



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR**

**TESIS DE DOCTOR EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS**

**RECUPERACIÓN DE SUBPRODUCTOS A PARTIR DEL PROCESO DE  
DESCERADO DE ACEITE DE GIRASOL**

**MAYRA CAROLINA CHALAPUD NARVÁEZ**

**BAHÍA BLANCA**

**ARGENTINA**

**2017**

# PREFACIO

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el ámbito del Departamento de Ingeniería Química durante el periodo comprendido entre el 19 de junio de 2012 y el 15 de febrero de 2017, bajo la dirección de las Doctoras Amalia Carelli y Erica Bäumlér.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tesis ha sido aprobada el    /    /    , mercedo la  
calificación de    (    )

Dedicada a:

A Dios, mi Padre Celestial y mi protector.

A mis padres por su amor, energía y sus enseñanzas... Los adoro ¡!

A mis hermanos Anita y Lalo y a mis sobrinos Andrés, Julián, Juanes y Mariana, a quienes amo... por los momentos no compartidos.

***“Me caía, me paraba, me perdía, aprendía y yo seguía...”***

# AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis directoras, las Dras. Amalia Carelli y Erica Bäumlér, quienes confiaron en mí a pesar de venir de Colombia y no conocerme. Gracias por haber sido mi guía y por su paciencia y dedicación en cada aspecto. Todo ese esfuerzo y apoyo fue fundamental para llegar a esta meta.

Al Grupo de Alimentos de PLAPIQUI con quienes compartí grandes enseñanzas, cumpleaños y conocimiento. A Clarisa de quien aprendí demasiado, a Forbito por su ayuda incansable, a la Dra. Ethel Pérez por todo su apoyo, al Dr. Diego Genovese por su colaboración en el uso de equipos y análisis, a Federico por su ayuda en cromatógrafos. Gracias a todos por permitirme hacer parte del grupo y por ser tan chéveres.

A los grupos de Reactores (Matías Méndez), Tecnología de Partículas (Fernanda Cabrera) y Polímeros (Daniel Ercoli y Cristina Frova) por el préstamo de algunos de sus equipos y su asesoramiento.

A Nora Pascual, Anny Piattoni, Silvia R. y Adriana Ortiz por su amable disposición y diligencia.

A mis amigos queridos que ya tenía el privilegio de conocer: Jhovany Tupaz, Jorge Guapacha y Andrés Anzola, quienes no dejaron de brindarme su amistad incondicional. Los quiero muchachos ¡!

Definitivamente esta etapa me dejó un gran tesoro, mis grandes amigas: Agustina, María Clara, Luciana, Fer C., Dianis F., gracias muchachas por alentarme, por escucharme, por los momentos de risa, por las cenas, almuerzos, mates, charlas y por sobre todo quererme como soy.

A Lilian y su familia, Analía, Daniel Sánchez, Claudia Ll., Naty C., Vivi, Fer R., Vero R., Aníbal F., Andrés Ciolino, Guille Soto, Emiliano C., gracias por haber compartido momentos tan lindos y sobre todo por su amistad, los guardo en mi corazón.

A mis amigos Pablo M., Maxi, Eli y Mary... Dios me dio el privilegio de conocerlos... gracias por su valiosa amistad y su gran cariño.

A la comunidad colombiana en Bahía Blanca, quienes conforman una gran familia. Gracias por los eventos en los que a pesar de extrañar mi tierra, ser parte de la representación de mi país fue lo máximo. A Migue por esa alegría, a Clau C. por todo su cariño, a Carito Agudelo por su valiosa amistad, a Julie, Cris, Karolth, Katy C., Carlos Cardoso, Pachito y Jhon por su amistad y apoyo.

A mis amigos casi padres... Yese y Carlos por todo su cariño.

A mi sobrino Andrés, por su apoyo y paciencia. Te quiero tanto ¡!

A mis amigos de toda la vida y quienes a la distancia me apoyaron siempre, Ingrid, Bibi, Diego Ch., Myri, Ivone, Cristian F., Anita M., Fercho C., Javi R., gracias por su cariño verdadero y por ser parte importante de mi vida.

Finalmente agradezco a CONICET, PLAPIQUI y a la Universidad Nacional del Sur por brindarme el lugar, las herramientas y los medios para elaborar esta tesis.

# RESUMEN

En la actualidad los desechos generados en la industria alimentaria constituyen un problema medioambiental debido a su volumen y a sus características fisicoquímicas, siendo, en muchos casos, su disposición y tratamiento muy costosos para las empresas. Una alternativa promisorio es el desarrollo de estrategias innovadoras para la recuperación de los subproductos presentes en dichos desechos, permitiendo la revalorización y utilización de los mismos en la generación de diversas tecnologías encaminadas a desarrollar nuevos productos, creando así nuevas fuentes de riqueza que aportan una mayor rentabilidad al proceso industrial de partida. Dentro de este marco se tuvo como objetivo general estudiar a escala laboratorio la obtención o recuperación de subproductos y derivados de la industria oleaginosa y evaluación de sus posibles aplicaciones.

Los objetivos específicos de esta tesis fueron:

- ⊙ Estudio de la recuperación de ceras y de aceite residual provenientes de los desechos del proceso de descerado en la elaboración de aceite de girasol.
- ⊙ Evaluación de la cantidad y calidad del aceite recuperado, con el fin de determinar la porción de aceite que actualmente es perdido y su potencial reutilización.
- ⊙ Determinación de la composición y las propiedades fisicoquímicas de las ceras de girasol recuperadas.

- ⊙ Análisis de la viabilidad del uso de las ceras de girasol recuperadas para la obtención de películas comestibles partiendo de emulsiones acuosas de pectina de bajo metoxilo y ceras de girasol.

A continuación se detalla la organización del trabajo realizado.

En el Capítulo 1 se hace una introducción general acerca de la producción de aceite de girasol en Argentina y la posición de este país en la exportación del mismo. Así mismo se detallan los componentes mayoritarios y minoritarios del aceite, enfocándose en las ceras de girasol y su valor agregado. A continuación se describe el proceso de extracción y refinación del aceite de girasol, con especial énfasis en la etapa de descerado o winterizado, la que genera tortas de filtración como residuo. Finalmente se resume una de las aplicaciones de las ceras de girasol, la elaboración de películas comestibles.

En el Capítulo 2 se presenta la caracterización de tortas de filtración provenientes de dos industrias locales y el proceso de fraccionamiento a escala laboratorio del material lipídico, obteniéndose aceite de girasol recuperado y ceras de girasol purificadas. Además se analizan índices de calidad, color, composición en ceras y ácidos grasos del aceite para evaluar su posible reincorporación al proceso de refinación. Se caracterizan las ceras purificadas respecto a su color, comportamiento térmico y perfil de ceras y su composición en alcoholes grasos y ácidos grasos, con el fin de tener datos de interés para futuras aplicaciones en alimentos.

En el Capítulo 3 se describe la elaboración y caracterización de emulsiones acuosas a base de pectina de bajo metoxilo y ceras de girasol purificadas (obtenidas en el Capítulo 2), cuyo uso específico será la producción de películas comestibles para alimentos. Se realiza el análisis de la estabilidad de las emulsiones en el tiempo, identificando fenómenos de desestabilización y evaluando su cinética, así como también se presentan los resultados del estudio de las propiedades reológicas de las emulsiones obtenidas, el tamaño de partícula presente y su distribución. También se presentan imágenes confocal para la visualización de las ceras de girasol y su dispersión en la matriz de pectina.

En el Capítulo 4 se expone la elaboración y caracterización de películas comestibles obtenidas a partir de las emulsiones estudiadas en el Capítulo 3, analizando su resistencia al agua, permeabilidad al vapor de agua, propiedades mecánicas y comportamiento térmico. Además se muestran imágenes donde se observa en detalle la estructura de las mismas y la ubicación de las ceras de girasol en la matriz conformada por la pectina.

Por último, en el Capítulo 5 se presentan las conclusiones generales originadas del estudio experimental desarrollado en la presente tesis, las publicaciones a las que dio lugar la tesis y las propuestas futuras de trabajo.

# ABSTRACT

At present, the waste generated in the food industry is an environmental problem due to its volume and its physicochemical characteristics; in many cases, its disposal and treatment is very expensive for the companies. A promising alternative is the development of innovative strategies for the recovery of the byproducts present in such wastes, allowing their revaluation and use for the generation of technologies aimed at developing new products, creating new sources of wealth that contribute greater profitability to the industrial starting process. Within this framework, the general objectives were to: a) study, at a laboratory level, the obtaining or recovery of oil industry by-products and derivatives, and b) evaluate their possible applications.

The specific objectives of this thesis were:

- ⊙ Study of the recovery of waxes and residual oil from the filtration cake, a waste from the winterization process of sunflower oil.
- ⊙ Evaluation of the quantity and quality of the recovered oil, in order to determine the amount of oil that is currently lost and its potential for reuse.
- ⊙ To determine the composition and physicochemical properties of the recovered sunflower waxes.
- ⊙ Analysis of the viability of the use of recovered sunflower waxes as an edible coating developed from aqueous emulsions of low methoxy pectin and sunflower waxes.

The organization of the present thesis is detailed below.

In Chapter 1 a general introduction about the production of sunflower oil in Argentina and the country's position in the export of sunflower oil is presented. Also the majority and minority components of the oil are detailed, focusing on sunflower waxes and its added value. In addition, the sunflower oil extraction process and refining is described, with special emphasis on the dewaxing or winterization step, which generates as waste the filter cakes. Finally, it is summarized one of the applications of the sunflower waxes, the elaboration of edible films.

Chapter 2 describes the characterization of filter cakes from two local industries and the process of lipid material fractionation at laboratory level obtaining recovered sunflower oil and purified sunflower waxes. In addition, quality indices, color, wax content and fatty acid composition of oil are analyzed in order to evaluate its possible reincorporation into the refining process. In order to have data of interest for future food applications, purified waxes are characterized taking into account color, thermal behavior, wax profile and its fatty alcohols and fatty acids composition.

Chapter 3 describes the preparation and characterization of aqueous emulsions based on low methoxyl pectin and purified sunflower waxes (obtained in Chapter 2), which specific use will be the production of food edible films. The analysis of its stability over time, identifying phenomena of destabilization and evaluating its kinetics is performed. Results from the study of their rheological properties, particle size distribution and confocal images are also presented.

In Chapter 4, the preparation and characterization of edible films obtained from emulsions studied in Chapter 3 are exposed. The water resistance, water vapor

permeability, mechanical properties and thermal behavior of the films are analyzed. In addition, images are shown where the structure of the films and the location of the sunflower waxes in the matrix formed by the pectin are observed.

Finally, Chapter 5 summarizes the main conclusions and resulting publications as well as proposes some future investigation lines.

# ÍNDICE GENERAL

<b>CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL .....</b>	<b>1</b>
1.1 OBJETIVOS .....	1
1.2 GENERALIDADES DEL CULTIVO DE GIRASOL .....	2
1.3 CARACTERÍSTICAS DEL CULTIVO DE GIRASOL .....	6
1.4 ACEITE DE GIRASOL .....	8
1.4.1 Componentes mayoritarios .....	9
1.4.1.1 Ácidos grasos .....	9
1.4.2 Componentes minoritarios .....	11
1.4.2.1 Ceras de girasol .....	12
1.4.2.1.1 Composición de las ceras de girasol .....	14
1.4.2.1.2 Valor agregado y usos de la ceras de girasol .....	15
1.4.3 Proceso extracción industrial del aceite de girasol .....	15
1.4.4 Aceite de girasol refinado .....	17
1.4.4.1 Descerado o winterizado .....	21
1.4.5 Residuos del proceso .....	23
1.4.5.1 Torta de filtración proveniente de la etapa de winterizado .....	25
1.5 APLICACIÓN DE LAS CERAS DE GIRASOL EN PELÍCULAS COMESTIIBLES .....	26
1.6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	27
<b>CAPÍTULO 2. RECUPERACIÓN DE CERAS DE GIRASOL .....</b>	<b>37</b>
2.1 OBJETIVO .....	37
2.2 INTRODUCCIÓN .....	37
2.3 METODOLOGÍA .....	39
2.3.1 Muestras y su caracterización .....	39
2.3.2 Fraccionamiento de la muestra de desecho y recuperación de ceras .....	39
2.3.3 Métodos analíticos .....	41
2.3.3.1 Índices de calidad del aceite recuperado .....	41
2.3.3.2 Composición en ácidos grasos aceite recuperado .....	41

2.3.3.3	Análisis de ceras .....	42
2.3.3.4	Determinación de la composición en ácidos grasos y alcoholes grasos de las ceras obtenidas .....	46
2.3.3.5	Condiciones de GC para determinar ácidos grasos en ceras .....	47
2.3.3.6	Condiciones de GC para determinar alcoholes grasos en ceras ....	48
2.3.3.7	Comportamiento térmico de ceras de girasol recuperadas .....	50
2.3.3.8	Medición de color aceite y ceras .....	50
2.3.3.9	Análisis estadístico .....	50
2.4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	51
2.4.1	Tortas de filtrado: caracterización y fraccionamiento .....	51
2.4.2	Aceites recuperados .....	51
2.4.3	Ceras purificadas .....	58
2.5	CONCLUSIONES .....	66
2.6	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	68

<b>CAPÍTULO 3. EMULSIONES ACUOSAS A PARTIR DE PECTINA Y CERAS DE GIRASOL .....</b>	<b>73</b>
3.1 OBJETIVO .....	73
3.2 INTRODUCCIÓN .....	73
3.2.1 Generalidades de las películas comestibles a partir de emulsiones .....	73
3.2.2 Pectina .....	75
3.2.2.1 Estructura química .....	76
3.2.2.2 Propiedades funcionales de la pectina .....	78
3.2.3 Ceras de girasol .....	79
3.2.4 Emulsiones .....	81
3.2.4.1 Agentes emulsionantes y espesantes .....	83
3.2.5 Estabilidad fisicoquímica de emulsiones .....	84
3.2.5.1 Interacciones moleculares en emulsiones .....	85
3.2.5.2 Fenómenos de desestabilización .....	87
3.2.5.2.1 Sedimentación y Cremado .....	88
3.2.5.2.2 Coalescencia y Floculación .....	90
3.2.5.2.3 Inversión de fases .....	91

3.2.5.2.4 Maduración de Ostwald .....	92
3.2.5.3 Estabilidad en emulsiones formadoras de películas comestibles .....	93
3.2.5.4 Reología de emulsiones como formadoras de películas comestibles .....	94
3.3 METODOLOGÍA .....	95
3.3.1 Materiales .....	95
3.3.2 Preparación de emulsiones .....	95
3.3.3 Caracterización de emulsiones .....	96
3.3.3.1 Estabilidad fisicoquímica .....	96
3.3.3.2 Cinéticas de desestabilización .....	98
3.3.3.3 Reología de las emulsiones .....	99
3.3.3.4 Distribución de tamaño de partícula .....	99
3.3.3.5 Microscopía Láser Confocal .....	99
3.3.3.6 Análisis estadísticos .....	100
3.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	100
3.4.1 Análisis de tamaño de partícula .....	101
3.4.2 Estabilidad fisicoquímica y cinéticas de desestabilización .....	106
3.4.3 Análisis reológico de las emulsiones .....	121
3.4.5 Análisis imágenes Microscopía Confocal .....	124
3.5 CONCLUSIONES .....	127
3.6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	129
<b>CAPÍTULO 4. PELÍCULAS COMESTIBLES .....</b>	<b>140</b>
4.1 OBJETIVO .....	140
4.2 INTRODUCCIÓN .....	140
4.2.1 Películas comestibles .....	141
4.2.1.1 Breve historia de las películas comestibles .....	142
4.2.2 Propiedades funcionales de las películas comestibles .....	143
4.2.3 Materiales usados en películas comestibles .....	147
4.2.3.1 La pectina como matriz polimérica para la elaboración de películas .....	149
4.2.3.2 El papel de los lípidos en las películas comestibles .....	151

4.2.3.3	Plastificantes .....	153
4.2.3.4	Películas compuestas y sus metodologías de elaboración .....	154
4.3	METODOLOGÍA .....	157
4.3.1	Materiales .....	157
4.3.2	Elaboración de películas .....	157
4.3.3	Caracterización de las películas comestibles .....	158
4.3.3.1	Espesor .....	158
4.3.3.2	Microestructura .....	159
4.3.3.3	Resistencia al agua .....	159
4.3.3.3.1	Índice de swelling (IS) .....	159
4.3.3.3.2	Absorción de agua (AG) .....	160
4.3.3.3.3	Velocidad de transmisión de vapor de agua (VTVA) y Permeabilidad al vapor de agua (PVA) .....	160
4.3.3.4	Propiedades mecánicas .....	161
4.3.3.5	Comportamiento térmico .....	162
4.3.3.6	Análisis estadístico .....	162
4.4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	162
4.4.1	Espesor .....	165
4.4.2	Microestructura .....	167
4.4.3	Resistencia al agua .....	175
4.4.3.1	Índice de Swelling (IS) .....	175
4.4.3.2	Absorción de agua (AG) .....	177
4.4.3.3	Velocidad de transmisión de vapor de agua (VTVA) y Permeabilidad al vapor de agua (PVA) .....	179
4.4.4	Propiedades Mecánicas .....	185
4.4.5	Comportamiento térmico .....	189
4.5	CONCLUSIONES .....	192
4.6	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	195
<b>CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y TRABAJOS A FUTURO .....</b>		<b>209</b>

# ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 2.1.</b> Condiciones de operación empleadas en la determinación de ácidos grasos .....	42
<b>Tabla 2.2.</b> Conjunto de estándares utilizados análisis de ceras .....	44
<b>Tabla 2.3.</b> Condiciones de operación empleadas en la determinación cromatográfica de ceras .....	45
<b>Tabla 2.4.</b> Conjunto de estándares utilizados para el análisis de ácidos grasos .....	48
<b>Tabla 2.5.</b> Conjunto de estándares utilizados para el análisis de alcoholes grasos .....	49
<b>Tabla 2.6.</b> Condiciones de operación empleadas en la determinación de alcoholes grasos .....	49
<b>Tabla 2.7.</b> Caracterización inicial de las muestras de torta de filtrado .....	51
<b>Tabla 2.8.</b> Índices de calidad aceite recuperado. Muestras AR1 y AR2 .....	52
<b>Tabla 2.9.</b> Composición de ácidos grasos de muestras de aceite recuperado .....	53
<b>Tabla 2.10.</b> Parámetros de color de las muestras de aceite recuperado .....	54
<b>Tabla 2.11.</b> Composición de ceras de los aceites recuperados .....	57
<b>Tabla 2.12.</b> Porcentajes relativos de ceras identificadas en las muestras de ceras purificadas .....	59
<b>Tabla 2.13.</b> Porcentajes relativos alcoholes grasos y ácidos grasos identificados en las muestras de ceras purificadas .....	61
<b>Tabla 2.14.</b> Parámetros de color de las muestras de ceras recuperadas .....	65
<b>Tabla 3.1.</b> Coloides alimentarios típicos .....	82
<b>Tabla 3.2.</b> Media geométrica ( $\mu\text{m}$ ) y desviación estándar de la media geométrica ( $\mu\text{m}$ ) del tamaño de partícula en emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol E1 y E2 .....	103
<b>Tabla 3.3.</b> Span (S) del tamaño de partícula en emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol E1 y E2 .....	105
<b>Tabla 3.4.</b> Zonas de estudio de estabilidad de emulsiones .....	109

<b>Tabla 3.5.</b> Viscosidades aparentes (Pa.s) basadas en el Modelo de la Potencia para emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol .....	123
<b>Tabla 4.1.</b> Materiales usados para películas comestibles .....	148
<b>Tabla 4.2.</b> Sustancias hidrofóbicas usadas como componentes de barrera en las películas comestibles .....	153
<b>Tabla 4.3.</b> Espesor ( $\mu\text{m}$ ) de las películas P1, P2 y películas control .....	166
<b>Tabla 4.4.</b> Índice de swelling (%) de las películas P1, P2 y películas control .....	177
<b>Tabla 4.5.</b> Absorción de agua (%) de las películas P1, P2 y películas control .....	178
<b>Tabla 4.6.</b> Velocidad de transmisión de vapor de agua ( $\text{VTVA} \times 10^2 \text{ g/día cm}^2$ ) y permeabilidad al vapor de agua ( $\text{PVA} \times 10^3 \text{ g mm/kPa día cm}^2$ ) de las películas P1, P2 y películas control .....	180
<b>Tabla 4.7.</b> Propiedades mecánicas de películas control y P1 .....	185
<b>Tabla 4.8.</b> Propiedades mecánicas de películas control y P2 .....	186

# ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.1.</b> Cultivo de Girasol. Áreas sembradas en Argentina .....	3
<b>Figura 1.2.</b> Evolución de la superficie sembrada en Argentina .....	4
<b>Figura 1.3.</b> Principales productores de grano de girasol. Años 2015/2016 .....	5
<b>Figura 1.4.</b> Molienda de granos y producción de Aceite de Girasol por Provincia en Argentina .....	5
<b>Figura 1.5.</b> Principales exportadores de Aceite de Girasol. Participación sobre total exportado. Años 2015-2016 .....	6
<b>Figura 1.6.</b> Semillas de girasol .....	7
<b>Figura 1.7.</b> Corte transversal de un aquenio de girasol .....	8
<b>Figura 1.8.</b> Estructuras químicas de los ácidos grasos insaturados principales en el aceite de girasol .....	11
<b>Figura 1.9.</b> Sección longitudinal del fruto de girasol, <b>B.</b> Corte transversal pericarpio, <b>C.</b> Esquema de la epidermis .....	13
<b>Figura 1.10.</b> Síntesis de cera a partir de ácido graso y alcohol graso .....	14
<b>Figura 1.11.</b> Diagrama de flujo del proceso industrial extracción aceite de girasol .....	17
<b>Figura 1.12.</b> Diagrama de flujo del proceso de refinación del aceite de girasol .....	19
<b>Figura 2.1.</b> Diagrama de flujo fraccionamiento muestra de desecho y recuperación de ceras de girasol .....	40
<b>Figura 2.2.</b> Lavados sucesivos de la fracción lipídica con hexano frío .....	40
<b>Figura 2.3.</b> <b>A.</b> Ceras de girasol con solvente. <b>B.</b> y <b>C.</b> Ceras de girasol obtenidas .....	41
<b>Figura 2.4.</b> CC para análisis de ceras .....	43
<b>Figura 2.5.</b> Saponificación de las ceras de girasol .....	47
<b>Figura 2.6.</b> Cromatogramas de ceras de girasol recuperadas, <b>A.</b> CP1 <b>B.</b> CP2. <b>SI</b> = Estándar Interno .....	60

<b>Figura 2.7.</b> Cromatograma alcoholes grasos en ceras de girasol recuperadas <b>A.</b> CP1. <b>B.</b> CP2 .....	62
<b>Figura 2.8.</b> Cromatogramas ácidos grasos en ceras de girasol recuperadas <b>A.</b> CP1. <b>B.</b> CP2 .....	63
<b>Figura 2.9.</b> Comportamiento térmico de ceras de girasol a) CP1 b) CP2 .....	64
<b>Figura 3.1.</b> Pectina en la pared celular de las plantas .....	76
<b>Figura 3.2.</b> Estructura esquemática de la pectina .....	77
<b>Figura 3.3.</b> Estructura primaria de homogalacturonano .....	78
<b>Figura 3.4.</b> Emulsiones O/W, W/O y W/O/W .....	81
<b>Figura 3.5.</b> Formación de emulsiones .....	83
<b>Figura 3.6.</b> Fenómenos de desestabilización de emulsiones .....	88
<b>Figura 3.7. A.</b> Sedimentación. <b>B.</b> Cremado .....	89
<b>Figura 3.8. A.</b> Floculación. <b>B.</b> Coalescencia .....	91
<b>Figura 3.9.</b> Fenómeno de inversión de fases .....	92
<b>Figura 3.10.</b> Maduración de Ostwald .....	93
<b>Figura 3.11.</b> Principio de medición TURBISCAN MA 2000 .....	97
<b>Figura 3.12.</b> Elaboración de emulsiones y su disposición en Equipo TURBISCAN .....	98
<b>Figura 3.13.</b> Emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol .....	101
<b>Figura 3.14.</b> Distribución de tamaño de partícula con valores medios. E1: A); B), C). E2: D), E), F) .....	102
<b>Figura 3.15.</b> E1. Perfiles %BS. Proporción ceras de girasol <b>A)</b> 0,1 <b>B)</b> 0,2 <b>C)</b> 0,3. Escala de tiempo en horas .....	107
<b>Figura 3.16.</b> E2. Perfiles %BS. Proporción ceras de girasol <b>A)</b> 0,1 <b>B)</b> 0,2 <b>C)</b> 0,3. Escala de tiempo en horas .....	108
<b>Figura 3.17.</b> E1 y E2. Perfiles %BS. Ampliación zona de sedimentación Pectina 1%. Proporción ceras de girasol: 0,1. Escala de tiempo en horas .....	110
<b>Figura 3.18.</b> E1 y E2. Perfiles %BS. Ampliación zona de sedimentación Pectina 1%. Proporción ceras de girasol: 0,2. Escala de tiempo en horas .....	111
<b>Figura 3.19.</b> E1 y E2. Perfiles %BS. Ampliación zona de sedimentación Pectina 2%. Proporción ceras de girasol: 0,1. Escala de tiempo en horas .....	113

<b>Figura 3.20.</b> Cinética de desestabilización. Sedimentación. Efecto contenido de ceras de girasol. Pectina 1% m/m. Zona 1. <b>A.</b> E1 <b>B.</b> E2 .....	114
<b>Figura 3.21.</b> Cinética de desestabilización. Sedimentación. Efecto contenido de pectina. Proporción 0,1. Zona 1. <b>A.</b> E1 <b>B.</b> E2 .....	115
<b>Figura 3.22.</b> Cinética de desestabilización. Clarificación. Efecto contenido de ceras de girasol. Proporciones 0,2 y 0,3. Zona 1. <b>A.</b> Pectina 2% m/m <b>B.</b> Pectina 3% m/m .....	115
<b>Figura 3.23.</b> Cinética de desestabilización. Coalescencia. Efecto del contenido de ceras de girasol y pectina. Zona 2. E1 / % m/m pectina: A/1, B/2, C/3. E2 / % m/m pectina: D/1, E/2, F/3 .....	117
<b>Figura 3.24.</b> Cinética de desestabilización. Cremado. Efecto del contenido de ceras de girasol y pectina. Zona 3. E1 / % m/m pectina: A/1, B/2, C/3. E2 / % m/m pectina: D/1, E/2, F/3 .....	119
<b>Figura 3.25.</b> E1. Perfiles %BS. Ejemplo ampliación zona de cremado Pectina 2%. Proporción ceras de girasol: 0,2. Escala de tiempo en horas .....	120
<b>Figura 3.26.</b> Comportamiento reológico de las emulsiones. <b>A.</b> E1, 1% m/m Pectina, <b>B.</b> E1, 2% m/m Pectina, <b>C.</b> E1, 3% m/m Pectina, <b>D.</b> E2, 1% m/m Pectina, <b>E.</b> E2, 2% m/m Pectina, <b>F.</b> E2, 3% m/m Pectina .....	121
<b>Figura 3.27.</b> Imágenes de microscopía láser confocal. Emulsiones E1. <b>A.</b> Pectina 1% m/m <b>B.</b> Pectina 2% m/m <b>C.</b> Pectina 3% m/m .....	125
<b>Figura 3.28.</b> Imágenes de microscopía láser confocal. Emulsiones E2. <b>A.</b> Pectina 1% m/m <b>B.</b> Pectina 2% m/m <b>C.</b> Pectina 3% m/m .....	126
<b>Figura 4.1.</b> Transferencias que pueden ser controladas por barreras comestibles .....	144
<b>Figura 4.2.</b> Representación esquemática del modelo “caja de huevo” .....	151
<b>Figura 4.3.</b> Diagrama elaboración de películas comestibles de pectina y ceras de girasol .....	158
<b>Figura 4.4.</b> Películas comestibles de pectina y ceras de girasol P1. <b>A.</b> Pectina 1% m/m <b>B.</b> Pectina 2% m/m <b>C.</b> Pectina 3% m/m .....	163
<b>Figura 4.5.</b> Películas comestibles de pectina y ceras de girasol P2. <b>A.</b> Pectina 1% m/m <b>B.</b> Pectina 2% m/m <b>C.</b> Pectina 3% m/m .....	164
<b>Figura 4.6.</b> <b>A.</b> Películas control de pectina. <b>B.</b> Comparación entre película control y película con adición de ceras de girasol .....	165

<b>Figura 4.7.</b> Fotografías SEM de las películas control elaboradas con 2% m/m de pectina. <b>A.</b> Superficie superior. <b>B.</b> Superficie inferior. <b>C.</b> Transversal .....	167
<b>Figura 4.8.</b> Fotografías SEM de las películas P1. Superficie superior. % m/m pectina – proporción de ceras <b>A.</b> 1 - 0,1; <b>B.</b> 1 - 0,2; <b>C.</b> 1 - 0,3; <b>D.</b> 2 - 0,1; <b>E.</b> 2 - 0,2; <b>F.</b> 2 - 0,3; <b>G.</b> 3 - 0,1; <b>H.</b> 3 - 0,2; <b>I.</b> 3 - 0,3 .....	169
<b>Figura 4.9.</b> Fotografías SEM de las películas P2. Superficie superior. % m/m pectina – proporción de ceras <b>A.</b> 1 - 0,1; <b>B.</b> 1 - 0,2; <b>C.</b> 1 - 0,3; <b>D.</b> 2 - 0,1; <b>E.</b> 2 - 0,2; <b>F.</b> 2 - 0,3; <b>G.</b> 3 - 0,1; <b>H.</b> 3 - 0,2; <b>I.</b> 3 - 0,3 .....	170
<b>Figura 4.10.</b> Fotografías SEM de las películas P1. Superficie inferior. % m/m pectina – proporción de ceras <b>A.</b> 1 - 0,1; <b>B.</b> 1 - 0,2; <b>C.</b> 1 - 0,3; <b>D.</b> 2 - 0,1; <b>E.</b> 2 - 0,2; <b>F.</b> 2 - 0,3; <b>G.</b> 3 - 0,1; <b>H.</b> 3 - 0,2; <b>I.</b> 3 - 0,3 .....	171
<b>Figura 4.11.</b> Fotografías SEM de las películas P2. Superficie inferior. % m/m pectina – proporción de ceras <b>A.</b> 1 - 0,1; <b>B.</b> 1 - 0,2; <b>C.</b> 1 - 0,3; <b>D.</b> 2 - 0,1; <b>E.</b> 2 - 0,2; <b>F.</b> 2 - 0,3; <b>G.</b> 3 - 0,1; <b>H.</b> 3 - 0,2; <b>I.</b> 3 - 0,3 .....	172
<b>Figura 4.12.</b> Fotografías SEM de las películas P1. Transversal. % m/m pectina – proporción de ceras <b>A.</b> 1 - 0,1; <b>B.</b> 1 - 0,2; <b>C.</b> 1 - 0,3; <b>D.</b> 2 - 0,1; <b>E.</b> 2 - 0,2; <b>F.</b> 2 - 0,3; <b>G.</b> 3 - 0,1; <b>H.</b> 3 - 0,2; <b>I.</b> 3 - 0,3 .....	173
<b>Figura 4.13.</b> Fotografías SEM de las películas P2. Transversal. % m/m pectina – proporción de ceras <b>A.</b> 1 - 0,1; <b>B.</b> 1 - 0,2; <b>C.</b> 1 - 0,3; <b>D.</b> 2 - 0,1; <b>E.</b> 2 - 0,2; <b>F.</b> 2 - 0,3; <b>G.</b> 3 - 0,1; <b>H.</b> 3 - 0,2; <b>I.</b> 3 - 0,3 .....	174
<b>Figura 4.14.</b> Curva calorimétrica representativa de las películas de pectina y ceras de girasol. <b>A.</b> P1 <b>B.</b> P2 .....	190

# CAPÍTULO 1

## INTRODUCCIÓN GENERAL

### 1.1 OBJETIVOS

El objetivo general de la presente tesis consiste en realizar un estudio a escala laboratorio de procesos para la obtención o recuperación de subproductos y derivados a partir de residuos de la industria oleaginosa y evaluación de sus posibles aplicaciones.

Los **objetivos específicos** pueden definirse como:

- ⊙ Estudio de la recuperación de ceras y de aceite residual provenientes de los desechos del proceso de descerado en la elaboración de aceite de girasol.
- ⊙ Evaluación de la cantidad y calidad del aceite recuperado, con el fin de determinar la porción de aceite que actualmente es perdido y su potencial reutilización.
- ⊙ Determinación de la composición y las propiedades fisicoquímicas de las ceras de girasol recuperadas.
- ⊙ Análisis de la viabilidad del uso de las ceras de girasol recuperadas para la obtención de películas comestibles partiendo de emulsiones acuosas de pectina de bajo metoxilo y ceras de girasol.

## 1.2 GENERALIDADES DEL CULTIVO DE GIRASOL

El cultivo de girasol presenta la ventaja de adaptarse fácilmente a diferentes condiciones ambientales y se ha convertido en una buena alternativa en la práctica de rotación que evita el agotamiento del suelo. Argentina cuenta con condiciones agroecológicas de clima y suelo muy favorables para su siembra, siendo un cultivo tradicional que cuenta con una amplia variabilidad genética, lo que hace que este país sea uno de los mayores productores de esta oleaginosa a nivel mundial. El principal destino del grano de girasol en Argentina es la industrialización para la elaboración de aceite, siendo empleado además en confitería y productos panificados.

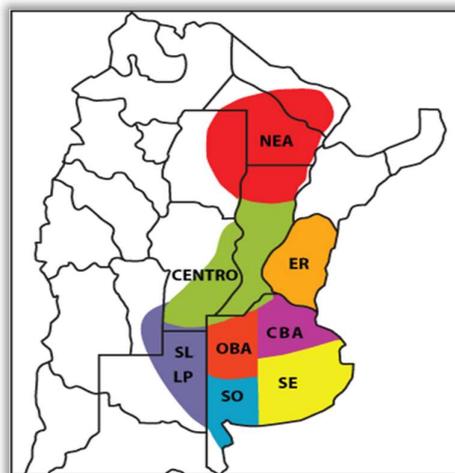
El girasol (*Helianthus annuus L.*) es una de las especies más antiguas originarias de Norte América. Su desarrollo principal se produjo en la zona del centro-este de Estados Unidos y norte de México cuyas evidencias datan desde los años 3000 a.c.. Fue introducido a Europa a comienzos del siglo XVI extendiéndose a Francia, Italia, Holanda y Rusia.

El cultivo fue introducido en Argentina por inmigrantes rusos que llevaban las semillas para consumo humano. Desde 1930 hasta 1959 se produjo una gran expansión del cultivo en el país reportándose en la primera campaña cerca de 400 hectáreas sembradas. Desde 1972 aparecieron los primeros híbridos aumentando los rendimientos en cantidad de semillas y aceite (Melgarejo, 2003).

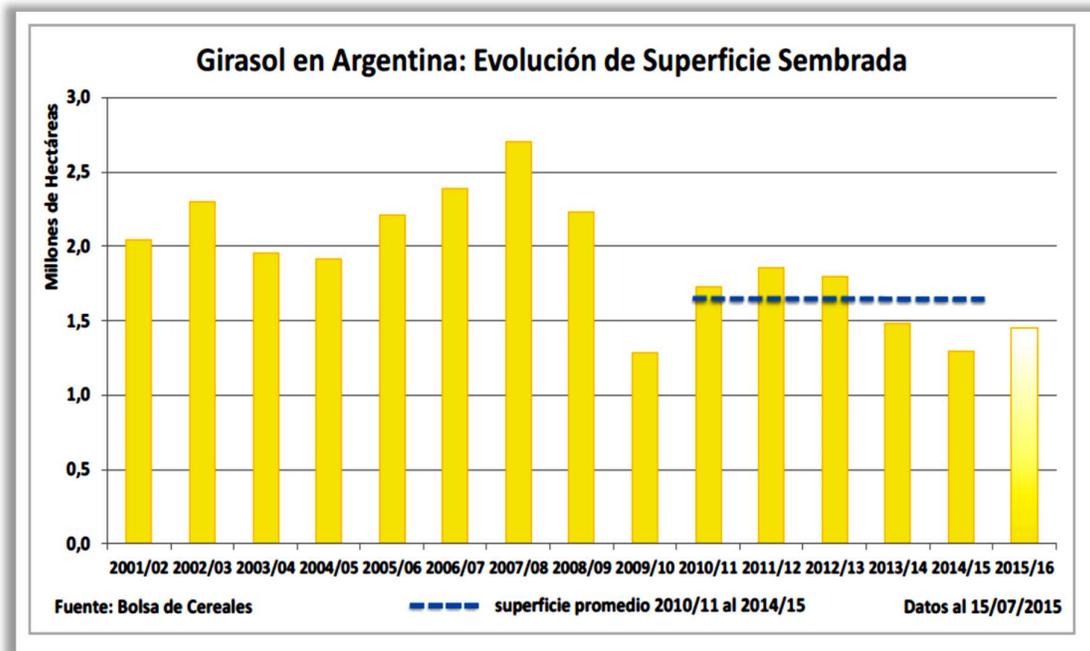
Durante los últimos años el complejo aceitero argentino ha sido uno de los sectores de la industria alimentaria que ha evidenciado mayor crecimiento, habiendo

incrementado significativamente su capacidad de procesamiento. En Argentina, el aceite de girasol es el segundo en importancia después del de soja. Por la magnitud de su producción, este país posee las plantas de procesamiento más grandes a nivel mundial y con tecnología de avanzada; además, sus costos de industrialización son excelentes y ostentan la mejor posición a nivel mundial (Autino, 2007).

En Argentina el área potencialmente cultivable con girasol se extiende desde la provincia de Chaco en el norte, hasta el sur de la región pampeana, siendo Buenos Aires, Entre Ríos, Santa Fe, La Pampa, Córdoba, Santiago del Estero y Chaco las principales provincias que integran el área de producción (Figura 1.1) (ASAGIR, 2002). Las estadísticas nacionales reportan que para la campaña 2015/2016 la siembra de girasol cubrió la totalidad del área estimada en 1,5 millones de hectáreas, registrando un aumento del 11,5% en comparación al ciclo previo (2014/2015) (Bolsa de Cereales, 2015) como se puede observar en la Figura 1.2, donde a pesar de la caída en la campaña 2009/2010 se ha logrado incrementar las hectáreas de siembra.

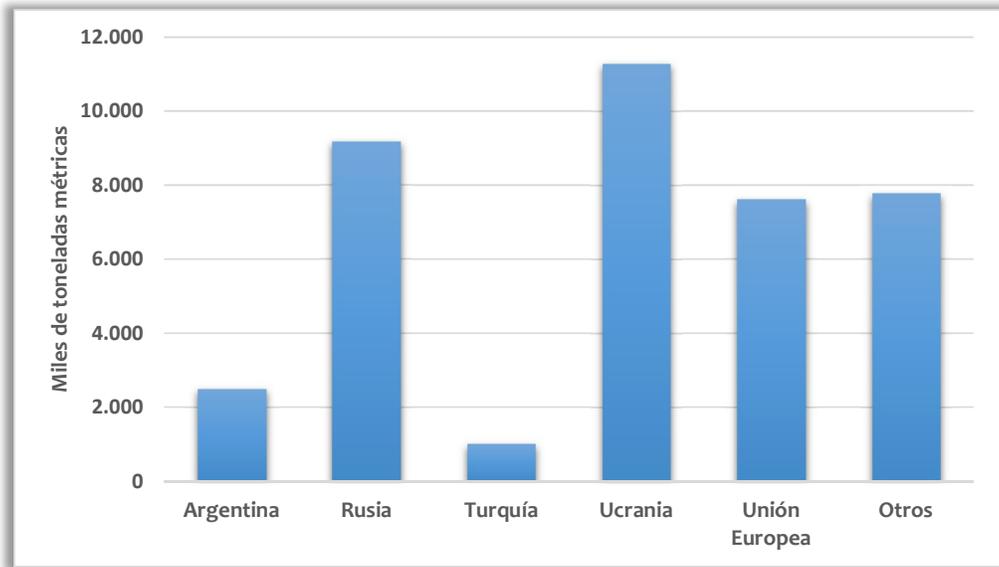


**Figura 1.1.** Cultivo de Girasol. Áreas sembradas en Argentina. Fuente: ASAGIR (2002).

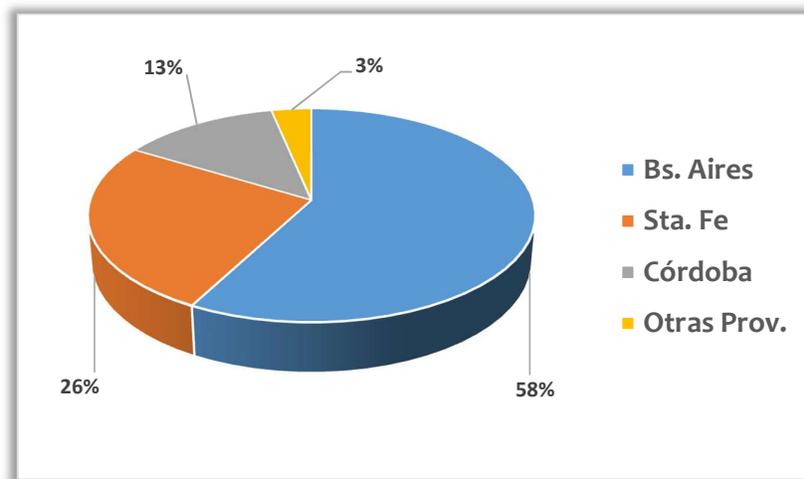


**Figura 1.2.** Evolución de la superficie sembrada en Argentina. Fuente: Bolsa de Cereales (2015).

Actualmente, la industria nacional produce 2,5 millones de toneladas de semilla de girasol y 1,2 millones de toneladas de aceite crudo (campaña 2015/2016), consolidándose Argentina como el tercer productor mundial de semilla y aceite de girasol, siendo sólo superado por Ucrania y Rusia (National Sunflower Association, 2016; USDA, 2016) (Figura 1.3). Aproximadamente el 58% de la industrialización de la semilla se realiza en la Provincia de Buenos Aires, seguida por Santa Fe con el 26% y Córdoba con el 3% (Campaña 2015/2016) (Figura 1.4) (CIARA, 2015).

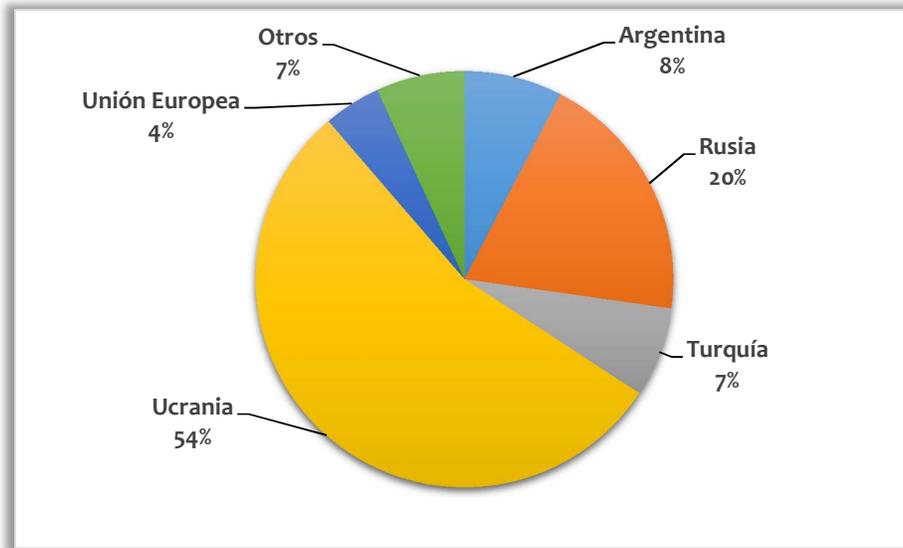


**Figura 1.3.** Principales productores de grano de girasol. Años 2015/2016. Fuente: (USDA, 2016).



**Figura 1.4.** Molienda de granos y producción de aceite de girasol por provincia en Argentina. Año 2015. Fuente: CIARA (2015).

A nivel de exportación de aceite de girasol Argentina se ubica en el tercer lugar, después de Ucrania y Rusia (Figura 1.5) (USDA, 2016), comercializando actualmente al exterior aproximadamente el 47% de su producción (600 miles de toneladas).



**Figura 1.5.** Principales exportadores de aceite de girasol. Participación sobre total exportado. Años 2015-2016. Fuente: (USDA, 2016).

### 1.3 CARACTERÍSTICAS DEL CULTIVO DE GIRASOL

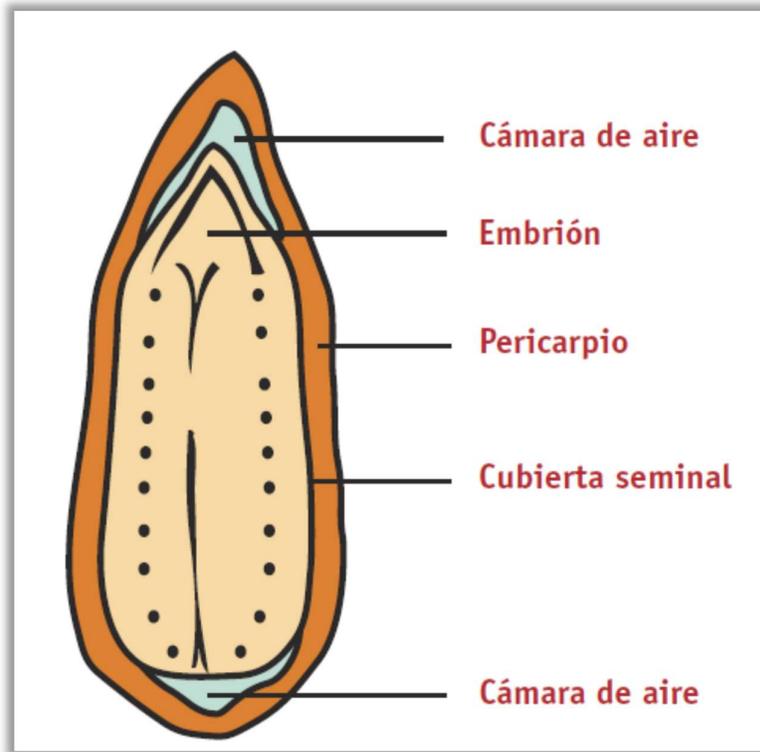
El girasol pertenece a la familia de las *Compositae* (Asteraceas) y al género *Helianthus*. Es un cultivo anual cuya altura puede variar entre 1 a 3 metros. Su inflorescencia amarilla consiste en una cabeza circular o *capítulo* con un grupo de flores que contienen *aquenos*, en cuyo núcleo se deposita el aceite, (Salas et al., 2015) (Figura 1.6).

Los girasoles crecen en climas templados suaves, principalmente entre los 20 y 25 °C, extendiéndose a lo largo de ambientes variados desde zonas casi secas (menos de 500 mm de precipitación pluvial anual) hasta zonas muy húmedas (1000 mm de precipitación pluvial anual) (ASAGIR, 2002). Los cultivos de girasol poseen una alta tolerancia a las fluctuaciones de temperatura diurna entre los 8 y 34 °C. En América del Sur las condiciones climáticas más adecuadas para el desarrollo de cultivos se encuentran en Argentina y Uruguay (Grompone, 2011).



**Figura 1.6.** Semillas de girasol.

El fruto o grano de girasol, también llamado *aquenio*, está formado por el embrión o semilla, cubierta por tegumentos y por el pericarpio, usualmente llamado cáscara (Figura 1.7). Las dimensiones de los aquenios varían desde 7 a 25 mm de largo y desde 4 a 13 mm de ancho (Seiler, 1997). La síntesis y acumulación de aceite se produce en las semillas, que junto con las proteínas y carbohidratos representa el 70% del peso del fruto (Franchini y Hernández, 2006; Grompone, 2011). La cáscara de las semillas de girasol comprende el 21 al 30% del peso total del fruto y se encuentra compuesta principalmente por celulosa, lignina y hemicelulosa (Dorrell y Vick, 1997). El fruto de girasol contiene aproximadamente 0,3 g de cera/kg y prácticamente su totalidad se localiza en la cáscara (Baümler et al., 2007; Morrison, 1983).



**Figura 1.7.** Corte transversal de un aquenio de girasol.

#### **1.4 ACEITE DE GIRASOL**

Como todos los aceites, el aceite de girasol se encuentra compuesto mayoritariamente por triglicéridos (98-99%) en cuya molécula de glicerol tiene esterificados sus tres grupos hidroxilos por tres ácidos grasos (Grompone, 2011). Las características físicas y de calidad final del aceite dependen fuertemente de su composición en ácidos grasos, llamados también componentes mayoritarios, y de componentes minoritarios, que a su vez son influenciados por la variedad de la semilla, las condiciones ambientales, agronómicas y de procesamiento.

### **1.4.1 Componentes mayoritarios**

Existe una dependencia significativa entre diferentes propiedades de los triglicéridos y aspectos relacionados con la composición en ácidos grasos, como son su distribución dentro de la molécula, longitud de cadena, ubicación, número de dobles enlaces y configuración (cis o trans) (O'Brien, 2008).

#### **1.4.1.1 Ácidos grasos**

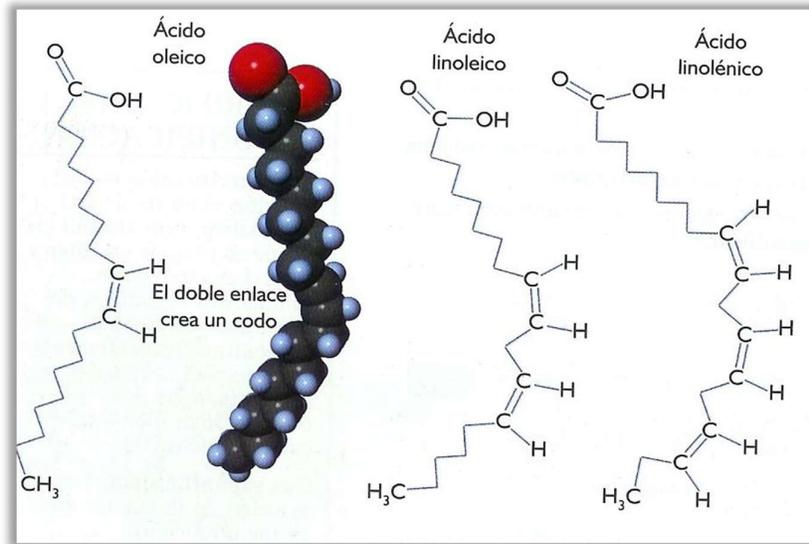
Los ácidos grasos son los componentes más importantes de los aceites y determinan sus características físicas como densidad, comportamiento en el almacenamiento y palatabilidad (Carbone et al., 2008); además de las propiedades que caracterizan su calidad nutritiva, culinaria e industrial. El aceite de girasol tradicional se encuentra compuesto principalmente por ácido palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oleico (C18:1) y linoleico (C18:2), siendo estos dos últimos los más representativos (900 g/kg de aceite) y encontrándose en cantidades porcentuales de 15-30% (oleico) y de 55-75% (linoleico) (Miller y Fick, 1997; Rosbaco, 2005). En la Figura 1.8 se muestra la estructura química de los ácidos grasos insaturados principales en el aceite de girasol.

El ácido linoleico es un ácido esencial para el cuerpo humano dado que interviene en procesos metabólicos y no es sintetizado por el organismo, pero también debido a su insaturación, aumenta la susceptibilidad del aceite a deterioro. No obstante, el desarrollo de híbridos alto oleico ha permitido obtener aceites de girasol con alto contenido de ácido oleico que los hace menos susceptibles a la oxidación durante la refinación (Zuil, 2015) y permite la cocción de los alimentos a más alta temperatura, manteniendo sus cualidades organolépticas por más tiempo.

Las condiciones de clima (temperatura) durante el crecimiento del cultivo tienen un efecto importante en la variación de dicha composición acídica, afectando la actividad y la síntesis de la enzima oleil-CoA-desaturasa que desatura el ácido oleico para dar ácido linoleico (Agüero et al., 1999). Es decir, semillas producidas en climas fríos normalmente contienen un 70% o más de ácido linoleico; en contraste, el aceite producido en ambientes más cálidos puede contener tan sólo el 25% de ácido linoleico. Con el fin de variar el contenido de ácidos grasos en el aceite, en los años 80 se introdujeron cultivares con un alto contenido de ácido oleico (80%) alterando la expresión de la enzima oleil-CoA-desaturasa y, en consecuencia, decreciendo los porcentajes del total de ácidos grasos saturados (Dorrell y Vick, 1997).

Lo anterior, permite clasificar al aceite teniendo en cuenta su composición en ácidos grasos. El Código Alimentario Argentino (CAA, 2013) establece la siguiente clasificación:

- *Aceite de girasol convencional*: Contenido de ácido oleico sea como máximo 54,9% sobre el total de ácidos grasos.
- *Aceite de girasol medio oleico*: Contenido de ácido oleico entre 55,0 y 74,9% sobre el total de ácidos grasos.
- *Aceite de girasol alto oleico*: Contenido de ácido oleico igual o mayor a 75,0% sobre el total de ácidos grasos.
- *Aceite de girasol Alto Esteárico-Alto Oleico (AEAO)*: Contenido de ácido oleico igual o mayor a 60,0% y de ácido esteárico igual o mayor a 10,0% sobre el total de ácidos grasos.



**Figura 1.8.** Estructuras químicas de los ácidos grasos insaturados principales en el aceite de girasol.

#### 1.4.2 Componentes minoritarios

En el aceite de girasol es de gran importancia la presencia de componentes de proporciones menores, diferentes a los triglicéridos. El contenido de los mismos provee información altamente específica acerca de la identidad de un aceite y puede usarse para caracterizarlo o conocer las etapas de procesamiento a través de las cuales se ha obtenido (Ferrari et al., 1996). Entre los componentes minoritarios del aceite de girasol crudo se encuentran diacilglicerolos, fosfolípidos, glicolípidos, ácidos grasos libres, alcoholes alifáticos, ceras, hidrocarburos, compuestos fenólicos, carotenoides, clorofila, trazas de metales, tocoferoles y fitoesteroles (Velasco y Ruiz-Méndez, 2015). Los dos últimos tienen un impacto positivo sobre las propiedades tecnológicas y nutricionales del aceite de girasol, en cambio otros como los ácidos grasos libres tienen un efecto pro-oxidante (Miyashita y Takagi, 1986) y, junto con los fosfolípidos y ceras deben ser eliminados en el proceso de refinación por su influencia en la calidad y estabilidad de los aceites comestibles (Bäumler et

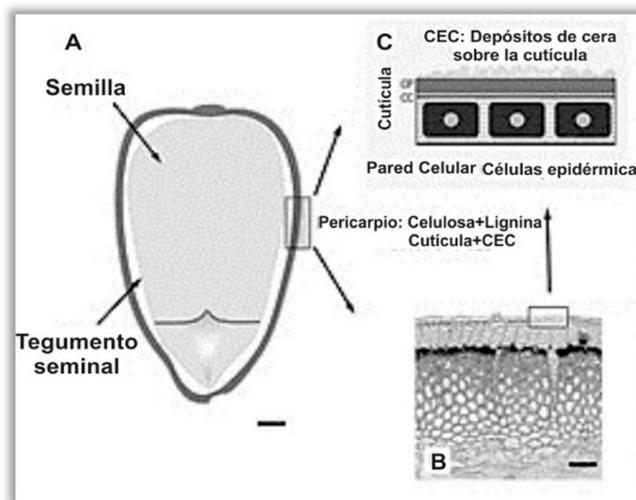
al., 2010; Carelli et al., 2002). Los procesos de extracción del aceite de girasol deben llevar a maximizar la recuperación de componentes menores que son deseados, mientras que en la refinación lo ideal es minimizar las pérdidas de éstos y maximizar la eliminación de los no deseados (Anderson, 2005).

#### **1.4.2.1 Ceras de girasol**

En el fruto de girasol, las ceras se ubican principalmente en la cara externa del pericarpio o cáscara, llamado también cutícula, en concentraciones de hasta un 3% en peso de semilla (Baümler et al., 2006; 2007; Carelli et al., 2002). Dicho contenido puede variar dependiendo del híbrido, del origen de la semilla y de las condiciones ambientales (Morrison, 1983).

La Figura 1.9 muestra la sección longitudinal del fruto, la distribución de los tejidos en el pericarpio y la ubicación de la cutícula y de las ceras epicuticulares (CEC) en el fruto. La cutícula tiene la función principal de actuar como barrera contra la pérdida de agua no controlada de los frutos (Riederer y Schreiber, 2001). Resultados de Franchini y Hernández (2006) muestran un incremento en el espesor de la cutícula y en la cantidad de ceras en el fruto de girasol en plantas sometidas a déficit hídrico. Se ha estudiado la relación entre fechas de plantación e irrigación de los cultivos de girasol con el contenido de ceras, apreciando una correlación positiva entre el porcentaje de cáscara de la semilla y el contenido de ceras en el aceite extraído, asociando un porcentaje menor de cáscara con un bajo contenido de ceras; pero también afectando el contenido de aceite en la semilla, es decir, cuando el porcentaje de cáscara aumentó, el contenido de aceite en la semilla disminuyó (Morrison et al., 1984). En el procesamiento de la semilla de girasol, un

descascarado más eficiente de las semillas conllevaría a extraer menor cantidad de ceras (Morrison, 1983), lo que permitiría prescindir de la etapa de winterizado o descerado en el proceso de refinación; pero también resultaría una torta más compacta y con menor porosidad, lo que dificultaría la extracción del aceite remanente en ella mediante solvente (De Figueiredo et al., 2014). Por tales razones, el descascarado parcial de las semillas, dejando entre un 10-12% de cáscara residual, es bastante común en la industria oleaginosa y presenta ventajas como: un aceite de mejor calidad por el bajo contenido de ceras, disminución de la erosión de las prensas y mejor calidad de la harina extraída por el aumento en el contenido de proteínas (Subramanian et al., 1990). La aptitud del fruto de girasol para ser descascarado se ve afectada en cierta medida por diferentes variables como son las características estructurales de la cáscara, el tamaño y densidad del grano y su contenido de humedad y de aceite. Además, el tipo de híbrido y las condiciones ambientales son importantes para obtener semillas de girasol de la calidad adecuada para el proceso de descascarado (Di Leo et al., 2004).

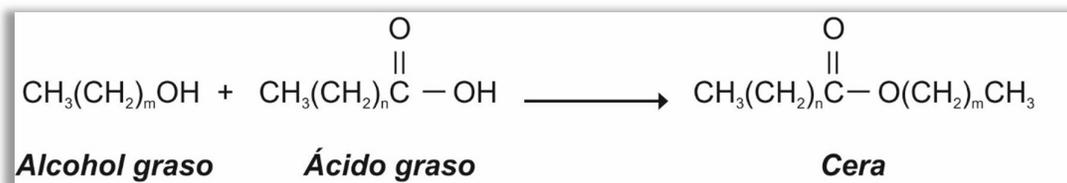


**Figura 1.9.** A. Sección longitudinal del fruto de girasol, B. Corte transversal pericarpio, C. Esquema de la epidermis.

Las ceras son extraídas junto con el aceite, y su cantidad puede variar de acuerdo al híbrido, al origen y conservación de la semilla, al proceso de descascarado del fruto y si el método de extracción es por presión o por solventes (Carelli et al., 2002; Carrín y Carelli, 2010). Se han reportado valores de ceras entre 0,02 y 0,35% m/m en aceite crudo de girasol (Martini y Añón, 2000) y de aproximadamente 0,06% m/m para aceites de girasol refinados (Morrison, 1983).

#### 1.4.2.1.1 Composición de las ceras de girasol

Las ceras de girasol son ésteres saturados de cadena larga (en un rango de 36 a 60 átomos de carbono, C36-C60) derivados de alcoholes grasos y ácidos grasos (Figura 1.10) (Baümler et al., 2007; Carelli et al., 2002; Martini et al., 2008).



**Figura 1.10.** Síntesis de cera a partir de ácido graso y alcohol graso.

Las ceras solubles en el aceite son aquellas ceras que contienen menos de 40 átomos de carbono en su estructura (< C40), encontrándose en su mayoría en aceites refinados (Carelli et al., 2002; Henon et al., 2001), mientras que las ceras parcialmente solubles en el aceite contienen entre 40 y 42 átomos de carbono (C40-C42), y las ceras no solubles o cristalizables, con más de 44 átomos de carbono (> C44), se eliminan parcial o totalmente por medio del proceso de refinación en la etapa de descerado (Carelli et al., 2012).

#### **1.4.2.1.2 Valor agregado y usos de las ceras de girasol**

Se ha reportado una gran variedad de usos de las ceras de girasol en la industria cosmética, formando geles de aceite duros, muy homogéneos y estables térmicamente que se aplican en el elaboración de lápices para labios y en productos para el cuidado de la piel donde también modifican su textura y confirieren consistencia (Endlein y Peleikis, 2011; Koster Keunen, 2016). Además, en los últimos años se ha difundido la incorporación de ceras de girasol en productos para cuidado de mascotas (Natural Dog Company, 2016) y su uso se ha expandido a la producción de papel, envases de alimentos etc. (Hamilton, 1995).

Las ceras han sido utilizadas en la industria alimentaria como protección contra la desecación durante el almacenamiento de frutas (Hagenmaier, 2005), siendo su uso en recubrimientos por inmersión uno de los métodos de preservación y protección más antiguo de las frutas (Villada et al., 2007) y encontrándose en expansión su aplicación en la formulación de emulsiones para la preparación de recubrimientos comestibles para alimentos (Baümler et al., 2013; 2014; Hamilton, 1995). El uso como ingrediente en la alimentación del ganado mezclado con el grano y ensilaje también ha sido reportado (Grompone, 2005).

#### **1.4.3 Proceso de extracción industrial del aceite de girasol**

Antes de entrar al proceso de extracción, las semillas son acondicionadas de acuerdo a su contenido de humedad, secando las mismas si así lo requieren, con el fin de alcanzar la humedad deseada (aprox. 6%) (Melgarejo, 2003) y también eliminando impurezas o materia extraña que pueda provenir de la cosecha.

La cáscara es separada de la semilla por impacto. Es importante resaltar que un descascarado excesivo provoca pérdidas de aceite y un descascarado insuficiente reduce la eficiencia de la extracción de aceite (Dorrell y Vick, 1997).

La extracción del aceite de girasol se realiza combinando un método de extracción por presión y una posterior extracción usando solventes orgánicos (hexano). Primero, el aceite crudo se obtiene por prensado de las semillas, obteniéndose un material denominado torta o “expeller” que posee aún un alto contenido de aceite ocluido. Dicha torta se transforma en collets mediante “expanders” que permiten incrementar su porosidad y percolación para luego extraer el aceite remanente mediante solvente caliente que entra en contacto con los collets por lavado en contracorriente o por inmersión. En el extractor se pone en contacto el material con el solvente, el cual disuelve el aceite formando así una mezcla llamada miscela. La miscela, aceite más solvente, se separa en sus componentes mediante destilación, en donde el hexano es vaporizado, condensado y recirculado y el aceite obtenido se une al aceite extraído previamente mediante prensado. Aunque el aceite obtenido por prensado contiene una alta concentración de harinas finas, que pueden ser separadas por decantación y filtración (Dijkstra y Segers, 2007), su calidad puede ser más alta que la correspondiente al aceite obtenido a partir de la extracción por solventes ya que posee una cantidad menor de compuestos minoritarios menos solubles en aceite (Anderson, 2005). Por el contrario, la extracción por solvente utiliza actualmente hexano, el cual, además del aceite, extrae otros componentes llamados minoritarios que afectan el sabor, aroma, color, composición y apariencia del aceite y deben ser eliminados mediante varias etapas de refinado antes de que éste sea incorporado a productos alimenticios y/o se venda a los consumidores. El

diagrama de flujo del proceso de extracción de aceite de girasol se muestra en la Figura 1.11.



**Figura 1.11.** Diagrama de flujo del proceso industrial extracción aceite de girasol.

#### 1.4.4 Aceite de girasol refinado

Para refinar el aceite de girasol crudo se han desarrollado e implementado varios procesos que son necesarios debido a las diferentes propiedades químicas de las sustancias que se desean eliminar. Existen dos métodos de refinación ampliamente difundidos: químico o físico, cuya aplicación depende de la naturaleza

del aceite, de sus propiedades y de su composición. Aunque las dos tecnologías tienen el mismo objetivo, lograr un aceite de calidad adecuada para el consumo, el refinado físico es usado principalmente en aceites de bajo peso molecular, siendo el refinado químico el método más común en aceite de girasol (Dorrell y Vick, 1997).

El refinado químico comprende una etapa de neutralización con hidróxido de sodio que remueve ácidos grasos libres, algunos fosfolípidos y otros compuestos. En el refinado físico, los mismos son removidos llevando el aceite a temperaturas altas en la etapa de desodorizado (240 - 260 °C), lo que puede promover su deterioro (Charrouf et al., 2008).

En la Figura 1.12 se muestran las distintas etapas típicas del refinado químico al que el aceite de girasol suele ser sometido, aunque pueden existir ciertas variantes según la composición y propiedades del mismo. En la etapa de desgomado del aceite de girasol, se remueven fosfolípidos presentes en el aceite crudo, así como también compuestos solubles en agua como azúcares y glicolípidos y la mayoría de las impurezas, como son residuos de harinas que generalmente interfieren en los procesos siguientes (Dijkstra, 2015). El desgomado proporciona al aceite crudo una condición adecuada para el almacenamiento a tiempos prolongados y prepara al aceite para el refinamiento físico y/o la producción de lecitina (Anderson, 2005). En la actualidad, el desgomado acuoso se usa sólo para eliminar fosfolípidos hidratables en agua y los que no son hidratables pueden ser eliminados mediante desgomados con ácido cítrico y gel de sílice que también contribuyen a reducir los niveles de fósforo en el aceite.



**Figura 1.12.** Diagrama de flujo del proceso de refinación del aceite de girasol.

Como ya se ha explicado anteriormente, para remover los ácidos grasos libres, además de sustancias mucilaginosas, fosfolípidos y pigmentos del aceite crudo, se agrega hidróxido de sodio en la etapa de neutralización. Este proceso se realiza a una temperatura no mayor a 74 °C. Los ácidos grasos libres precipitan en forma de jabones y son removidos por separación mecánica (centrifugación). Después el aceite es lavado con agua caliente para eliminar el exceso de jabones y secado al vacío para reducir los niveles de humedad (Charrouf et al., 2008). El aceite refinado debe tener un contenido de humedad de 0,1%, una acidez expresada

en ácido oleico de 0,02% (CAA, 2013) y un contenido de jabón de 50 ppm como niveles máximos (Carrín y Carelli, 2010).

En la etapa de blanqueado, se eliminan colores no deseados (carotenoides y clorofilas) usando agentes adsorbentes y se prepara al aceite para procesos posteriores. Para esta etapa es importante varios factores como: tipo de adsorbente a utilizar, tiempo, temperatura y humedad del aceite. Luego el aceite es filtrado usando membranas, telas o coadyudantes (O'Brien, 2008).

El aceite de girasol, como otros aceites vegetales, posee sabores y olores característicos que permanecen durante su procesamiento y, al ser indeseables, deben ser eliminados en la etapa posterior de desodorizado. En esta etapa, aplicando calor y vacío por un tiempo determinado, sustancias como peróxidos, ácidos grasos libres, aldehídos, cetonas y alcoholes son eliminadas aprovechando sus diferencias de presión de vapor respecto al aceite. Es así que la desodorización permite obtener un aceite suave y sin olor, sin afectar apreciablemente la calidad del mismo, lo que va a influir en su vida útil y en la aceptación frente al consumidor (Anderson, 2005; Dijkstra, 2015).

Posteriormente, el aceite se suele someter a una etapa de descerado con el fin de reducir el contenido de ceras y evitar el enturbiamiento del aceite, especialmente cuando son almacenados o exportados en zonas de bajas temperaturas. La etapa de descerado será descripta con mayor detalle en la sección 1.4.4.1. La estabilidad y almacenamiento del aceite refinado tienen mucha importancia, dadas las reacciones de deterioro, principalmente oxidativas, que se

pueden producir durante un almacenamiento prolongado. Con el fin de reducir dichas reacciones, el aceite se mantiene bajo una atmósfera de nitrógeno (reemplazando al oxígeno) a baja temperatura y protegido de la luz solar (Carrín y Carelli, 2010).

#### **1.4.4.1 Descerado o winterizado**

Entre los componentes minoritarios naturales de las semillas oleaginosas que son extraídos junto con el aceite se encuentran, entre otros, las ceras (Carelli et al., 2012; Martini y Añón, 2000). Estos compuestos son ésteres de ácidos grasos y alcoholes grasos, que si poseen 44 o más átomos de carbono ( $C \geq 44$ ) cristalizan y causan turbidez cuando el aceite es enfriado, interfiriendo con su procesamiento y comercialización (Carelli et al., 2002). Estas ceras se conocen como “ceras cristalizables” y se eliminan en esta etapa de descerado o “winterizado” a fin de obtener un aceite completamente claro, que no se vea afectado por las temperaturas de almacenamiento (Carrín y Carelli, 2010). Las ceras no son nocivas para la salud, pero resultan inaceptables para el consumidor, por ello, es una práctica habitual en las industrias eliminar estos compuestos durante el proceso de refinación.

En la actualidad existen distintas alternativas para separar las ceras del aceite, todas ellas involucran diferentes condiciones de cristalización (temperaturas, tiempos de residencia y presencia de inhibidores naturales, entre otras) con el fin de lograr nucleación de las ceras a bajas temperaturas y una posterior separación, que puede realizarse por filtración, centrifugación, separación por fases, etc. Una buena separación tiene que asegurar la formación de cristales que puedan ser filtrados o

centrifugados fácilmente con un mínimo de retención de aceite (Rivarola et al., 1985).

En estos procesos de descerado industrial, basados en la cristalización de las ceras, la temperatura del aceite se mantiene entre 4 - 6 °C durante 6 - 8 horas, iniciándose el desarrollo y crecimiento del cristal. El punto de solidificación y el tiempo de cristalización y maduración son factores necesarios a controlar durante el proceso (Morrison y Robertson, 1975). Por ello se han diferenciado dos etapas en la cristalización de las ceras: nucleación y crecimiento de los cristales. La velocidad de nucleación depende de la composición del aceite, de la temperatura de nucleación, de la agitación y de la velocidad de enfriamiento. Bajas velocidades de enfriamiento producen cristales más estables y la viscosidad del aceite se mantiene lo suficientemente baja como para permitir el movimiento de núcleos y el crecimiento de cristales. Respecto a la segunda etapa, la velocidad de crecimiento de los cristales se ve afectada por: a) la agitación, que debe ser lenta para no fragmentar el cristal y b) las secuencias tiempo-temperatura de cristalización reguladas con la diferencia de temperatura entre el refrigerante y el aceite, que deben ser controladas a fin de no desarrollar cristales inestables (O'Brien, 2008).

La filtración es uno de los métodos más usados para separar las ceras cristalizadas del aceite y es esencial para obtener un aceite con bajo contenido de ceras residuales y buena estabilidad en frío. Un coadyudante de filtración o tierra filtrante (tierras diatomeas), que actúe como agente de nucleación, puede ser agregado al aceite frío en una cantidad dosificada, siendo recomendada una dosis del 0,1% (Anderson, 2005; Leibovitz y Ruckenstein, 1984). Antes de la filtración, el

aceite se calienta cuidadosamente a 20 °C con el fin de disminuir su viscosidad y facilitar la separación (Charrouf et al., 2008). Esta mezcla se lleva a un filtro de presión de hojas que permite separar físicamente el aceite y las ceras. Las mismas son retenidas en la torta de filtración, que, por su remoción periódica, se convierte en una corriente secundaria de residuo en la industria oleaginosa compuesta principalmente por tierras filtrantes, aceite de girasol y ceras. Para funcionar sin problemas, la filtración debe llevarse a cabo a una velocidad promedio asegurada, evitando que la torta de filtración ofrezca una resistencia alta al flujo y así esa velocidad pueda mantenerse (Dijkstra y Segers, 2007). Estos procesos convencionales permiten obtener aceites de muy buena estabilidad en frío, pero presentan como inconveniente que la separación resulta muy lenta y compleja, requiriendo mucha mano de obra, por lo que para plantas de alta capacidad puede ser una desventaja seria. También son métodos poco adecuados si los aceites crudos poseen un alto contenido de ceras (> 500 mg/kg). Como una alternativa algunas industrias han combinado el “winterizado” con el desgomado o el refinamiento alcalino.

#### **1.4.5 Residuos del proceso**

En la actualidad la reducción, tratamiento, disposición y aprovechamiento de los de residuos sólidos generados en la industria alimentaria cobran gran relevancia, concentrándose en el desarrollo de estrategias innovadoras como la recuperación o reutilización de estos residuos que permitan mitigar el impacto ambiental de las actividades industriales y dar valor agregado a los constituyentes de dichos desechos. Lo anterior, requiere en primer lugar el planteamiento de la importancia

potencial de la recuperación, tanto a nivel ambiental como económico, para luego desarrollar metodologías adecuadas que permitan llevarla a cabo.

El procesamiento de semillas oleaginosas para la obtención de aceites, presenta corrientes secundarias con componentes cuya recuperación y potencial aplicación industrial generaría subproductos de mayor valor agregado, a la vez que resolvería en muchos casos un problema medioambiental y generaría más fuentes de trabajo. Entre los subproductos más importantes se encuentran:

*Harinas proteicas:* Son el subproducto obtenido de la remoción del aceite de la semilla. Sus características dependen del proceso de extracción, del tamaño y de la calidad de la semilla. Están compuestas principalmente de proteínas (260-500 g/kg) cuyo valor nutricional es muy bueno, fibra cruda (120-350 g/kg) y materia grasa (10-90 g/kg) (Park et al., 1997). Debido a su alto contenido de fibra se ha limitado su uso como alimento humano y se utiliza en cantidades significativas en piensos para rumiantes como fuente de proteína (Le Clef y Kemper, 2015).

*Cáscaras:* Son un subproducto de bajo peso específico (0,1 ton/m<sup>3</sup>) proveniente de la etapa de descascarado de las semillas. Contienen alto contenido de fibra, bajo contenido de grasa (2-20 g/kg) y de proteína, por lo que no tienen un importante valor comercial. Generalmente se usan como combustible de calderas dado su alto valor energético (17.000 kJ/kg) (Le Clef y Kemper, 2015; Park et al., 1997). Industrialmente, el aprovechamiento de la cáscara de girasol es un problema de no fácil solución. Según estudios realizados por Fanesi et al. (2016), los rendimientos de ceras en cáscaras de cinco híbridos de girasol cultivados en

Argentina estuvieron comprendidos entre 0,53 y 1,56 g cera/100 g cáscara de girasol b.s. (base seca), siendo prometedora la recuperación de ceras de este residuo para su posterior transformación en productos industriales de alto valor agregado.

*Tortas de Filtración:* Provenientes de etapas de blanqueo y winterizado. Su alto contenido graso dificulta el manejo posterior debido a su alto potencial de autocalentamiento y posterior ignición (Zschau, 1995). En la actualidad la industria se ha visto forzada a disponer estos residuos de manera eficiente, tendiendo, entre otras estrategias, a la recuperación de su alto contenido de aceite (tierras de blanqueo) y de ceras (tierras de winterizado) (Barbesi y Brooks, 2002).

#### **1.4.5.1 Torta de filtración proveniente de la etapa de winterizado**

El contenido de materia grasa de la torta de filtración resultante del proceso de descerado o “winterizado” puede oscilar entre 50 a 60%, constituyéndose en material de partida para la recuperación de subproductos. Dada su alta composición en aceite, en la actualidad, la torta de filtración es vendida para alimentación de pollos y también puede ser usada como combustible (Dijkstra, 2015). La recuperación de la fracción lipídica a partir de este desecho permitiría disminuir las pérdidas de aceite, como así también recuperar las ceras cristalizadas para su uso industrial, ofreciendo así un beneficio económico. Dichas ceras podrían ser utilizadas en la industria cosmética, en la producción de papel, envases de alimentos, etc. (Hamilton, 1995). Como se mencionó anteriormente, entre estas aplicaciones en el área alimentaria, se destaca el uso de las ceras en el recubrimiento de frutas por inmersión, siendo éste uno de los métodos de preservación y protección más

antiguos, practicado desde principios del siglo XII (Baldwin, 1994; Pérez-Gago et al., 2008; Villada et al., 2007).

### **1.5 APLICACIÓN DE CERAS DE GIRASOL EN PELÍCULAS COMESTIBLES**

Debido a la creciente demanda por parte de los consumidores respecto de alimentos de calidad, saludables y seguros, en la actualidad se investiga intensamente en el campo de películas y recubrimientos comestibles. En muchos casos, estos recubrimientos o películas se elaboran a partir de materiales abundantes en la naturaleza, e incluso a partir de algunos materiales que actualmente se consideran desperdicios. Los recubrimientos lipídicos son los que mejores resultados han dado en poscosecha, mediante su utilización se reducen la respiración y deshidratación y se mejora el brillo de los frutos. Sin embargo, los recubrimientos formados sólo por lípidos son muy frágiles y friables, por lo que se han de aplicar en combinación con una matriz de soporte no lipídica. Las ceras más utilizadas en esta aplicación son las de carnauba, de abeja, parafina, de salvado de arroz y de candelilla, en combinación con otros lípidos o polisacáridos; pero en la actualidad prácticamente sólo se utiliza la cera de carnauba. Este tipo de recubrimientos también son utilizados como agentes de microencapsulación, específicamente para sustancias relacionadas con olores y sabores usadas como condimento (Tharanathan, 2003).

## 1.6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agüero M., Pereyra V., Aguirrezábal L. y Lúquez J. (1999), Rendimiento de grano y porcentaje de aceite de híbridos de girasol "alto oleico" cultivados en Argentina, *Agriscientia*, 16, 49-53.

Anderson D. (2005), Edible oil and fat products: processing technologies, in *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, editado por Shahidi F., Wiley-Interscience Jhon Wiley and Sons, Inc., Publication, Hoboken, NY, USA.

ASAGIR (2002), Asociación Argentina de Girasol, *Sunflower in Argentina*, último acceso: agosto 2016, disponible en: [http://www.asagir.org.ar/in\\_argentina.asp](http://www.asagir.org.ar/in_argentina.asp).

Autino H.C. (2007), Determinantes de la competitividad de las semillas oleaginosas y los aceites vegetales en Argentina, *Revista Palmas*, 28, 242-251.

Baldwin E. (1994), Edible coatings for fresh fruits and vegetables: past, present and future., in *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*, editado por Krochta J.M., Baldwin E.A. and Nisperos-Carriedo M.O., pp. 25-64, Technomic Publ. Co., Lancaster, PA, USA.

Barbesi R. y Brooks D. (2002), Tierras de blanqueo agotadas: Revisión de prácticas de manejo y posibles alternativas de disposición, *Aceites y Grasas*, 49, 510-515.

Bäumler E.R., Crapiste G.H. y Carelli A.A. (2006), Estudios de extractabilidad de ceras de semillas de girasol, *Aceites y Grasas*, 65, 672-676.

Bäumler E.R., Crapiste G.H. y Carelli A.A. (2007), Sunflower-oil wax reduction by seed solvent washing, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84(6), 603-608.

Bäumler E.R., Crapiste G.H. y Carelli A.A. (2010), Solvent extraction: kinetic study of major and minor compounds, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(12), 1489-1495.

Bäumler E.R., Carelli A.A. y Martini S. (2013), Physical properties of aqueous solutions of pectin containing sunflower wax, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90(6), 791-802.

Bäumler E.R., Carelli A.A. y Martini S. (2014), Preparation and physical properties of calcium pectinate films modified with sunflower wax, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116(11), 1534-1545.

Bolsa de Cereales (2015), Informe de Comercialización Agrícola Mes 43 Año IV Instituto de Estudios Económicos, último acceso: septiembre 2016, disponible en: <http://bolsadecereales.com.ar/greenstone/collect/pubper/index/assoc/HASH6652/bc530d28.dir/ICOA2015.%20v4.%20n43,%20dic.pdf>.

CAA (2013), Código Alimentario Argentino, *Capítulo VII. Alimentos Grasos Aceites Alimenticios. Artículos 520 al 552*, disponible en: [http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO\\_VII.pdf](http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO_VII.pdf).

Carbone V., Carelli A.A., Carrín M.E., Cozzolino R., Crews C., Aparicio R., Ayadi M., Bäumlér E.R. y Penci M.C. (2008), Assesment of chemical and physical-chemical properties of edible oils, in *The Scientific Handbook. Mapping And Comparing Oils*. "Sixth Framework Programme of the European Community" - Priority 5. Food Qulity and Safety Priority., editado por Luigi R.G., Roma, Italy.

Carelli A.A., Bäumlér E.R. y Ceci L.N. (2012), Improved method for the determination of wax esters in vegetable oils, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114(11), 1312-1319.

Carelli A.A., Frizzera L.M., Forbito P.R. y Crapiste G.H. (2002), Wax composition of sunflower seed oils, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79(8), 763-768.

Carrín M.E. y Carelli A.A. (2010), Changes in quality and composition of sunflower oil during processing and storage, in *Advances in Fats Oil Research*, editado por Tomás M., pp. 25-48, Editorial Research Signpost, Kerala, India.

CIARA (2015), Cámara de la Industria Aceitera de la República Argentina., último acceso: septiembre 2016, disponible en: <http://www.ciara.com.ar/estadisticasNac.php>.

Charrouf Z., Chiarello M.D., Di Stasio M., Kerem Z., Pages X., Pinelli L.d.L.d.O., Rossignol-Castera A. y Volpe M.G. (2008), Extraction, Refining, Conservation and Packaging Methods of Edible Oils, in *The Scientific Handbook. Mapping And Comparing Oils*. "Sixth Framework Programme of the European

*Community” - Priority 5. Food Quality and Safety Priority.*, editado por Luigi R.G., Roma, Italy.

De Figueiredo A.K., Rodríguez L.M., Riccobene I.C. y Nolasco S.M. (2014), Analysis of the performance of a dehulling system for confectionary sunflower seeds, *Food and Nutrition Sciences*, 5(6), 541.

Di Leo M.J., Riccobene I.C. y Nolasco S.M. (2004), Variability in dehulling ability of sunflower hybrids (*Helianthus annuus* L.) in Argentina, trabajo presentado a *Proceedings of the 16 th. International Sunflower Conference.*, Fargo, ND, USA, 29 Agosto - 2 Setiembre 2004.

Dijkstra A.J. (2015), Oil Refining, in *Sunflower: chemistry, production, processing, and utilization*, editado por Martínez-Force E., Dunford N.T. and Salas J.J., AOCS Press, Urbana, Illinois, USA.

Dijkstra A.J. y Segers J. (2007), Production and Refining of Oils and Fats, in *The Lipid Handbook* editado por Gunstone F.D., Harwood J.L. and Dijkstra A.J., CRC Press. Taylor and Francis Group, Boca Raton, FL, USA.

Dorrell D.G. y Vick B.A. (1997), Properties and processing of oilseed sunflower, in *Sunflower technology and production*, editado por Schneiter A.A., pp. 709-745, American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA.

Endlein E. y Peleikis K.-H. (2011), Natural Waxes - properties, compositions and applications, *SÖFW-Journal*, 137(4).

Fanesi D.S., Rodríguez M.M. y Nolasco S.M. (2016), Agregado de valor a residuos de la industria oleaginoso: ceras de cáscara de girasol, trabajo presentado a *VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CICYTAC 2016)*, Córdoba, Argentina, 2 - 4 Noviembre 2016.

Ferrari R.A., Schulte E., Esteves W., Brühl L. y Mukherjee K. (1996), Minor constituents of vegetable oils during industrial processing, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73(5), 587-592.

Franchini M.C. y Hernández L.F. (2006), Las ceras en el aceite de girasol (*Helianthus annuus* L.). Su origen y desarrollo en el fruto, *Aceites y Grasas* 64, 476-484.

Grompone M. (2005), Edible Oils and Fat products, in *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, editado por Shahidi F., pp. 655-731, Wiley-Interscience, Hoboken, NY, USA.

Grompone M. (2011), Sunflower oil, in *Vegetable Oils in Food Technology. Composition, Properties and Uses.*, editado por Gunstone F.D., pp. 137-167, Wiley Blackwell, Chichester, UK.

Hagenmaier R.D. (2005), A comparison of ethane, ethylene and CO<sub>2</sub> peel permeance for fruit with different coatings, *Postharvest Biology and Technology*, 37(1), 56-64.

Hamilton R. (1995), Commercial waxes: their composition and applications, in *Waxes: Chemistry, Molecular Biology and Functions*, editado por Hamilton R., pp. 257-292, The Oily Press, Dundee, UK.

Henon G., Recseg K. y Kovari K. (2001), Wax analysis of vegetable oils using liquid chromatography on a double-adsorbent layer of silica gel and silver nitrate-impregnated silica gel, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78(4), 401-410.

Koster Keunen (2016), Wax Products. Sunflower Wax. General Information, *último acceso: diciembre 2016*, disponible en: <http://www.koster-wax.com/us/waxes-by-industry/candle-waxes/sunflower-wax--258g>.

Le Clef E. y Kemper T. (2015), Sunflower seed preparation and oil extraction, in *Sunflower: Chemistry, Production, Processing, and Utilization*, editado por Martínez-Force E., Dunford N.T. and Salas J.J., AOCS Press, Urbana, Illinois, USA.

Leibovitz Z. y Ruckenstein C. (1984), Winterization of sunflower oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61(5), 870-872.

Martini S. y Añón M. (2000), Determination of wax concentration in sunflower seed oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77(10), 1087-1093.

Martini S., Carelli A.A. y Lee J. (2008), Effect of the addition of waxes on the crystallization behavior of anhydrous milk fat, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85(12), 1097-1104.

Melgarejo M. (2003), Girasol Usos, *Asociación Argentina de Girasol.ASAGIR. Cuadernillo Informativo No 3.*, disponible en: [http://www.asagir.org.ar/asagir2008/archivos\\_arcp/200884143429.pdf](http://www.asagir.org.ar/asagir2008/archivos_arcp/200884143429.pdf).

Miller J.F. y Fick G.N. (1997), The genetics of sunflower, in *Sunflower Technology and Production*, editado por Schneiter A.A., pp. 441-495, Madison, Wisconsin, USA.

Miyashita K. y Takagi T. (1986), Study on the oxidative rate and prooxidant activity of free fatty acids, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 63(10), 1380-1384.

Morrison W. (1983), Variation in the wax content of sunflower seed with location and hybrid, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 60(5), 1013-1014.

Morrison W., Sojka R.E. y Unger P.W. (1984), Effects of planting date and irrigation on wax content of sunflower-seed oil, *Journal of the American Oil Chemists Society*, 61(7), 1242-1245.

Morrison W.H. y Robertson J.A. (1975), Solvent winterization of sunflower seed oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 52(5), 148-150.

National Sunflower Association (2016), *World Supply & Disappearance*, último acceso: agosto 2016, disponible en: <http://www.sunflowernsa.com/stats/world-supply/>.

Natural Dog Company (2016), Sunflower wax, último acceso: enero de 2017, disponible en: <https://naturaldogcompany.com/articles/ingredients/sunflower-wax/>.

O'Brien R.D. (2008), *Fats and oils: formulating and processing for applications*, CRC Press. Taylor and Francis Group, Boca Raton, FL, USA.

Park C.S., Marx G., Wiesenborn D., Chang K.C. y Hofman V. (1997), Alternative uses of Sunflower, in *Sunflower Technology and Production*, editado por Schneiter A.A., Madison, Wisconsin, USA.

Pérez-Gago M., Del Río M. y Rojas-Argudo C. (2008), Recubrimientos comestibles en frutas y hortalizas, *Horticom News*, disponible en: <http://www.horticom.com/poscosecha/article.php>.

Riederer M. y Schreiber L. (2001), Protecting against water loss: analysis of the barrier properties of plant cuticles, *Journal of Experimental Botany*, 52(363), 2023-2032.

Rivarola G., Añón M. y Calvelo A. (1985), Crystallization of waxes during sunflowerseed oil refining, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 62(10), 1508-1513.

Rosbaco I. (2005), Desarrollo de girasoles alto y medio oleico en Argentina, *Agromensajes de la Facultad. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Rosario.*, 17.

Salas J., Botello M. y Garcés R. (2015), Food Uses of Sunflower Oils, in *Sunflower: Chemistry, Production, Processing, and Utilization*, editado por Martínez-Force E., Dunford N.T. and Salas J.J., AOCS Press, Urbana, Illinois, USA.

Seiler G.J. (1997), Anatomy and morphology of sunflower, in *Sunflower Technology and Production*, editado por Schneiter A.A., pp. 67-111, Madison, Wisconsin, USA.

Subramanian R., Sastry M.S. y Venkateshmurthy K. (1990), Impact dehulling of sunflower seeds: Effect of operating conditions and seed characteristics, *Journal of Food Engineering*, 12(2), 83-94.

Tharanathan R. (2003), Biodegradable films and composite coatings: past, present and future, *Trends in Food Science & Technology*, 14(3), 71-78.

USDA (2016), Oilseeds: World Markets and Trade, *United States Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service.* , último acceso: agosto 2016, disponible en: <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/oilseeds.pdf>.

Velasco L. y Ruiz-Méndez M.V. (2015), Sunflower oil minor constituents, in *Sunflower Chemistry, Production, Processing, and Utilization*, editado por Martínez-

Force E., Dunford N.T. and Salas J.J., pp. 297-329, AOCS Press, Urbana, Illinois, USA.

Villada H.S., Acosta H.A. y Velasco R.J. (2007), Biopolímeros naturales usados en empaques biodegradables, *Temas Agrarios*, 12(2).

Zschau W. (1995), Tierra de blanqueo agotada. Soluciones prácticas, *Aceites y Grasas*, 20, 322-326.

Zuil S. (2015), La tecnología Alto Oleico en el NEA, *INTA Voces y Ecos.*, *Mat. Prof. N° 3/0156(34)*.

# **CAPÍTULO 2**

## **RECUPERACIÓN DE CERAS**

### **DE GIRASOL**

#### **2.1 OBJETIVO**

El objetivo de este capítulo es determinar la composición de la torta de filtrado del proceso de descerado de aceite de girasol, centrándose en la recuperación y caracterización de las ceras y evaluando la cantidad y calidad del aceite recuperado, con el fin de determinar la porción de aceite que actualmente es perdido y su potencial reutilización.

#### **2.2 INTRODUCCIÓN**

En el proceso de extracción de aceite de girasol, compuestos menores tales como ceras, tocoferoles y fosfolípidos se extraen junto con el aceite. Entre ellos, debido a su alto punto de fusión y a su baja solubilidad en aceite, las ceras tienden a cristalizar a temperatura ambiente, por lo que se consideran material no deseado al provocar turbidez en los aceites refinados. Como se mencionó en la sección 1.4.4.1, la etapa de winterizado o descerado del aceite, es un método convencional para la eliminación de ceras, cuya primera fase implica el enfriamiento del aceite desgomado

acompañado de agitación mecánica ligera para provocar la cristalización de las ceras, seguida por una separación de ellas mediante filtración utilizando un coadyudante o tierra filtrante (Dorrell y Vick, 1997). El residuo de este proceso, que se considera un residuo industrial, se llama “torta de filtración” y consiste en una mezcla de tierras de filtración, aceite (50 a 60%) y ceras. Si su composición está bien definida y es razonablemente constante, la torta de filtración puede servir como material de partida para el aislamiento de la cera (Dijkstra y Segers, 2007). La viabilidad de que el aceite recuperado vuelva al proceso de refinación y que las ceras sean aisladas para su aplicación en diferentes campos industriales, es una gran oportunidad que contribuiría en la disminución de la pérdida de estos materiales y además en darles valor agregado.

Como ya se ha mencionado, las ceras de girasol son compuestos de cadena larga, de 36 a 60 átomos de carbono, principalmente ésteres de alcoholes grasos y ácidos grasos. La clasificación de las ceras respecto a su solubilidad en aceite ha permitido conocer cuáles serían las ceras causantes de una mayor turbidez en el aceite y por lo tanto determinar su eliminación. Es así que el contenido en el aceite de las ceras parcialmente solubles (C40-C42) y las ceras cristalizables ( $\geq$  C44) se reduce significativamente mediante el proceso de descerado generándose un residuo rico en ceras de girasol, cuya variedad de aplicaciones y usos ha sido descrito en la sección 1.4.2.1.2.

Es así que las ceras de girasol se pueden obtener de los residuos de refinación de su aceite, proporcionando la posibilidad de una nueva aplicación y revalorización de estos residuos, sin embargo, hay escasos datos en la literatura acerca de su

composición. Por otra parte, la caracterización de los componentes principales de este residuo permitirá la evaluación de su aplicabilidad y aumentar su valor de mercado.

## **2.3 METODOLOGÍA**

### **2.3.1 Muestras y su caracterización**

Las muestras de desecho o tortas de filtración del proceso de winterización fueron proporcionadas por dos empresas locales (MD1 y MD2). La determinación del contenido de humedad y contenido lipídico (%b.s.) se realizaron de acuerdo a los métodos IUPAC 1.121 y 1.122 (IUPAC, 2013). Ambas determinaciones se realizaron por triplicado como parte de la caracterización de la materia prima.

### **2.3.2 Fraccionamiento de la muestra de desecho y recuperación de ceras**

El material de desecho que contiene ceras, aceite y tierra filtrante fue fraccionado para obtener ceras purificadas usando n-hexano como solvente. Primero, las muestras de desecho (MD1 y MD2) fueron lavadas con n-hexano caliente (50 °C) durante 30 minutos. La solución caliente fue filtrada para remover las partículas insolubles o tierra filtrante. Después de este proceso, se obtuvo una fracción lipídica compuesta por una amplia porción de aceite y ceras. Dicha porción fue fraccionada para obtener ceras purificadas (CP1, CP2) y aceite recuperado (AR1, AR2), logrando la cristalización y precipitación de las ceras a baja temperatura (-18 °C) en presencia de n-hexano, seguida de centrifugación y separación de la fase solvente-aceite. El aceite recuperado fue separado de esta fase mediante destilación y las ceras fueron desolventizadas bajo corriente de nitrógeno en campana de extracción. La Figura 2.1 sintetiza mediante un diagrama de flujo el procedimiento descrito. La Figura 2.2 muestra las fotografías de las ceras recuperadas durante lavados sucesivos con

hexano frío y la precipitación de las ceras de girasol, mientras que la Figura 2.3 muestra las ceras obtenidas al finalizar la purificación.



**Figura 2.1.** Diagrama de flujo fraccionamiento muestra de desecho y recuperación de ceras de girasol.



Figura 2.2. Lavados sucesivos de la fracción lipídica con hexano frío.

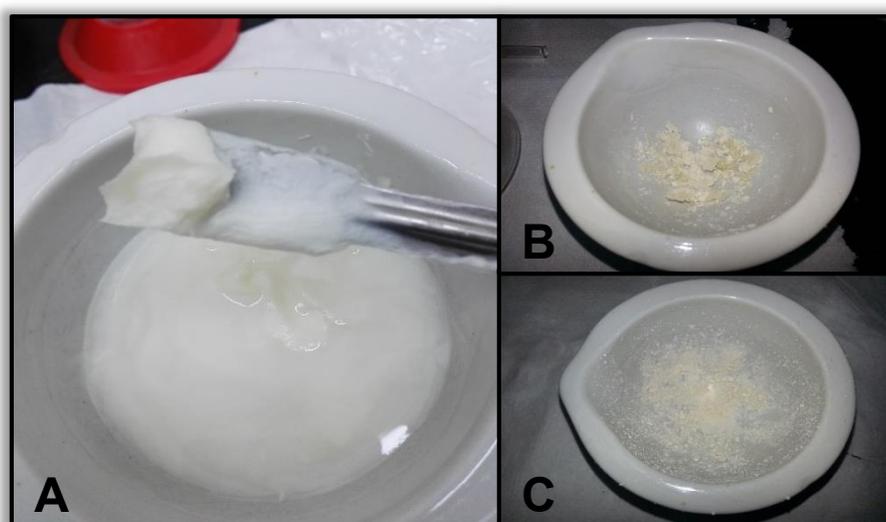


Figura 2.3. A. Ceras de girasol con solvente. B. y C. Ceras de girasol obtenidas.

### 2.3.3 Métodos Analíticos

#### 2.3.3.1 Índices de calidad del aceite recuperado

El valor de acidez o ácidos grasos libres fue determinado según el método oficial IUPAC 2.201 (IUPAC, 2013), el valor peróxido (PV) e índice de anisidina fueron determinados según las normas AOCS Cd 8-53 y AOCS Cd 18-90, respectivamente (AOCS, 1994). Todas las determinaciones fueron realizadas por duplicado.

#### 2.3.3.2 Composición en ácidos grasos aceite recuperado

La composición de ácidos grasos fue determinada por cromatografía gaseosa (CG) de los ésteres metílicos obtenidos por transesterificación con solución

metanólica fría de hidróxido de potasio (COI/T20 Doc. No 33) (International Olive Council (COI), 2015a). Los metil ésteres de ácidos grasos fueron analizados por CG de acuerdo al método AOCS Ce 1e-91 (AOCS, 1994). Los análisis se realizaron por duplicado, efectuándose dos inyecciones por cada muestra independiente. En la Tabla 2.1 se resumen las condiciones utilizadas en la determinación cromatográfica de ácidos grasos.

**Tabla 2.1.** Condiciones de operación empleadas en la determinación de ácidos grasos.

<b>Cromatógrafo gaseoso</b>	Agilent 7820A
<b>Columna</b>	Supelco SP2380 (30 m de longitud, 0,25 mm de diámetro interno, 0,25 µm de espesor; Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA)
<b>Gas carrier</b>	Hidrógeno a 0,55 mL/min
<b>Programación de temperatura</b>	170 °C (15 minutos), incrementar a 4 °C/minuto hasta 210 °C (10 minutos)
<b>Inyector</b>	split/splitless en modo split
<b>Volumen de inyección</b>	5 µl
<b>Detector</b>	Detector de ionización de llama FID
<b>Procesador de datos</b>	EZChrom Elite Compact

### 2.3.3.3 Análisis de ceras

La composición de ceras del aceite recuperado y de las ceras purificadas fue determinada siguiendo una modificación propuesta por Carelli et al. (2012) del método del Consejo Oleícola Internacional (COI) para determinación de ceras. La modificación del método COI /T.20/Doc. No 18/Rev. 2 (International Olive Council (COI), 2003) consiste en el uso de una doble fase de adsorbente de gel de sílice hidratada y gel de sílice impregnado con nitrato de plata como fase sólida en la cromatografía de columna (CC) (Figura 2.4) seguido por análisis por cromatografía gaseosa (CG). De

este modo se aísla y cuantifica sólo las ceras alifáticas eliminando la interferencia de ésteres de esteroides (Carelli et al., 2012).



**Figura 2.4.** CC para análisis de ceras.

Todos los reactivos utilizados fueron grado analítico, excepto n-hexano, n-heptano y éter etílico, los cuales fueron grado cromatográfico (J.T. Baker Inc., Phillipsburg). Gel de sílice 60, tamaño de partícula 0,06-0,200 mm, malla 70-230 (Art 7734, Merck, Darmstadt, Germany) fue secada a 500 °C por 4 horas, hidratada con 2% de agua y estabilizada por 12 horas antes de su uso en CC. El gel de sílice impregnado con nitrato de plata fue preparado vertiendo una solución de nitrato de plata (5 g disueltos en 240 mL de agua destilada) sobre 100 g de gel de sílice 60 extra pura (Art. 7754, Merck, Darmstadt, Germany) en un recipiente de cerámica, calentándolo desde temperatura ambiente hasta 170 °C en una estufa eléctrica y activándolo durante la noche. Luego, el gel de sílice impregnado con nitrato de plata

fue enfriado lentamente a 50 °C en el horno (a la oscuridad) y almacenado en la oscuridad en una botella sellada. Los estándares de ceras (99% de pureza) que fueron usados en los análisis cromatográficos se detallan en la Tabla 2.2. El estándar C32 fue usado como estándar interno para el análisis cuantitativo.

**Tabla 2.2.** Conjunto de estándares utilizados análisis de ceras.

Átomos de Carbono	Nombre
<b>C32</b>	Araquidato de laurilo (C <sub>32</sub> H <sub>64</sub> O <sub>2</sub> )
<b>C34</b>	Palmitato de esterilo (C <sub>34</sub> H <sub>68</sub> O <sub>2</sub> )
<b>C36</b>	Estearato de esterilo (C <sub>36</sub> H <sub>72</sub> O <sub>2</sub> )
<b>C38</b>	Araquidato de oleílo (C <sub>38</sub> H <sub>74</sub> O <sub>2</sub> )
<b>C40</b>	Araquidato de araquilo (C <sub>40</sub> H <sub>80</sub> O <sub>2</sub> )
<b>C42</b>	Araquidato de behenilo (C <sub>42</sub> H <sub>84</sub> O <sub>2</sub> )
<b>C44</b>	Behenato de behenilo (C <sub>44</sub> H <sub>88</sub> O <sub>2</sub> )

La fracción de cera fue aislada por CC en una columna de vidrio (diámetro interno = 15 mm, longitud = 400 mm), con una doble fase sólida de gel de sílice impregnado en nitrato de plata (3 g) colocados en el fondo de la columna y 2% de gel de sílice hidratada (12 g) colocados en el tope (Carelli et al., 2012). El fondo de la columna que contiene el gel de sílice impregnado en nitrato de plata fue cubierto con papel aluminio para protegerlo de la luz. Aproximadamente 300 mg de aceite recuperado o 3 mg de ceras purificadas (pesadas con cuatro cifras decimales) y dos gotas de una solución 1% de colorante Sudan I en n-hexano se cargaron en la columna con la ayuda de dos porciones de 2 mL de n-hexano. Las ceras se eluyeron con n-hexano/éter etílico (99:1 v/v) a una velocidad de flujo de 3 mL/min. La elución de los ésteres de ceras finalizó cuando el colorante alcanzó una marca hecha en el

vidrio de la columna en la interfase entre el gel de sílice hidratado 2% y el gel de sílice impregnado con nitrato de plata. La fracción con las ceras eluidas y el solvente fue evaporada a sequedad para luego ser rehidratada en n-heptano para el análisis cromatográfico.

En la Tabla 2.3, se resumen las condiciones utilizadas en la determinación cromatográfica de ceras.

**Tabla 2.3.** Condiciones de operación empleadas en la determinación cromatográfica de ceras.

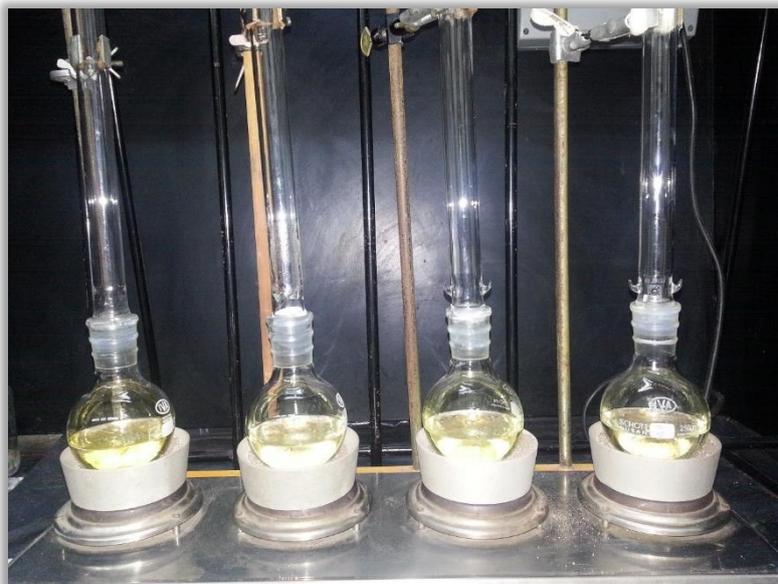
<b>Cromatógrafo gaseoso</b>	Perkin Elmer Auto System XL
<b>Columna</b>	HP-5 (5% difenil and 95% dimetil-polisiloxano), sílice fundida de 15 mm de longitud x 0,32 mm de diámetro interno y 0,25 mm de espesor (Hewlett-Packard, Palo Alto, CA)
<b>Gas carrier</b>	Hidrógeno a 3 mL/min
<b>Programación de temperatura</b>	Temperatura inicial: 80 °C (1 min) - 20 °C/min hasta 240 °C - 5 °C/min hasta 325 °C (6 min) - 20 °C/min hasta 340 °C (27 min)
<b>Inyector</b>	“on column”
<b>Programación del inyector “on-column”</b>	80 a 320 °C a 20 °C/min
<b>Volumen de inyección</b>	5 µl
<b>Detector</b>	Detector de ionización de llama FID
<b>Procesador de datos</b>	TotalChrom Workstation 51 versión 6.3.1 (Perkin Elmer, MA, USA)

#### **2.3.3.4 Determinación de la composición en ácidos grasos y alcoholes grasos de las ceras obtenidas**

La determinación de los componentes de las ceras purificadas requirió su saponificación (Figura 2.5), extracción de las fases saponificable e insaponificable, separación de los alcoholes en la fracción insaponificable por cromatografía de capa fina, y posterior análisis de los ácidos grasos y los alcoholes grasos por CG (Carelli et al., 2002).

La técnica de separación se basó en el método COI (COI/T.20/Doc.No.26/Rev1) (International Olive Council (COI), 2015b) con algunas modificaciones realizadas para asegurar una completa saponificación y una buena recuperación de los analitos. Las ceras (aproximadamente 80 mg) fueron saponificadas con 100 mL de KOH 2N durante 6 horas, seguido de tres lavados con 80 mL de éter etílico y un lavado seguido con tres porciones de 50 mL de agua destilada. La fracción hidro-alcohólica (saponificable) contiene ácidos grasos, mientras que la fracción etérea (insaponificable) contiene los alcoholes grasos.

Los ácidos grasos fueron convertidos en metil ésteres por esterificación ácida catalizada de acuerdo al método estándar IUPAC 2.301 (IUPAC, 2013). Los alcoholes grasos fueron separados de la fase insaponificable por cromatografía de capa fina de acuerdo al método COI (COI/T.20/Doc.No.26/Rev1) (International Olive Council (COI), 2015b). Las determinaciones fueron realizadas por duplicado.



**Figura 2.5.** Saponificación de las ceras de girasol.

#### **2.3.3.5 Condiciones de CG para determinar ácidos grasos en ceras**

La composición de ácidos grasos fue determinada por cromatografía gas-líquida de los ésteres metílicos de acuerdo al método AOCS Ce 1e-91 (AOCS, 1994). El análisis cromatográfico se realizó utilizando el mismo gas carrier y columna cromatográfica (SP-2380) usada para en la determinación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos del aceite recuperado. Sin embargo, para la determinación de los ácidos grasos que componen las ceras purificadas, la programación de temperatura de la columna fue distinta, a saber: Temperatura inicial de 170 °C mantenida 15 minutos, incremento a 4 °C/min hasta la temperatura final de 260 °C, la que es mantenida 7 minutos. Se transmitieron dos muestras independientes, las cuales fueron inyectadas por duplicado. En la Tabla 2.4 se detalla la composición de los estándares de ésteres metílicos de ácidos grasos con una pureza del 99% provistos por Sigma Chemical Co.

**Tabla 2.4.** Conjunto de estándares utilizados para el análisis de ácidos grasos.

<b>Átomos de Carbono, Nombre y Fórmula Estándares Ácidos Grasos</b>	
<b>C8:0</b> <i>Ácido Caprílico</i> (CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> COOH)	<b>C17:0</b> <i>Ácido Margárico</i> (CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>15</sub> COOH)
<b>C10:0</b> <i>Ácido Cáprico</i> (CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> COOH)	<b>C18:0</b> <i>Ácido Estearico</i> (CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> COOH)
<b>C12:0</b> <i>Ácido Láurico</i> (CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> COOH)	<b>C18:1</b> <i>Ácido Oleico</i> (CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH)
<b>C14:0</b> <i>Ácido Mirístico</i> (CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub> COOH)	<b>C18:2</b> <i>Ácido Linoleico</i> (CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> CH=CHCH <sub>2</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH)
<b>C14:1</b> <i>Ácido Miristoleico</i> (CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH)	<b>C20:0</b> <i>Ácido Araquídico</i> (CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>18</sub> COOH)
<b>C15:0</b> <i>Ácido Pentadecanoico</i> (CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>13</sub> COOH)	<b>C22:0</b> <i>Ácido Behénico</i> (CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>20</sub> COOH)
<b>C16:0</b> <i>Ácido Palmítico</i> (CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> COOH)	<b>C23:0</b> <i>Ácido Tricosanoico</i> (CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>21</sub> COOH)
<b>C16:1</b> <i>Ácido Palmitoleico</i> (CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH)	<b>C24:0</b> <i>Ácido Lignocérico</i> (CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>22</sub> COOH)

### 2.3.3.6 Condiciones de CG para determinar alcoholes grasos en ceras

Las soluciones estándar de alcoholes y las muestras de alcoholes fueron convertidas en trimetilsililéteres y analizadas de acuerdo al método COI (COI/T.20/Doc.No.26/Rev1) (International Olive Council (COI), 2015b). En la Tabla 2.5 se detallan los estándares de alcoholes grasos con una pureza del 99% conteniendo 20 a 30 átomos de carbono que fueron adquiridos en Sigma Chemical Co.

