147	20,023	7,048	6,889	6,600
AA_{1,36}	8,765	9,034	4,569	4,930	3,875
	8,379	5,209	4,114	4,448	3,783

ANEXO V: Poder de hinchamiento de almidones

Tabla 8.2: Poder de hinchamiento de almidón nativo y acetilados con diferentes grados de sustitución a distintas temperaturas

Temp Muestras	50°C	60°C	70°C	80°C	90°C
AN	2,424	3,617	8,387	29,768	34,103
	2,666	3,762	9,273	29,564	32,824
AA_{0,03}	4,003	5,291	13,319	28,038	34,678
	4,140	5,701	13,103	31,928	33,824
AA_{0,08}	9,530	15,521	36,330	39,458	43,020
	8,894	16,679	33,438	41,178	41,921
AA_{0,20}	17,612	22,020	42,888	42,154	44,810
	16,112	21,109	45,641	38,506	39,912
AA_{0,43}	7,715	10,895	14,405	13,222	14,711
	8,088	10,878	14,237	12,823	14,589
AA_{0,72}	10,195	12,215	13,715	12,815	12,078
	10,299	11,876	13,418	11,987	12,029
AA_{0,88}	8,203	9,460	9,857	9,393	8,352
	8,420	9,438	10,360	9,609	8,665
AA_{1,04}	8,972	7,620	9,611	8,741	7,896
	9,129	7,582	9,815	8,302	8,255
AA_{1,28}	7,783	6,622	6,991	5,983	6,617
	7,287	6,494	6,918	6,322	6,642
AA_{1,36}	5,877	4,987	5,673	4,763	5,072
	6,120	4,796	5,767	4,656	5,112

ANEXO VI: Solubilidad de películas obtenidas a partir de almidón acetilado puro y mezclas (50:50) con almidón nativo

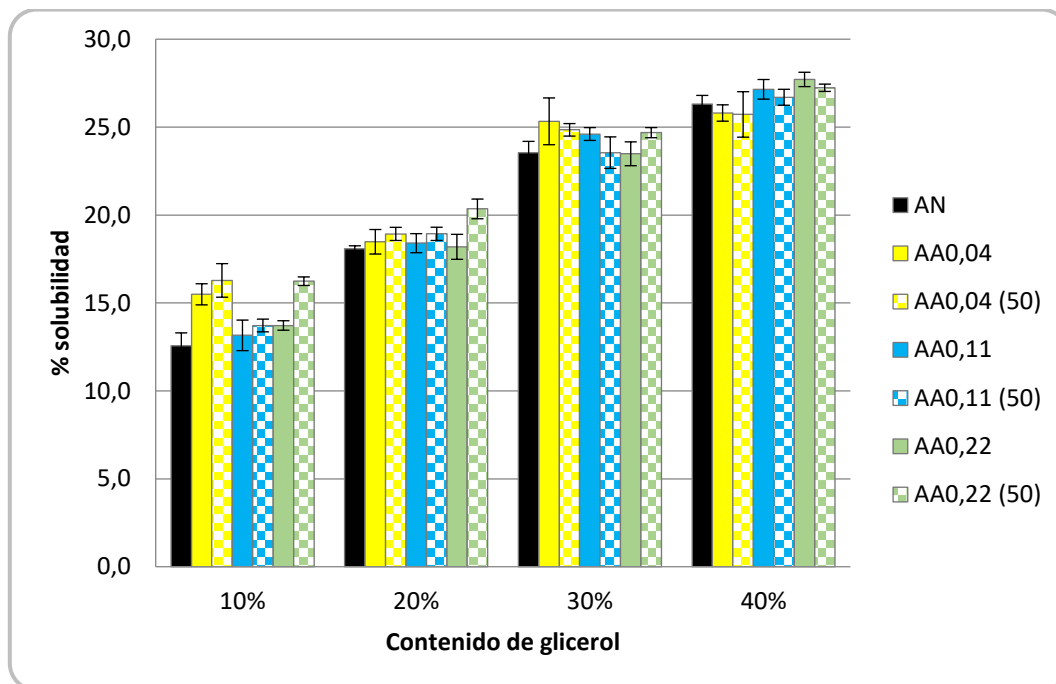


Figura 8.1: Viscosidad de las pastas de almidón nativo (AN) y almidones acetilados (AA0,04; AA0,08 y AA0,20)

ANEXO VII: Medidas del ángulo de contacto de películas medidas del lado expuesto al aire y del lado de la placa

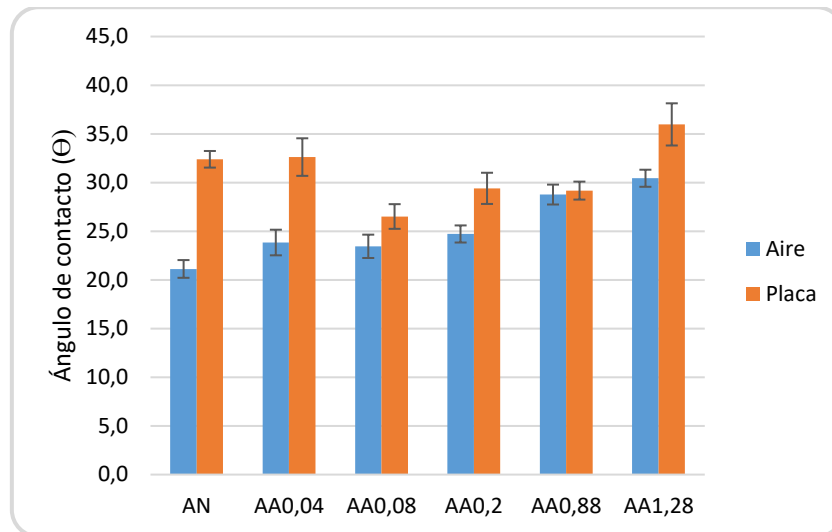


Figura 8.2: Ángulo de contacto de películas con 20% Glicerol del lado expuesto al aire y a la placa.

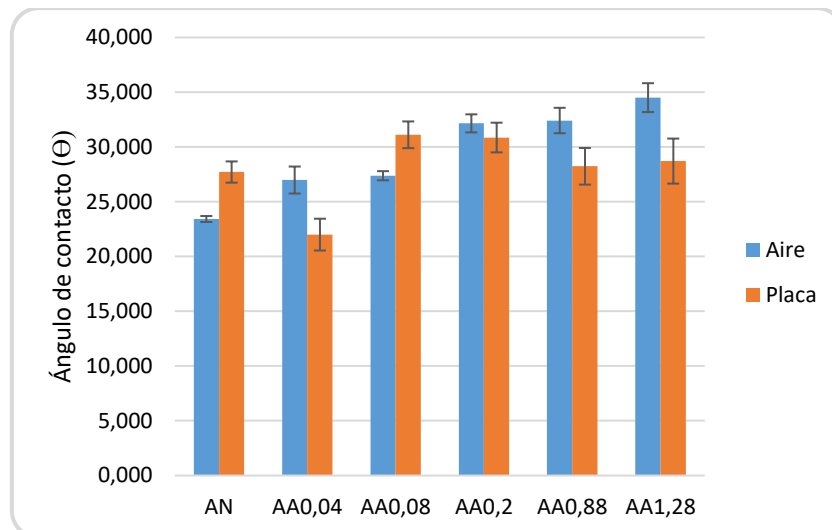


Figura 8.3: Ángulo de contacto de películas con 30% Glicerol del lado expuesto al aire y a la placa.

: