

Elaboración y caracterización física de biorecubrimientos compuestos basados en quitosán

Preparation and physical characterization of composite chitosan-based biofilms

JOSÉ ALFREDO VÁZQUEZ-OVANDO¹, MARÍA DE LOURDES ADRIANO-ANAYA¹,
ROSMERI MÉNDEZ-DE LEÓN¹, MIGUEL SALVADOR-FIGUEROA^{1*}

¹Centro de Biociencias. Universidad Autónoma de Chiapas.
Carretera a Puerto Madero Km 2.0. Tapachula, Chiapas. México. Tel y Fax (962) 6427972

*Autor para correspondencia: Correo-e: msalvad@hotmail.com

RECIBIDO EL 14 DE MARZO DE 2013 / ACEPTADO EL 4 DE MAYO DE 2013

RESUMEN

Los recubrimientos biodegradables (biopelículas, bioplásticos y otros) constituyen una alternativa para mejorar la vida de anaquel de frutos. De las diversas biomoléculas que se emplean para formular los biorecubrimientos, el quitosán se ha distinguido por diversas propiedades. Con el fin de modificar las propiedades del biorecubrimiento formulado con quitosán al 2%, se constituyeron diversas mezclas adicionando caseína, carboximetilcelulosa, aceite crudo de palma y almidón de papa. Para lo anterior, bajo un diseño factorial completo 34, se evaluaron 81 tratamientos obtenidos de combinar las 4 biomoléculas adicionadas a 3 niveles (concentraciones). A cinco biorecubrimientos por tratamiento se le determinó espesor, peso seco, resistencia mecánica y permeabilidad al oxígeno. Los resultados muestran que todas las variables están significativamente influenciadas por las biomoléculas empleadas. La adición de caseína y carboximetilcelulosa redujo significativamente la permeabilidad al oxígeno. Las biopelículas seleccionadas en base al criterio anterior se aplicaron a frutos de mango, observando que dichos frutos tuvieron mayor firmeza que los frutos sin recubrimiento, sin embargo, fueron similares a los frutos recubiertos exclusivamente con quitosán al 2%.

Palabras clave: permeabilidad de oxígeno, espesor, biomoléculas, almidón, caseína

INTRODUCCIÓN

Para mantener las propiedades nutritivas y sensoriales el mayor tiempo posible, en los frutos frescos, diversas estrategias han sido desarrolladas. El empleo de bajas temperaturas, vacío y atmósferas modificadas son, entre otras, las técnicas más empleadas. Tales estrategias aunque eficientes, son costosas. Como alternativa ha surgido el empleo de recubrimientos comestibles (RC) o biorecubrimientos elaborados con diversas biomoléculas poliméricas (ceras, polisacáridos, proteínas y alginatos, entre otras). Un RC es un empaque ideal desde el punto de vista ambiental, puesto que es biodegradable y puede ser consumido con el producto. El RC puede aplicarse en forma de fina capa de material alrededor de los

ABSTRACT

Biodegradable coatings (biofilms, bioplastics and other) are an alternative to improve the shelf life of fruits. Of the several biomolecules that are used to formulate the biocoating, chitosan has been distinguished by different properties. In order to improve the properties of biocoating formulated with 2% chitosan, different mixtures were formed by adding casein, carboxymethylcellulose, crude palm oil and potato starch. For this, with a factorial design 34, 81 treatments from combining 4 biomolecules spiked at 3 levels (0, 1 and 2% w / v) were evaluated. Thickness, dry weight, mechanical strength and oxygen permeability were determined to five biocoating per treatment. The results show that all response variables are significantly influenced by biomolecules' nature. Addition of casein and carboxymethylcellulose significantly reduced oxygen permeability. For this reason, mango fruits were coated with this biofilm, noting that these fruits were firmer than the uncoated fruits, but were similar to those coated with 2% chitosan exclusively.

Keywords: oxygen permeability, thickness, biomolecules, starch, casein

frutos mediante inmersión o pulverización. Se ha demostrado que la aplicación de RC permite disminuir el proceso respiratorio (Yang & Paulson, 2000; Rojas-Graü, Tapia, Rodríguez, Carmona & Martín-Belloso, 2007; Salvador-Figueroa, Aragón-Gómez, Hernández-Ortiz, Vázquez-Ovando & Adriano-Anaya, 2011) y la deshidratación (Wong, Camirand & Pavlath, 1994; Salvador-Figueroa et al., 2011) del fruto. Además, se pueden emplear como vehículos para incorporar agentes fitoquímicos (Pushkala, Raghuram & Srividya, 2013), aceites esenciales (Perdones, Sánchez-González, Chiralt & Vargas, 2012) u otras sustancias que mejoran las características nutritivas y sensoriales del fruto y minimizan o eliminan la presencia de patógenos (Romanazzi, Karabulut & Smilanick, 2007; Xiao, Luo, Luo & Wang, 2011). Los RC se han empleado en manzana (Worakeeratikul, Srilaong, Uthai-

ratanakijand, & Jitareerat, 2007), guayaba (Thommohaway, Kanlayanarat, Uthairatanakij & Jitareerat, 2007), papaya (Ali, Muhammad, Sijamc & Siddiquid, 2011), fresa (Zhang & Quantick, 1998), mango (Salvador-Figueroa et al., 2011), pera (Xiao et al., 2011) y cítricos (Arnon, Zaitsev, Porat & Poverenov, 2014), por citar sólo algunos. A pesar de que los beneficios encontrados con la aplicación de RC en frutos frescos dependen en gran medida de las propiedades de la matriz empleada, son limitados los estudios enfocados a la caracterización de las propiedades físicas de dichos RC. En este sentido, Valle-Guadarrama, López-Rivera, Reyes-Virgil, Castillo-Merino & Santos-Moreno (2008), no encontraron diferencia en la capacidad de intercambio de O_2 y CO_2 , ni en la capacidad de transmisión de luz de RC formulados con goma arábiga, carboximetilcelulosa y glicerol. Pastor, Sánchez-González, Marcilla, Chiralt, Cháfer & González-Martínez (2010), también caracterizaron RC formulados con hidroxipropil-metilcelulosa (HPMC) sola o con la adición de ácido oleico (AO), extracto etanólico y tensoactivos (EP), encontrando que la inclusión de 5% de HPMC y 1.5% de EP redujo 88% la permeabilidad al vapor de agua respecto al formulado exclusivamente con HPMC. Así mismo, el citado autor encontró que la adición de EP a la matriz de HPMC, incrementó la resistencia mecánica y la rigidez de los RC aunque, redujo su brillo. De forma similar, Bósquez-Molina & Vernon-Carter (2005) encontraron que la permeabilidad al vapor de agua del RC elaborado con goma de mezquite-cera de candelilla se redujo al adicionarle glicerol o sorbitol. La aplicación de este RC sobre frutos (aguacate, uva y limón, respectivamente), disminuyó la pérdida de peso durante el tiempo de almacenamiento. En el caso de la aplicación de RC en mango, Salvador-Figueroa et al. (2011) demostraron que los frutos de la variedad Ataulfo recubiertos con una capa de quitosán tenían menor pérdida de peso (deshidratación), mayor firmeza y menor tasa de respiración, lo que repercutió en mayor vida de anaquel. Sin embargo, se desconocen las características físicas, mecánicas y la capacidad de transfe-

ncia de gases que dicho RC posee y si dichas propiedades pueden modificarse con la adición de otras biomoléculas de naturaleza diversa. Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue determinar algunas características físicas, mecánicas y de transferencia de gases en recubrimientos comestibles formulados con una matriz de quitosán adicionada con diferentes biomoléculas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Biomoléculas empleadas

Se utilizó quitosán de exoesqueletos de camarón de baja viscosidad $PM=340.32 \text{ g mol}^{-1}$ (Q) (Sigma®), caseína de leche bovina (CA) (Sigma®, S.A. de C.V.), carboximetilcelulosa de baja viscosidad (CC) (Sigma®), aceite crudo de palma de coco (AP) y almidón (A) (Técnica Químicas®, S.A.).

Diseño experimental

Se estableció un diseño factorial completo 3^4 , donde el exponente representó cada una de las biomoléculas adicionadas a la base de quitosán. Las tres concentraciones (niveles) para cada biomoléculas fueron: CA y AP al 0%, 1% y 2%; CC al 0%, 1% y 0.5%; AP al 0%, 1% y 1.5%. Los 81 tratamientos producto de la combinación se muestran en el Cuadro 1.

Elaboración de los RC

La solución base para elaborar los recubrimientos compuestos fue Q al 2% disuelto en ácido ascórbico (Química Meyer) 0.1 M. En concordancia con el diseño experimental, cada biopelícula se elaboró mezclando los diferentes componentes (cada uno en solución individual) según el método de vaciado en placa (casting) descrito por Binsi, Ravishankar & Srinivasa-Gopal (2013). Inicialmente se prepararon soluciones stock 5X de cada una de la biomoléculas y posteriormente se mezcló el volumen requerido para obtener la concentración deseada. Como disolventes para las soluciones se empleó ácido ascórbico 0.1 M (para la CMC), etanol al 95% (para el AP) y agua destilada (para A y CA). Todas las biopelículas se elaboraron a temperatura ambiente sobre placas

Cuadro 1. Composición de los diferentes tratamientos tomando como base la solución de quitosán al 2%

Tratamiento	CA (%)	CC (%)	AP (%)	A (%)	Tratamiento	CA (%)	CC (%)	AP (%)	A (%)
1	0	0	0	0	42	1	1	1	1
2	0	0	0	1.5	43	1	1	2	0
3	0	0	0	1	44	1	1	2	1.5
4	0	0	1	0	45	1	1	2	1
5	0	0	1	1.5	46	1	0.5	0	0
6	0	0	1	1	47	1	0.5	0	1.5
7	0	0	2	0	48	1	0.5	0	1
8	0	0	2	1.5	49	1	0.5	1	0
9	0	0	2	1	50	1	0.5	1	1.5
10	0	1	0	0	51	1	0.5	1	1
11	0	1	0	1.5	52	1	0.5	2	0
12	0	1	0	1	53	1	0.5	2	1.5
13	0	1	1	0	54	1	0.5	2	1
14	0	1	1	1.5	55	2	0	0	0
15	0	1	1	1	56	2	0	0	1.5
16	0	1	2	0	57	2	0	0	1
17	0	1	2	1.5	58	2	0	1	0
18	0	1	2	1	59	2	0	1	1.5
19	0	0.5	0	0	60	2	0	0	1
20	0	0.5	0	1.5	61	2	0	2	0
21	0	0.5	0	1	62	2	0	2	1.5
22	0	0.5	1	0	63	2	0	2	1
23	0	0.5	1	1.5	64	2	1	0	0
24	0	0.5	1	1	65	2	1	0	1.5
25	0	0.5	2	0	66	2	1	0	1
26	0	0.5	2	1.5	67	2	1	1	0
27	0	0.5	2	1	68	2	1	1	1.5
28	1	0	0	0	69	2	1	1	1
29	1	0	0	1.5	70	2	1	2	0
30	1	0	0	1	71	2	1	2	1.5
31	1	0	1	0	72	2	1	2	1
32	1	0	1	1.5	73	2	0.5	0	0
33	1	0	1	1	74	2	0.5	0	1.5
34	1	0	2	0	75	2	0.5	0	1
35	1	0	2	1.5	76	2	0.5	1	0
36	1	0	2	1	77	2	0.5	1	1.5
37	1	1	0	0	78	2	0.5	1	1
38	1	1	0	1.5	79	2	0.5	2	1
39	1	1	0	1	80	2	0.5	2	1.5
40	1	1	1	0	81	2	0.5	2	1
41	1	1	1	1.5					

CA: caseína; CC: carboximetilcelulosa de baja viscosidad; AP: aceite crudo de palma; A: almidón.

de acrílico de 5 x 5 cm. Se prepararon cinco RC por cada tratamiento.

Variables determinadas

A cada uno de los RC se les determinó resistencia mecánica (Mpa) (Penetrómetro digital Tr, Italia) equipado con émbolo de 5 mm de diámetro y estimando según la ecuación $FR (MPa) = F (N) / \text{área} (mm^2)$, espesor (μm) (micrómetro digital; Fowler Inc.), peso seco (mg) (balanza analítica), colocando las membranas en estufa de aire forzado a 60 °C hasta peso constante; el aspecto general de forma visual y permeabilidad al oxígeno (ΔC_L , $ng\ cm^{-2}\ s^{-1}$), (electrodo de oxígeno disuelto, Spectrum©). Para esto último, se acondicionó un reactor con un volumen de trabajo de 1 L, empleando agua destilada como fluido. El reactor se mantuvo con agitación y temperatura (25 °C) constante, todo el tiempo. Para ajustar el electrodo inicialmente se hizo fluir aire (1 vvm) a través del agua, hasta alcanzar la saturación (7.8 $mg\ L^{-1}$) de O_2 disuelto. Posteriormente se fluyó N_2 (g) (1vvm) hasta desplazar completamente el O_2 disuelto (0 ppm). El ΔC_L del sistema se determinó inyectando nuevamente aire (1 vvm) hasta alcanzar la saturación del agua con O_2 , registrando la concentración de O_2 por unidad de tiempo. Para la determinación del ΔC_L de cada uno de los RC, se repitió el mismo procedimiento antes descrito, previamente colocando el RC sobre el electrodo. Para cada RC se realizaron cinco repeticiones.

Aplicación como RC en frutos de mango Ataulfo

Los RC producto de los 4 tratamientos que presentaron las mejores características de permeabilidad al oxígeno, basado en el ACP, fueron aplicados en mango Ataulfo (*Mangifera indica* L.). Se emplearon frutos a madurez fisiológica y tomando en cuenta su similitud en cuanto a color, tamaño y forma del fruto. Previo a la aplicación de las biopelículas, los frutos se lavaron con agua clorada (1% v/v) y se secaron. La aplicación de los RC se realizó de forma manual empleando 1 ml (por fruto) de la respectiva solución, utilizando una brocha. Se emplearon 20 frutos por cada tratamiento. Después de la aplicación de los RC los frutos se mantuvieron a 25 °C y 85% HR por 24 d. Como

la variable más determinante del proceso de maduración, cada 6 d se determinó la firmeza (empleando penetrómetro Tr, Italy) del fruto con cáscara a tres frutos de cada tratamiento y se expresan los resultados en Newtons.

Análisis de datos

Para evaluar el efecto de las biomoléculas sobre las variables de respuesta, los resultados se sometieron al análisis de la varianza (ANOVA) del diseño factorial y donde se encontraron diferencias se aplicó la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Adicionalmente, se analizaron los datos de las variables de respuesta mediante análisis multivariado (análisis de componentes principales, ACP) para buscar una nueva componente que explicó mejor la variabilidad. Se empleó la variable de respuesta original que más aportó a la variabilidad total como criterio para seleccionar los 4 tratamientos que fueron evaluados en frutos. La firmeza de los frutos fue analizada mediante ANOVA y posterior comparación de medias. Para las pruebas univariadas se empleó el programa InfoStat profesional versión 2009 y la multivariada se condujo con el programa XL STAT v 2012.

RESULTADOS

En el Cuadro 2 se muestran los valores promedio de todos los tratamientos para las variables determinadas a los RC empleadas en este trabajo. El espesor de los RC estuvo en el intervalo de 50.80 μm a 477.52 μm siendo los más delgados los formulados con Q2%, con Q2% + CC1% ó 0.5%, con Q2% + AP1% o 2%; o las formuladas con Q + CC + AP en cualquiera de las concentraciones empleadas. Los RC con mayor espesor fueron los formuladas con A 1.5% + CA 1% o 2%.

El análisis estadístico de los datos reveló que la adición de CA y A incrementó el espesor de las RC (Figura 1), mientras que la adición de CC disminuyó dicha variable. Por otro lado, aunque la adición de AP incrementó espesor de los RC, su impacto fue el más moderado. Las diferencias observadas fueron estadísticamente significativas y las influencias más importantes para todas las variables fueron de la CA y el A (Cuadro 3).

Cuadro 2. Valores promedio de las variables determinadas a los 81 tratamientos (Recubrimientos Comestibles) empleados en este trabajo

Variable	Media	Desviación estándar	Mediana	Mínimo	Máximo
Espesor (µm)	245.10	105.54	238.76	50.80	477.50
Resistencia a la ruptura (MPa)	96.19	90.54	57.60	10.20	307.10
Peso seco (mg cm ⁻²)	14.19	3.83	12.81	10.33	25.74
Permeabilidad al oxígeno (ng cm ⁻² s ⁻¹)	133.13	5.02	132.59	124.56	165.67

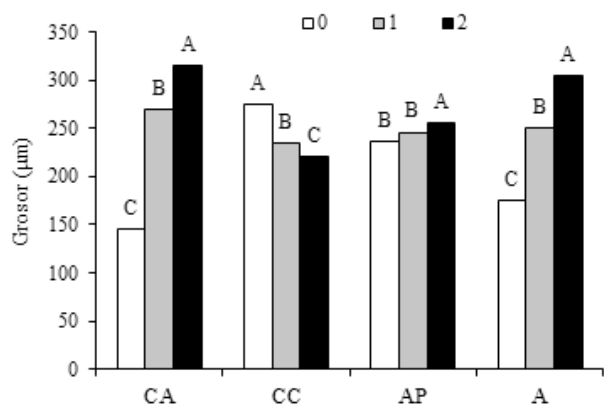


Figura 1. Efecto de la adición de caseína (CA), carboximetilcelulosa (CC), aceite de palma (AP) y almidón (A), en el espesor de los RC. 0= ausencia del componente; 1= menor concentración de componente; 2= mayor concentración del componente (ver Cuadro 1 para los valores). Columnas con letras diferentes denotan diferencia significativa ($p < 0.05$), DMS = 7.705.

Por otra parte, el esfuerzo requerido (resistencia a la ruptura) para romper los RC estuvo en el intervalo de 10.2 MPa a 307.1 MPa (Cuadro 2). En general, los RC que requirieron mayor esfuerzo para romperlos fueron los que no contenían caseína. El análisis de los resultados mostró que la adición de CC o A en la mezcla produjo recubrimientos que requirieron de la aplicación de mayor esfuerzo para romperlas (Figura 2), aunque sin igualar los valores cuando no se aplicó CA. Sin embargo, la adición de más CA no tuvo el correspondiente aumento en la resistencia; al contrario, se observó una disminución significativa ($p < 0.001$).

Cuadro 3. Cuadrados medios del análisis de la varianza para las variables determinadas a los 81 tratamientos (Recubrimientos Comestibles) empleados en este trabajo

Variable	Espesor		Resistencia a la ruptura		Peso seco		Permeabilidad al oxígeno	
	CM	Valor <i>p</i>	CM	Valor <i>p</i>	CM	Valor <i>p</i>	CM	Valor <i>p</i>
Caseína	1524.6	<0.0001	14212.4	<0.0001	21.79	<0.0001	6.80	0.0013
Carboximetil-celulosa	183.1	<0.0001	2380.3	<0.0001	1.16	0.3142	9.64	0.0001
Aceite de palma	16.49	<0.0001	16.4	<0.0001	8.99	0.0002	11.06	<0.0001
Almidón	736.09	<0.0001	426.4	<0.0001	0.58	0.5568	0.43	0.6469

Tampoco se observaron cambios numéricos radicales para esta variable con la adición de aceite de palma, pese a la diferencia estadística. Efecto contrario se observó cuando se adicionó CA, donde el descenso en la resistencia fue marcado al adicionar esta biomolécula. El análisis de la varianza de los resultados mostró que las diferencias observadas fueron significativas y que la variable más importante fue la CA (Cuadro 3) aunque, por el descenso, con fines prácticos resulta indeseable.

Los RC obtenidos con las diferentes mezclas de componentes empleados en su formulación tuvieron peso seco entre 10.33 mg cm⁻²

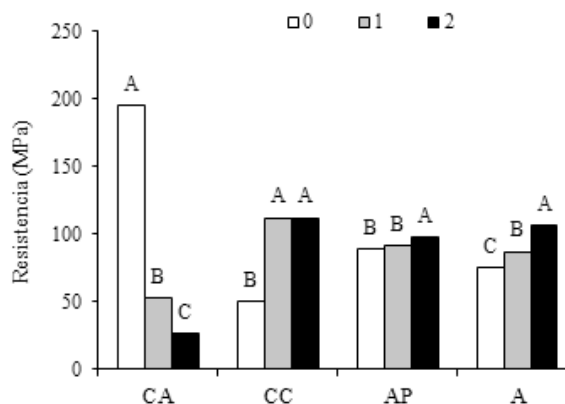


Figura 2. Efecto de la adición de caseína (CA), carboximetilcelulosa (CC), aceite de palma (AP) y almidón (A) en la resistencia a la ruptura de los RC. 0= ausencia del componente; 1= menor concentración de componente; 2= mayor concentración del componente (ver Cuadro 1 para los valores). Columnas con letras diferentes denotan diferencia significativa ($p < 0.05$), DMS = 2.536.

y 25.74 mg cm⁻² (Cuadro 2). Exceptuando al almidón, cuanto mayor masa de componentes se empleó en la formulación de los RC, mayor fue el peso de éstas. La CA fue el componente que mayor influencia tuvo (Figura 3), mientras que la adición de CC y A no tuvieron efecto significativo sobre esta variable (Cuadro 3). La adición de aceite de palma en menor concentración redujo el peso de las películas cuya formulación no contenía esta molécula.

Respecto a la permeabilidad al oxígeno, los diferentes RC tuvieron un intervalo entre 124.6 ng cm⁻² s⁻¹ y 165.7 ng cm⁻² s⁻¹. Los RC con mayor permeabilidad, en general, no tuvieron como componentes a la CC o a la CA. La adición de los compuestos mencionados previamente disminuyó la permeabilidad. Por su parte la adición de AP incrementó la permeabilidad, mientras que la adición de A no mostró cambios (Cuadro 4). El análisis de la varianza de los datos (Cuadro 3) mostró que el uso de A no afectó la permeabilidad y que las diferencias encontradas con los otros componentes fueron significativas.

El análisis de componentes principales (ACP) reveló que la variable que mayor carga factorial aportó a los nuevos componentes (F1 y F2) es la permeabilidad al oxígeno (0.979 F2), seguido de la resistencia a la ruptura (0.894 F1), tal como se muestra en el Cuadro 5. Los nuevos componentes aportan en total 69.98% de la variación total, lo cual muestra el impor-

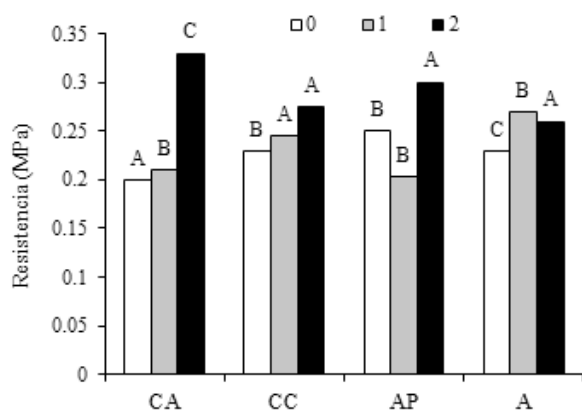


Figura 3. Efecto de la adición de caseína (CA), carboximetilcelulosa (CC), aceite de palma (AP) y almidón (A) en el peso seco de los RC. 0= ausencia del componente; 1= menor concentración de componente; 2= Mayor concentración del componente (ver Cuadro 1 para los valores). Columnas con letras diferentes denotan diferencia significativa ($p < 0.05$), DMS = 0.052.

Cuadro 4. Efecto de los diferentes componentes, y su concentración en la permeabilidad al oxígeno (ng cm⁻² s⁻¹) de los RC. 0= ausencia del componente; 1= menor concentración de componente; 2= mayor concentración del componente

Nivel de la variable	Caseína	Carboximetilcelulosa	Aceite de palma	Almidón
0	133.7 a	134.5 a	131.6 b	132.9 a
1	133.7 a	133.1 ab	134.4 a	133.0 a
2	131.8 a	131.8 b	133.4 a	133.5 a

Columnas con letras diferentes denotan diferencia significativa ($p < 0.05$), DMS = 1.44 (Ver Cuadro 1 para los valores).

tante aporte de las variables seleccionadas (Figura 4), mismas que fueron seleccionadas como criterio para que mediante ANOVA se eligieran los tratamientos 1, 19, 23 y 63 (Cuadro 1). Los factores F3 y F4 no fueron considerados dado su bajo aporte a la variación total.

Finalmente, en el Cuadro 6 se muestra el comportamiento de la variable firmeza del fruto en mangos, donde se aplicaron los RC previamente seleccionados. Después de 24 d de almacenamiento, todos los frutos con RC tuvieron mayor firmeza que los frutos sin RC (de 2.02 a 3.68 veces). Los frutos con mayor firmeza incluso al final de estudio, fueron los

Cuadro 5. Carga factorial de las variables evaluadas en los RC basados en quitosán a los nuevos componentes derivados del análisis ACP

Variable	F1	F2	F3	F4
Espesor	-0.680	-0.062	0.686	0.251
Resistencia a la ruptura	0.894	-0.153	0.035	0.421
Peso seco	0.695	0.252	0.614	-0.277
Permeabilidad al oxígeno	-0.082	0.979	-0.109	0.153

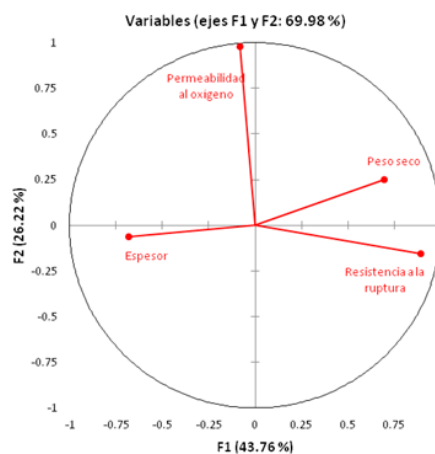


Figura 4. Gráfico biplot que muestra las contribuciones de los componentes principales. Obtenido con datos de las variables evaluadas a los RC elaborados con diferentes moléculas y basados en quitosán al 2%.

Cuadro 6. Dinámica de la firmeza (N) de frutos de mango variedad Ataulfo cubiertos con diferentes RC

Tipo de recubrimiento	Días de almacenamiento			
	6	12	18	24
Sin recubrimiento	32.8 ± 2.4 d	25.2 ± 0.6 c	11.0 ± 0.6 d	6.1 ± 0.9 d
Q 2%	65.8 ± 5.2 c	43.0 ± 3.4 a	33.0 ± 1.5 a	22.5 ± 0.8 a
Q 2% + CC 0.5%	91.8 ± 2.5 a	44.4 ± 1.4 a	21.4 ± 1.3 c	17.2 ± 0.8 b
Q 2% + CC 0.5% + AP 1% + A 1.5%	79.0 ± 5.5 b	10.2 ± 1.0 ab	28.1 ± 0.1 b	14.4 ± 1.3 c
Q 2% + CA 2% + AP 2% + A 1%	87.2 ± 1.8 ab	37.1 ± 2.0 b	26.6 ± 1.3 b	12.4 ± 0.2 c

Valores con letras iguales por columna denotan diferencia significativa ($p < 0.05$).

que tuvieron la RC formulada exclusivamente con quitosán. La firmeza de los frutos con RC al final del estudio (24 d) mostró valores similares a los frutos sin RC en los días 12 a 18.

DISCUSIÓN

Existen muchos reportes de caracterización de RC formulados a base de quitosán adicionado con diferentes moléculas, cuyo propósito principal es mantener constante el espesor (Zhong & Xia, 2008; Wiles, Vergano, Barron, Bunn & Testin, 2000). Sin embargo, la única dimensión de los RC que puede variar cuando éstas se forman empleando el mismo volumen de mezcla con masas diferentes de cada uno de los componentes, es el espesor. El comportamiento previsto, en general, se observó en los RC elaborados (Figura 1) y concuerda con lo reportado por Miranda, Garnica, Lara-Sahagón & Cárdenas (2004), quienes formaron diferentes RC tomando como base una solución de quitosán (2%) disuelto en ácido acético (1% p/p) y adicionaron con tres plastificantes (poltetilenglicol 200, sorbitol y glicerol) y dos surfactantes (tween 60 y tween 80) al 0.3% y 0.6%. Dichos autores encontraron que el espesor de los RC se incrementó con la adición de cualquiera de los otros componentes. El RC formado exclusivamente con quitosán tuvo un espesor de 2.82 μm , mientras que las formadas con los otros componentes estuvieron en el intervalo de 2.91 μm a 3.95 μm , siendo las adicionadas con tween 80 al 0.6% las más gruesas y las adicionadas con el mismo surfactante pero al 0.3% las más delgadas. Por otra parte, el hecho de que el espesor de los RC disminuya conforme la concentración de CC aumenta (Figura 1), pudiera ser explicado a

través de un arreglo espacial de las moléculas más ordenado, resultante de las interacciones intra-moleculares. El análisis por microscopía electrónica de dichos RC pudiera dar respuesta a la hipótesis anterior. De forma correlativa, el incremento observado en el peso de los RC fue el resultado del aumento en el número y concentración de componentes en la mezcla empleada para la formación de RC.

Respecto a la resistencia a la ruptura de los RC, los resultados encontrados muestran que el valor de dicha variable dependió de la combinación de moléculas empleadas y las interacciones establecidas entre ellas, principalmente a través de puentes de hidrógeno. De esta forma se pudo ver que la adición de CA produjo RC más sensibles a la tensión, mientras que la adición de CC mejoró dicha propiedad. El comportamiento observado y los valores encontrados se hallan entre los reportados por otros autores. En este sentido Park, Marsh & Rim (2006) reportaron valores entre 6.7 MPa a 150 MPa, los cuales dependieron, primordialmente, del ácido donde se disolvió el quitosán. Por su parte, Mayachiew & Devahastin (2008) reportaron valores entre 27.0 MPa y 69.1 MPa para biopelículas (BP) formuladas con 1.5% de quitosán disuelto en ácido acético (1% v/v) adicionadas con 0.37% de glicerol (el espesor de las BP fue de 20 μm). La diferencia observada dependió del proceso de secado al que se sometió la BP, siendo las mejores las secadas con vapor supercaliente de baja presión, argumentando que el tiempo de secado fue el factor importante debido a que a menor velocidad de secado a temperaturas elevadas se formaron mayores entrecruzamientos entre los polímeros. Por su parte Caner, Vergano & Wiles (1998) y Miranda et

al. (2004) encontraron que la fuerza requerida para romper las BP dependió tanto del plastificante como de su concentración, reportando valores entre 6.85 MPa y 31.88 MPa los primeros y 7.23 MPa y 48.37 MPa, los últimos.