Se realizaron dos inyecciones por cada muestra independiente. En la Tabla 2.6 se muestran las condiciones de operación para la determinación de alcoholes grasos.

**Tabla 2.5.** Conjunto de estándares utilizados para el análisis de alcoholes grasos.

Átomos de Carbono	Nombre y fórmula
<b>C20:0</b>	1-Eicosanol (C <sub>20</sub> H <sub>42</sub> O)
<b>C22:0</b>	1-Docosanol (C <sub>22</sub> H <sub>46</sub> O)
<b>C24:0</b>	1-Tetracosanol (C <sub>24</sub> H <sub>50</sub> O)
<b>C25:0</b>	1-Pentacosanol (C <sub>25</sub> H <sub>52</sub> O)
<b>C26:0</b>	1-Hexacosanol (C <sub>26</sub> H <sub>54</sub> O)
<b>C27:0</b>	1-Heptacosanol (C <sub>27</sub> H <sub>56</sub> O)
<b>C28:0</b>	1-Octacosanol (C <sub>28</sub> H <sub>58</sub> O)
<b>C30:0</b>	1-Triacontanol (C <sub>30</sub> H <sub>62</sub> O)

**Tabla 2.6.** Condiciones de operación empleadas en la determinación de alcoholes grasos.

<b>Cromatógrafo gaseoso</b>	Agilent 7820A
<b>Columna</b>	Supelco SE-54 Capilar de sílice fundida (30 m x 0,25 mm de diámetro interno) con un espesor de 0,25 µm (Supelco, Inc., Bellefonte, PA)
<b>Gas carrier</b>	Hidrógeno a 2,4 mL/min
<b>Programación de temperatura</b>	Temperatura inicial 170 °C, incrementar a 7 °C/min hasta 300 °C (31 minutos)
<b>Inyector</b>	split/splitless en modo split
<b>Volumen de inyección</b>	5 µl
<b>Detector</b>	Detector de ionización de llama FID
<b>Procesador de datos</b>	EZChrom Elite Compact

### **2.3.3.7 Comportamiento térmico de ceras de girasol recuperadas**

El perfil de fusión de las ceras purificadas fue determinado por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC), con un equipo Perkin Elmer Pyris I (USA). Aproximadamente 8 mg de ceras purificadas se colocaron en una cápsula de aluminio, la cual fue herméticamente sellada; las cápsulas se ubicaron dentro de la cámara del equipo y se calentaron desde 10 °C hasta 120 °C a 5 °C/min. Se obtuvieron los siguientes parámetros: Temperatura de inicio ( $T_{on}$ ), Temperatura del pico ( $T_p$ ) y cambio de entalpía ( $\Delta H$ ).

### **2.3.3.8 Medición de color aceite y ceras**

Para cada muestra de aceite recuperado y ceras purificadas, se midieron los valores de los parámetros CIE-Lab:  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ . El equipo usado fue un colorímetro Hunter Lab Ultra Scan XE con Software Universal (Hunter Associates Laboratory, Inc., 11491 Sunset Hills Road, Reston, VA, USA). Para cada muestra de AR y CP se efectuaron dos determinaciones independientes reportándose el valor promedio y su desviación estándar.

### **2.3.3.9 Análisis estadístico**

Las diferencias significativas se analizaron realizando ANOVA de dos vías y Test de Fisher ( $\alpha = 0.05$ ), usando el software para análisis estadístico InfoStat versión 2011 (Di Rienzo et al., 2011).

## 2.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 2.4.1 Tortas de filtrado: caracterización y fraccionamiento

En la Tabla 2.7 se muestran los resultados de la caracterización de las muestras de torta de filtración MD1 y MD2 (humedad inicial y contenido lipídico). Ambas muestras exhibieron un alto contenido lipídico (superior al 50%), lo que sugiere que la recuperación de dicho contenido retenido en ellas es prometedora.

**Tabla 2.7.** Caracterización inicial de las muestras de torta de filtrado.

Análisis	MD1	MD2
Contenido de humedad inicial (%) (b.s.)	0,14 ± 0,01	0,20 ± 0,02
Contenido lipídico (%) (b.s.)	75,35 ± 0,77	58,21 ± 1,03

La porción lipídica fue fraccionada en aceite recuperado y ceras purificadas, como se describió en la sección experimental 2.3.2. El material recuperado de MD1 consistió en 88,1% aceite y 11,9% de ceras purificadas, mientras que el contenido de ceras del material recuperado de MD2 alcanzó el 8,9%. Por lo tanto, y teniendo en cuenta el resultado de la caracterización de las muestras provistas mostrado en la Tabla 2.7, el desecho del proceso de descerado está constituido por un alto porcentaje de aceite que se perdió en ese proceso y que se encuentra retenido en la torta de filtración (MD1 = 66%, MD2 = 53%), los cuales son valores ligeramente más altos que los reportados en la literatura (50-60%) (Dijkstra y Segers, 2007).

### 2.4.2 Aceites recuperados

Los índices de calidad de los aceites recuperados, AR1 y AR2, se muestran en la Tabla 2.8.

**Tabla 2.8.** Índices de calidad aceite recuperado. Muestras AR1 y AR2.

	<b>Acidez x 10<sup>3</sup> (% ácido oleico)</b>	<b>Valor Peróxido (meqO<sub>2</sub>/kg)</b>	<b>Índice de Anisidina</b>
<b>AR1</b>	8,46 ± 0,08	26,88 ± 2,65	6,92 ± 0,31
<b>AR2</b>	2,92 ± 0,30	6,91 ± 0,36	3,11 ± 0,27

Para ambos aceites recuperados (AR1 y AR2), los valores de acidez se encuentran dentro de los límites permitidos por el Código Alimentario Argentino (CAA, 2013; Codex Alimentarius, 1999) para aceites vírgenes (valor máximo: 2,0 % ácido oleico) y aceites refinados (valor máximo: 0,2 % ácido oleico). Los valores de acidez extremadamente bajos indican que el aceite, previo a la etapa de descerado, fue sometido a neutralización o a otras etapas previas de refinación para la completa remoción de ácidos grasos libres. Según datos brindados por el proveedor, las condiciones de proceso en la refinación de los aceites de las muestras sólo se diferenciaron en haber tenido la etapa de desodorización antes (MD2) o después (MD1) del winterizado. Esto explica el bajo índice de peróxidos de AR2, encontrándose en el rango exigido para aceites refinados (<10 meqO<sub>2</sub>/kg) (CAA, 2013). Por el contrario, AR1 presentó un valor superior al límite máximo establecido para aceites vírgenes (15 meqO<sub>2</sub>/kg) (CAA, 2013; Codex Alimentarius, 1999) y un índice de anisidina mayor que AR2. Estos resultados reflejan el mayor deterioro de AR1, contribuyendo al mismo su alta susceptibilidad a la oxidación por su alto contenido de ácidos grasos insaturados (Tabla 2.9).

Además, otros factores como los cambios de temperatura del aceite crudo durante tiempos relativamente largos de almacenamiento antes de la refinación, la disponibilidad de oxígeno y la concentración de compuestos menores con

características antioxidantes o pro-oxidantes también tienen una marcada influencia en la estabilidad a la oxidación y el deterioro del aceite (Crapiste et al., 1999).

**Tabla 2.9.** Composición de ácidos grasos de muestras de aceite recuperado.

<b>Ácido graso</b>	<b>AR1 (%)</b>	<b>AR2 (%)</b>
<b>C14:0</b>	0,1 ± 0,0	Tr
<b>C16:0</b>	6,4 ± 0,0	3,6 ± 0,0
<b>C16:1</b>	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
<b>C17:0</b>	Tr	Tr
<b>C17:1</b>	Tr	0,1 ± 0,0
<b>C18:0</b>	3,1 ± 0,0	3,2 ± 0,0
<b>C18:1</b>	34,0 ± 0,1	87,9 ± 0,0
<b>C18:2</b>	54,8 ± 0,1	3,3 ± 0,0
<b>C18:3</b>	0,1 ± 0,0	Tr
<b>C20:0</b>	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0
<b>C20:1</b>	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0
<b>C22:0</b>	0,7 ± 0,0	0,9 ± 0,0
<b>C23:0</b>	Tr	Tr
<b>C24:0</b>	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0
<b>C26:0</b>	0,2 ± 0,0	n.d.

n.d. = no detectado. Tr = trazas (<0.1%)

Las dos muestras, AR1 y AR2, presentaron aproximadamente el 10% de ácidos grasos saturados. AR1 presentó ácido linoleico (C18:2) como su ácido graso insaturado principal, mientras que AR2 tuvo un contenido significativamente más alto de ácido oleico (C18:1) (Tabla 2.9). Esta amplia diferencia en composición de ácidos grasos podría deberse al tipo de semilla de girasol procesada, tradicional o híbridos de girasol alto-oleico (Carrín y Carelli, 2010), y a la alta dependencia de dicha composición con la temperatura de crecimiento del cultivo de girasol (Agüero et al., 1999; Garcés et al., 1992). La influencia de estos dos factores en la composición de

ácidos grasos del aceite de girasol permite evaluar el comportamiento del aceite respecto a cambios oxidativos durante la refinación y almacenamiento. Debido a su composición, el aceite de girasol alto-oleico (AR2) es menos sensible a los cambios oxidativos y además, bajo condiciones térmicas como la fritura, presenta mayor resistencia al deterioro termoxidativo que el aceite de girasol tradicional (Dobarganes et al., 1993).

Respecto al color de los aceites recuperados AR1 y AR2, se observaron diferencias significativas en luminosidad ( $L^*$ ,  $p < 0,01$ ) y en los ejes rojo/verde ( $a^*$ ,  $p < 0,01$ ) y amarillo/azul ( $b^*$ ,  $p < 0,01$ ) (Tabla 2.10). Las dos muestras presentaron alta luminosidad y la presencia de un componente verde (valores negativos de  $a^*$ ), pero también una marcada diferencia en el componente amarillo, siendo AR1 más amarillo que AR2 (valores positivos de  $b^*$ ).

**Tabla 2.10.** Parámetros de color de las muestras de aceite recuperado.

MUESTRA	$L^*$	$a^*$	$b^*$
AR1	$92,82 \pm 0,16^a$	$-3,57 \pm 0,02^a$	$19,68 \pm 0,14^b$
AR2	$94,74 \pm 0,34^b$	$-2,83 \pm 0,04^b$	$9,03 \pm 0,05^a$

Valores para el mismo componente en la misma columna seguido de letras diferentes son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) por el Test de Fisher.

El color en los aceites está relacionado con la presencia de sustancias como carotenos que imparten los colores amarillo y rojo, clorofilas que le otorgan un tono verdoso, además de proteínas e hidratos de carbono que le dan un color marrón degradado (O'Brien, 2008). Dichos pigmentos pueden estar presentes en la semilla y ser solubles en el aceite (Charrouf et al., 2008). El color puede variar dependiendo

también de los tratamientos a los que se somete en la refinación, especialmente en etapas como neutralización, desodorización y blanqueado, tendiendo el aceite crudo a ser ámbar claro, mientras que el aceite refinado tiene un color amarillo pálido (O'Brien, 2008). El color del aceite es un parámetro importante para monitorear su calidad, pues durante el procesamiento la apariencia del producto puede indicar la presencia de un problema ya sea por oscurecimiento o falta de cambio del color. En la actualidad el "marketing" ha promovido el uso de aceites más claros o más blancos para su uso en ensaladas y margarinas (O'Brien, 2008). Respecto al color como parámetro de calidad, las diferencias en la componente amarilla de las muestras de aceite AR1 y AR2 pueden estar relacionadas también con los mayores valores en los índices de calidad presentada por AR1 (como lo indican las mediciones descritas en la Tabla 2.8), dado que la pigmentación más alta puede ser causada, entre otras cosas, por la presencia de productos de oxidación. A fin de reducir los mismos, las condiciones de almacenamiento de las tortas de filtración resultan importantes si se desea recuperar el aceite que se pierde en ese proceso.

Los resultados de índices de calidad y de color de los aceites recuperados de las tortas de filtración, indican que éstos podrían ser reinsertados en el proceso de refinación, teniendo antes especial cuidado en la conservación de las tortas hasta su recuperación.

La composición en ceras de las muestras AR1 y AR2 se muestra en la Tabla 2.11, la metodología usada (Carelli et al., 2012), permitió la cuantificación de ceras de gran longitud de cadena identificando ceras de hasta 60 átomos de carbono (C60). El contenido total de ceras en AR1 ( $1356 \pm 253$  mg/kg) fue superior que en AR2 ( $604 \pm$

35 mg/kg). Para ambas muestras, la fracción de ceras mayoritaria correspondió a ceras cristalizables o insolubles en aceite ( $\geq C44$ ) (AR1: 1116 mg/kg, AR2: 530 mg/kg), mientras que la fracción soluble y parcialmente soluble (C34-C43) representó menos del 20%. Contenidos y perfiles similares de ceras fueron reportados por varios autores para aceites crudos de girasol (Carrín y Carelli, 2010; Henon et al., 2001; Pérez et al., 2004).

Dado que las ceras se encuentran localizadas principalmente en la cáscara, el contenido de las mismas en el aceite depende en gran manera del porcentaje de cáscaras adheridas a la semilla y al mayor o menor descascarado de las mismas antes de la extracción (Baümler et al., 2007; Carelli et al., 2002). Además del tipo de híbrido, origen y conservación de la semilla, la temperatura y el método de extracción influyen de manera marcada en el contenido de ceras en el aceite crudo. Los aceites extraídos mediante prensado contienen menor cantidad de ceras que los extraídos utilizando solventes (Bredan et al., 2000). Además, las condiciones de proceso de las etapas de refinación influyen en mayor o menor proporción en el contenido de ceras, obteniendo diferencias en su composición comparadas con el aceite crudo. Etapas como el desgomado tienen un efecto pequeño en el contenido total de ceras, mientras que el blanqueado y la desodorización contribuyen en mayor proporción en la disminución de su contenido (Carbone et al., 2008).

Tabla 2.11. Composición de ceras de los aceites recuperados.

<b>Cera</b>	<b>AR1 (%peso)</b>	<b>AR2 (%peso)</b>
C34	0,3 ± 0,1	0,6 ± 0,1
C36	1,4 ± 0,1	2,4 ± 0,2
C38	1,2 ± 0,1	1,7 ± 0,2
C40	5,5 ± 0,5	5,0 ± 0,6
C41	0,4 ± 0,0	0,2 ± 0,0
C42	8,0 ± 0,4	2,3 ± 0,4
C43	0,8 ± 0,0	0,2 ± 0,0
C44	19,5 ± 0,4	4,8 ± 0,2
C45	2,0 ± 0,2	1,0 ± 0,1
C46	20,4 ± 0,7	16,0 ± 0,5
C47	2,1 ± 0,3	2,2 ± 0,1
C48	15,6 ± 0,3	20,6 ± 0,4
C49	1,7 ± 0,1	2,4 ± 0,2
C50	8,5 ± 0,2	14,2 ± 0,2
C51	0,7 ± 0,1	1,3 ± 0,1
C52	5,9 ± 0,6	11,9 ± 0,3
C53	0,4 ± 0,0	1,0 ± 0,0
C54	2,8 ± 0,2	5,8 ± 0,1
C55	0,2 ± 0,0	0,5 ± 0,1
C56	1,3 ± 0,1	3,0 ± 0,2
C57	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0
C58	0,5 ± 0,1	1,6 ± 0,1
C59	0,2 ± 0,1	0,5 ± 0,1
C60	0,2 ± 0,1	0,8 ± 0,2
<b>Contenido total (mg/kg)</b>	<b>1356 ± 253</b>	<b>604 ± 35</b>
<b>Fracción soluble y parcialmente soluble (mg/kg)</b>	<b>240 ± 57</b>	<b>74 ± 11</b>
<b>Fracción insoluble (mg/kg)</b>	<b>1116 ± 196</b>	<b>530 ± 27</b>

De acuerdo a la información suministrada por los proveedores de las tortas de filtrado (MD1 y MD2), las semillas fueron descascaradas antes de la extracción del aceite, dejando entre un 10-12% de cáscara total. Respecto a las condiciones de

proceso en la refinación de los aceites, como ya se mencionó, las muestras sólo se diferenciaron en haber tenido la etapa de desodorización antes (MD2) o después (MD1) del winterizado. Por lo tanto, las diferencias de contenido de ceras entre las muestras AR1 y AR2 pueden atribuirse principalmente a características de origen, tipo de híbrido y a la desodorización anterior o posterior al winterizado.