Por otro lado, la mejora en las propiedades de barrera (disminución en la transferencia o permeabilidad a los gases) en los RC adicionados con CA y CC pudo ser resultado de la formación de puentes de hidrógeno intramoleculares como lo argumentaron Zhong & Xia (2008), quienes estudiaron la permeabilidad a oxígeno en BP formuladas con quitosán 2%, almidón de yuca (0, 1, 2 y 3%), gelatina (0, 1 y 2%) y glicerol (0, 0.42, 0.84 y 1.26%). Dichos autores encontraron que al incrementar la concentración de gelatina disminuyó la permeabilidad tanto al oxígeno como al dióxido de carbono (de 0.75 a $2.58 \times 10^{-8} \text{ cm}^3 \text{ m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ para el oxígeno y de 0.31 a $0.97 \times 10^{-8} \text{ cm}^3 \text{ m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ para el dióxido de carbono). Esos mismos autores encontraron que las BP formuladas con 3% de almidón fueron más permeables, lo cual contrasta con los resultados de este trabajo donde no se observó tal fenómeno. Por su parte Butler, Vergano, Testin, Bunn & Wiles (1996) reportaron que la adición de glicerol (0.25 o 0.50 ml g^{-1}) a RC de quitosán tuvo efecto negativo en las propiedades de barrera al oxígeno, aunque mejoró las propiedades mecánicas. La adición de glicerol también afectó negativamente la permeabilidad al etileno, ya que las películas con 0.25 ml g^{-1} de glicerol tuvieron una permeabilidad de etileno de $1.6 \times 10^{-4} \text{ cc m}^{-1} \text{ d}^{-1} \text{ atm}^{-1}$, mientras que las películas con 0.50 ml g^{-1} de glicerol tuvieron $3.1 \times 10^{-4} \text{ cc m}^{-1} \text{ d}^{-1} \text{ atm}^{-1}$.

Así mismo, Caner et al. (1998) reportaron que la concentración de ácido donde se disuelve el quitosán y la concentración de plastificante afectó negativamente su propiedad de barrera al oxígeno, ya que BP de quitosán (3%) disuelto en diferentes ácidos (láctico, propiónico, acético y fórmico al 1 y 7.5%), con concentraciones diferentes de plastificante (polietilenglicol 400 a 0.25 o 0.50 ml g^{-1} de quitosán). El coeficiente de permeabilidad al oxígeno estuvo en el intervalo de 0.08 a $31.67 \times 10^{-3} \text{ cc m}^{-1} \text{ d}^{-1} \text{ atm}^{-1}$. Por su parte, Park et al. (2006) reportaron que la permeabilidad al

oxígeno de RC formuladas con quitosán tuvieron comportamiento mixto respecto a la viscosidad de la solución, encontrando valores en el intervalo de 0.4 (ácido málico) hasta 4.9 (ácido cítrico) $\times 10^{-3} \text{ cc m}^{-1} \text{ d}^{-1} \text{ atm}^{-1}$.

Finalmente, la mayor firmeza observada en los frutos cubiertos con los RC es un indicativo de que los procesos hidrolíticos de los polímeros de la pared celular y de reserva y el metabolismo general de la célula, son modificados por las propiedades de barrera de dichos RC. Los resultados encontrados en este trabajo se suman a lo previamente reportado en cítricos (Arnon et al. 2014), fresas (Gol, Patel & Rao, 2013), tomate (Badawy & Rabea, 2009), entre otros.

REFERENCIAS

- Ali, A.; Muhammad, M.T.M.; Sijamc, K. & Siddiquid, Y. (2011). Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya* L.) fruit during cold storage. *Food Chemistry*, 124, 620-626.
- Arnon, H.; Zaitsev, Y.; Porat, R. & Poverenov, E. (2014). Effects of carboxymethyl cellulose and chitosan bilayer edible coating on postharvest quality of citrus fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 87, 21-26.
- Badawy, M.E.I. & Rabea, E.I. (2009) Potential of the biopolymer chitosan with different molecular weights to control postharvest gray mold of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 51, 110-117.
- Binsi, P.K.; Ravishankar, C.N. & Srinivasa-Gopal, T.K. (2013). Development and characterization of an edible composite film based on chitosan and virgin coconut oil with improved moisture sorption properties. *Journal of Food Science*, 78, E526-E533.
- Bósquez-Molina, E. & Vermon-Carter, E.J. (2005). Efecto de plastificantes y calcio en la permeabilidad al vapor de agua de películas a base de goma de mezquite y cera de candelilla. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 4, 157-162.
- Butler, B.L.; Vergano, P.J.; Testin, R.F.; Bunn, J.M. & Wiles, J.L. (1996). Mechanical and barrier properties of edible chitosan films as affected by composition and storage. *Journal of Food Science* 61, 952-955.
- Caner, C.; Vergano, P.J. & Wiles, J.L. (1998). Chitosan film mechanical and permeation properties as affected by acid, plasticizer, and storage. *Journal of Food Science* 63, 1049-1053.
- Gol, N.B.; Patel, P.R. & Rao, R. (2013). Improvement of quality and shelf-life of strawberries with edible coatings enriched with chitosan. *Postharvest Biology and Technology*, 85, 185-195.
- Mayachiew, P. & Devahastin, S. (2008). Comparative evaluation of physical properties of edible chitosan films prepared by different drying methods. *Drying Technology*, 26, 176-185.
- Miranda, S.P.; Garnica, O., Lara-Sagahon, L. & Cárdenas, G. (2004). Water vapor permeability and mechanical properties of chitosan composite films. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 49, 173-178.
- Park, S.Y.; Marsh, K.S. & Rhim, J.W. (2006) Characteristics of different molecular weight chitosan films affected by the type of organic solvents. *Journal of Food Science*, 67, 194-197.
- Pastor, C.; Sánchez-González, L.; Marcilla, A.; Chiralt, A.; Cháfer, M. & González-Martínez, C. (2010). Physical and antifungal properties of hydroxypropyl-methylcellulose based films containing propolis as affected by moisture content. *Postharvest Biology and Technology*, 82, 1174-1183.

- Perdones, A.; Sánchez-González, L.; Chiralt, A. & Vargas, M. (2012). Effect of chitosan-lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. *Postharvest Biology and Technology*, 70, 32-41.
- Pushkala, R.; Raghuram, P.K. & Srividya N. (2013). Chitosan based powder coating technique to enhance phytochemicals and shelf life quality of radish shreds. *Postharvest Biology and Technology*, 86, 402-408.
- Rojas-Graü, M.A.; Tapia, M.S.; Rodríguez, F.J.; Carmona, A.J. & Martín-Belloso, O. (2007). Alginate and gellan-based edible coatings as carriers of antibrowning agents applied on fresh-cut Fuji apples. *Food Hydrocolloids*, 21, 118-127.
- Romanazzi, G.; Karabulut, O.A. & Smilanick, J.L. (2007). Combination of chitosan and ethanol to control postharvest gray mold of table grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 45, 134-140.
- Salvador-Figueroa, M.; Aragón-Gómez, W.I.; Hernández-Ortiz, E.; Vázquez-Ovando, J.A. & Adriano-Anaya, M.L. (2011). Effect of chitosan coating on some characteristics of mango (*Mangifera indica* L.) "Ataulfo" subjected to hydrothermal process. *African Journal of Agricultural Research*, 6, 5800-5807.
- Thommohaway, C.; Kanlayanarat, S.; Uthairatanakij A. & Jitareerat, P. (2007). Quality of fresh-cut guava (*Psidium guajava* L.) as affected by chitosan treatment. *Acta Horticulturae*, 746, 449-455.
- Valle-Guadarrama, S.; López-Rivera, O.; Reyes-Vigil, M.; Castillo-Merino, J. & Santos-Moreno, A. (2008). Recubrimiento comestible basado en goma arábiga y carboximetilcelulosa para conservar frutas en atmósfera modificada. *Revista Chapingo, Serie Horticultura*, 14, 235-241.
- Wiles, J.L.; Vergano, P.J.; Barron, F.H.; Bunn, J.M. & Testin, R.F. (2000). Water vapor transmission rates and sorption behavior of chitosan films. *Journal of Food Science*, 65, 1175-1179.
- Wong, D.W.S.; Camirand, W.P. & Pavlath A.E. (1994). Development of edible coatings for minimally processed fruit and vegetables. In J.M. Krochta, E.A. Baldwin & M.O. Nispero-Carriedo (Eds.), *Edible coatings and films to improve food quality* (pp. 65-88). Lancaster, PA: Technomic Publishing.
- Worakeeratikul, W.; Srilaong, V.; Uthairatanakijand, A. & Jitareerat, P. (2007). Effects of hydrocooling and chitosan coating on browning and physiological changes in fresh-cut rose apple. *Acta Horticulturae*, 746, 427-434.
- Xiao, Z.; Luo, Y.; Luo, Y. & Wang, Q. (2011). Combined effects of sodium chlorite dip treatment and chitosan coatings on the quality of fresh-cut d'Anjou pears. *Postharvest Biology and Technology*, 62, 319-326.
- Yang, L. & Paulson, A.T. (2000). Mechanical and water vapor barrier properties of edible gellan films. *Food Research International*, 33, 563-570.
- Zhang, D. & Quantick, P.C. (1998). Antifungal effects of chitosan coating on fresh strawberries and raspberries during storage. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 73, 763-767.
- Zhong, Q.P. & Xia, W.S. (2008). Physicochemical properties of edible and preservative films from chitosan/cassava starch/gelatin blend plasticized with glycerol. *Food Technology and Biotechnology*, 46, 262-269.