### **2.4.3 Ceras purificadas**

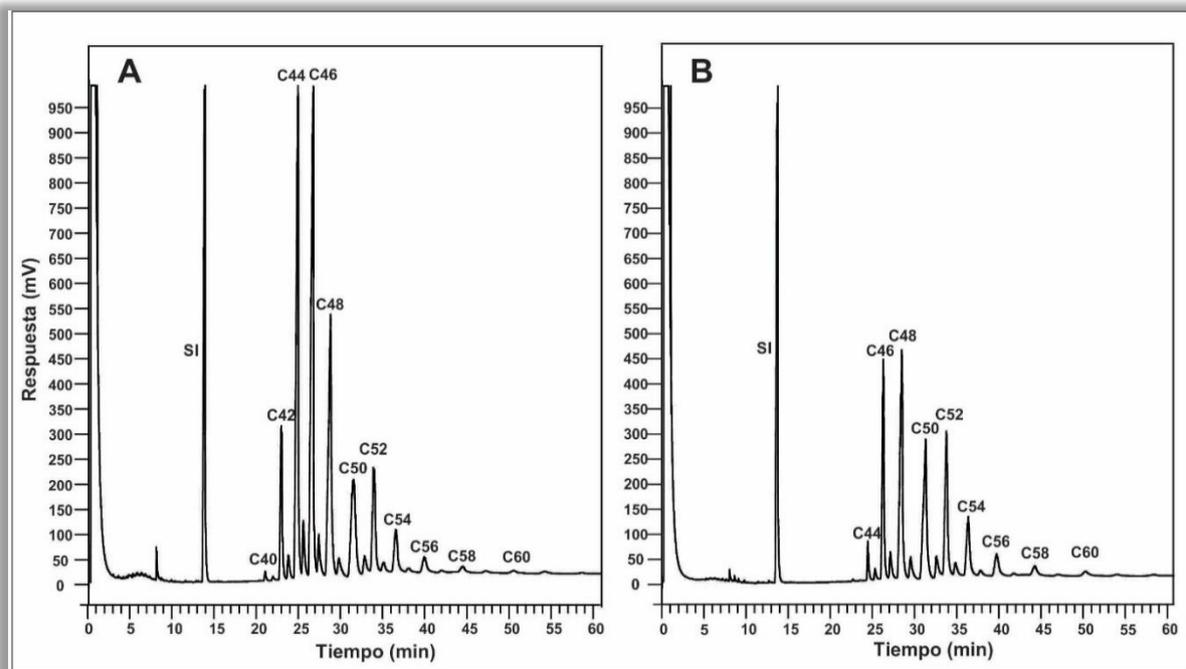
En la Tabla 2.12 se muestran los resultados del perfil de ceras en las muestras de ceras purificadas CP1 y CP2.

Las muestras estuvieron compuestas principalmente por ceras en el rango de 40 a 60 átomos de carbono. Los análisis evidenciaron altos porcentajes de C44, C46, C48, C50 y C52 para CP1 (Tabla 2.12 - Figura 2.6A), mientras que en la muestra CP2, las ceras predominantes fueron C46, C48, C50, C52 y C54 (Tabla 2.12 - Figura 2.6B). En ambas muestras, las ceras con más de 44 átomos de carbono (ceras cristalizables) constituyeron el 80% del total de ésteres de ceras, siendo estos valores similares a otros resultados reportados en la literatura (Baümler et al., 2007; Baümler et al., 2013; Carelli et al., 2012). Baümler et al. (2007) encontraron un perfil de ceras similar cuando analizaron la contribución de la cáscara al contenido de ceras en el aceite de girasol. También observaron que la fracción cristalizable estuvo compuesta principalmente de ceras con número par y mayores a 40 átomos de carbono, con altos porcentajes de C44, C46 y C48. Dicha porción de ceras tienden a cristalizar y causar turbidez cuando el aceite es enfriado, interfiriendo en el procesamiento del aceite y su comercialización (Carrín y Carelli, 2010).

**Tabla 2.12.** Porcentajes relativos de ceras identificadas en las muestras de ceras purificadas.

<b>Cera</b>	<b>CP1 (%peso)</b>	<b>CP2 (%peso)</b>
<b>C40</b>	0,3 ± 0,0	n.d.
<b>C41</b>	0,1 ± 0,0	n.d.
<b>C42</b>	6,6 ± 0,4	Tr
<b>C43</b>	1,1 ± 0,1	Tr
<b>C44</b>	23,4 ± 0,6 <sup>b</sup>	1,9 ± 0,4 <sup>a</sup>
<b>C45</b>	2,2 ± 0,1 <sup>b</sup>	0,6 ± 0,1 <sup>a</sup>
<b>C46</b>	24,9 ± 0,2 <sup>b</sup>	13,9 ± 2,4 <sup>a</sup>
<b>C47</b>	1,6 ± 0,0 <sup>a</sup>	1,9 ± 0,2 <sup>a</sup>
<b>C48</b>	16,3 ± 0,4 <sup>a</sup>	22,3 ± 2,2 <sup>b</sup>
<b>C49</b>	1,1 ± 0,0 <sup>a</sup>	2,1 ± 0,1 <sup>b</sup>
<b>C50</b>	9,2 ± 0,2 <sup>a</sup>	18,8 ± 0,3 <sup>b</sup>
<b>C51</b>	0,9 ± 0,0 <sup>a</sup>	2,2 ± 0,1 <sup>b</sup>
<b>C52</b>	6,3 ± 0,2 <sup>a</sup>	16,1 ± 1,2 <sup>b</sup>
<b>C53</b>	0,5 ± 0,0 <sup>a</sup>	1,4 ± 0,1 <sup>b</sup>
<b>C54</b>	3,0 ± 0,1 <sup>a</sup>	9,3 ± 1,6 <sup>b</sup>
<b>C55</b>	0,2 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,8 ± 0,1 <sup>b</sup>
<b>C56</b>	1,3 ± 0,1 <sup>a</sup>	4,7 ± 1,3 <sup>b</sup>
<b>C57</b>	0,1 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,4 ± 0,1 <sup>b</sup>
<b>C58</b>	0,5 ± 0,0 <sup>a</sup>	2,3 ± 0,7 <sup>b</sup>
<b>C59</b>	0,2 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,3 ± 0,0 <sup>b</sup>
<b>C60</b>	0,2 ± 0,0 <sup>a</sup>	1,1 ± 0,3 <sup>b</sup>

Se muestran los valores medios de dos muestras independientes analizadas por duplicado. Valores para el mismo componente en la misma fila seguido de letras diferentes son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) por el Test de Fisher. Tr = trazas (<0.1%). n.d. = no detectado



**Figura 2.6.** Cromatogramas de ceras de girasol recuperadas, **A.** CP1 **B.** CP2.

**SI** = Estándar Interno.

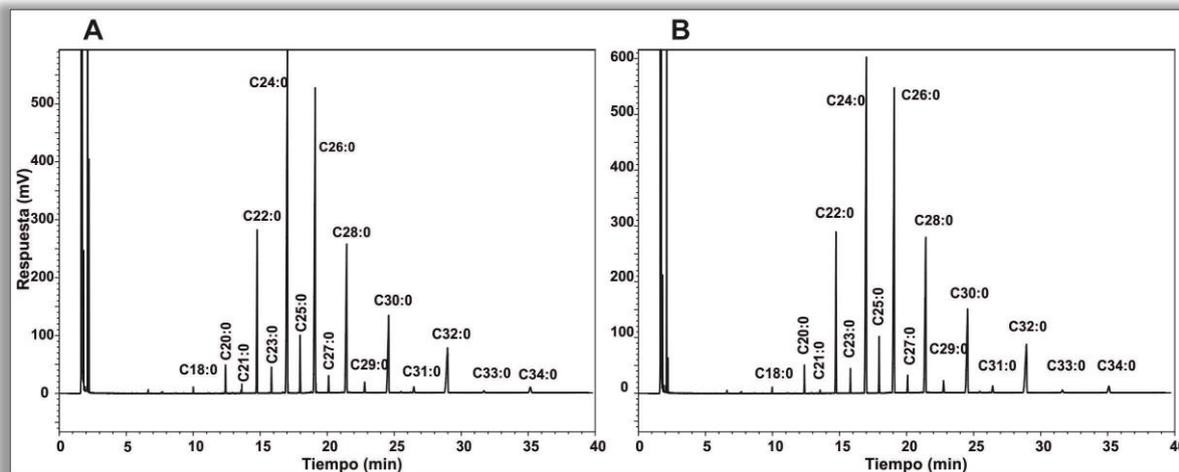
En la Tabla 2.13 se presenta la composición en alcoholes y ácidos grasos en las muestras CP1 y CP2.

Los alcoholes grasos que componen las ceras de girasol recuperadas CP1 y CP2, estuvieron en el rango de 18 a 34 átomos de carbono para ambas muestras (Tabla 2.13 – Figuras 2.7). Los principales alcoholes encontrados en CP1 y CP2, fueron C24, C26 y C28, constituyendo alrededor del 70% del total de alcoholes grasos. No se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,01$ ) en el perfil de alcoholes grasos entre las dos muestras.

**Tabla 2.13.** Porcentajes relativos alcoholes grasos y ácidos grasos identificados en las muestras de ceras purificadas.

<b>Alcohol graso</b>	<b>CP1 (%peso)</b>	<b>CP2 (%peso)</b>	<b>Ácido graso</b>	<b>CP1 (%peso)</b>	<b>CP2 (%peso)</b>
<b>C18:0</b>	0,2 ± 0,0	n.d.	<b>C14:0</b>	1,3 ± 0,0 <sup>b</sup>	0,9 ± 0,2 <sup>a</sup>
<b>C20:0</b>	1,1 ± 0,1 <sup>a</sup>	1,1 ± 0,1 <sup>a</sup>	<b>C16:0</b>	16,2 ± 0,8 <sup>b</sup>	9,5 ± 1,7 <sup>a</sup>
<b>C21:0</b>	0,1 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,1 ± 0,0 <sup>a</sup>	<b>C16:1</b>	0,9 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,1 <sup>a</sup>
<b>C22:0</b>	9,0 ± 0,6 <sup>a</sup>	8,6 ± 2,6 <sup>a</sup>	<b>C17:0</b>	1,1 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,0 <sup>a</sup>
<b>C23:0</b>	1,0 ± 0,1 <sup>a</sup>	1,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	<b>C18:0</b>	4,9 ± 0,2 <sup>a</sup>	5,1 ± 0,8 <sup>a</sup>
<b>C24:0</b>	30,5 ± 1,5 <sup>a</sup>	29,4 ± 6,8 <sup>a</sup>	<b>C18:1</b>	20,2 ± 1,1 <sup>a</sup>	42,6 ± 8,9 <sup>b</sup>
<b>C25:0</b>	2,5 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,4 ± 0,1 <sup>a</sup>	<b>C18:2</b>	22,1 ± 1,3 <sup>b</sup>	5,9 ± 1,2 <sup>a</sup>
<b>C26:0</b>	26,2 ± 0,4 <sup>a</sup>	26,3 ± 0,9 <sup>a</sup>	<b>C20:0</b>	0,4 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,8 ± 0,1 <sup>a</sup>
<b>C27:0</b>	0,8 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,8 ± 0,2 <sup>a</sup>	<b>C18:3</b>	2,8 ± 0,1 <sup>b</sup>	0,2 ± 0,1 <sup>a</sup>
<b>C28:0</b>	12,9 ± 0,7 <sup>a</sup>	13,5 ± 2,5 <sup>a</sup>	<b>C20:1</b>	0,1 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,1 ± 0,0 <sup>a</sup>
<b>C29:0</b>	0,7 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,7 ± 0,3 <sup>a</sup>	<b>C20:2</b>	0,9 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,3 <sup>a</sup>
<b>C30:0</b>	7,6 ± 0,8 <sup>a</sup>	8,1 ± 3,0 <sup>a</sup>	<b>C22:0</b>	0,6 ± 0,1 <sup>a</sup>	1,0 ± 0,1 <sup>a</sup>
<b>C31:0</b>	0,5 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,5 ± 0,5 <sup>a</sup>	<b>C23:0</b>	0,8 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,5 ± 0,2 <sup>a</sup>
<b>C32:0</b>	5,8 ± 0,7 <sup>a</sup>	6,3 ± 3,2 <sup>a</sup>	<b>C24:0</b>	0,3 ± 0,0 <sup>a</sup>	1,1 ± 0,0 <sup>b</sup>
<b>C33:0</b>	0,2 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,3 ± 0,2 <sup>a</sup>	<b>C24:1</b>	2,1 ± 0,1 <sup>b</sup>	0,3 ± 0,0 <sup>a</sup>
<b>C34:0</b>	0,8 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,8 ± 0,1 <sup>a</sup>	<b>C26:0</b>	2,5 ± 0,0 <sup>a</sup>	2,4 ± 1,2 <sup>a</sup>
			<b>C27:0</b>	0,7 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,8 ± 0,1 <sup>a</sup>
			<b>C28:0</b>	5,5 ± 0,5 <sup>a</sup>	6,2 ± 3,1 <sup>a</sup>
			<b>C29:0</b>	0,5 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,5 ± 0,3 <sup>a</sup>
			<b>C30:0</b>	4,6 ± 0,8 <sup>a</sup>	6,2 ± 2,8 <sup>a</sup>
			<b>C31:0</b>	1,6 ± 0,0 <sup>a</sup>	2,4 ± 0,8 <sup>a</sup>
			<b>C32:0</b>	4,7 ± 1,1 <sup>a</sup>	5,6 ± 2,9 <sup>a</sup>
			<b>C34:0</b>	5,1 ± 1,4 <sup>a</sup>	5,3 ± 2,8 <sup>a</sup>

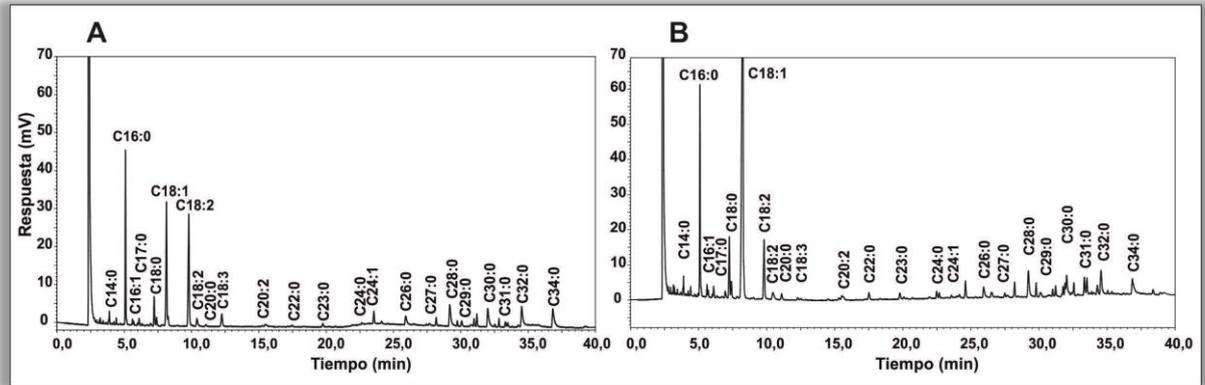
Los valores son la media de dos muestras independientes analizadas por duplicado. Valores para el mismo componente en la misma fila seguido de letras diferentes son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) por el Test de Fisher. n.d. = no detectado



**Figura 2.7.** Cromatograma alcoholes grasos en ceras de girasol recuperadas **A.** CP1. **B.** CP2.

Por su parte, los ácidos grasos constituyentes de las ceras, estuvieron en el rango de 14 a 34 átomos de carbono, siendo mayoritarios los ácidos grasos de 16, 18, 30, 32 y 34 átomos de carbono en ambas muestras (Tabla 2.13 – Figura 2.8). La presencia de ceras impares podría ser explicada por la presencia de pequeñas cantidades de compuestos con números impares de carbono. Los resultados son similares a los reportados por otros autores en estudios en sedimentos de aceite de girasol y fracción de ceras de aceite (Carelli et al., 2002; Martini et al., 2008; Soomro y Sherazi, 2013). Se encontraron diferencias significativas ( $p << 0,01$ ) entre las muestras respecto a los perfiles de ceras y ácidos grasos, que pueden ser atribuidas a los diferentes híbridos estudiados, ya que la muestra de ceras CP2 presentó una cantidad mayor de ácido oleico que la proveniente de un aceite de girasol convencional (CP1). La composición en ácidos grasos es también altamente controlada por factores genéticos y ambientales. En estudios de genotipo y localidad realizados por Agüero et al. (1999), se reportan valores de ácido oleico y rendimiento del grano de híbridos de girasol igual o más altos que los encontrados en híbridos

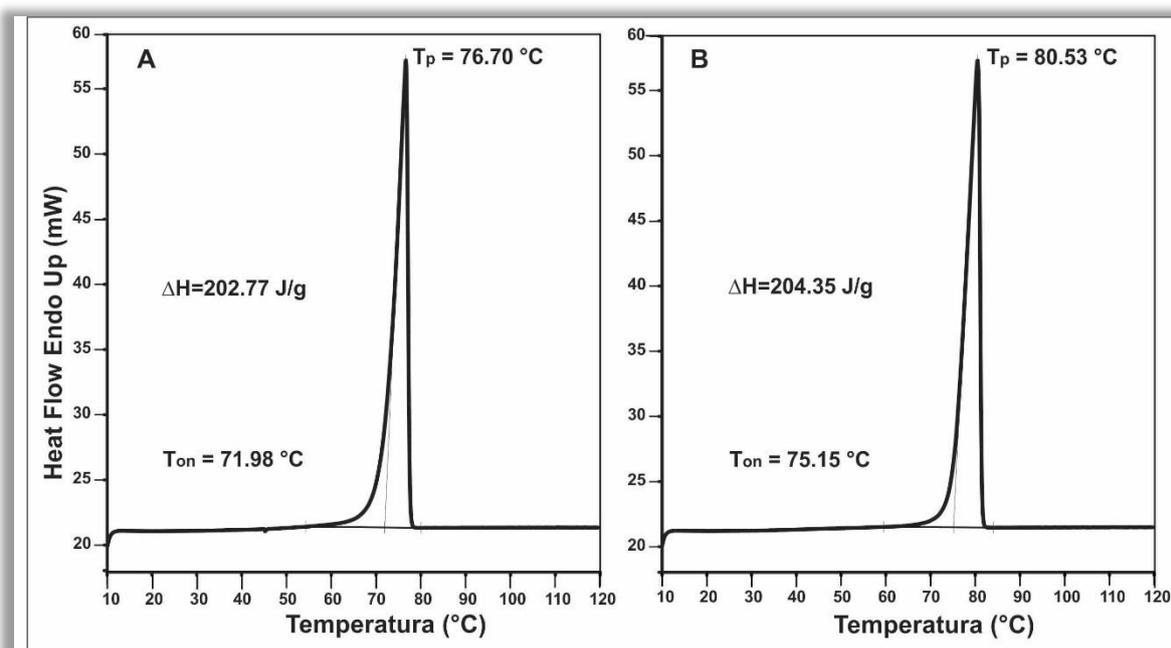
tradicionales, siendo influenciados por la temperatura de la noche en el período de llenado del grano (Izquierdo et al., 2006).



**Figura 2.8.** Cromatogramas ácidos grasos en ceras de girasol recuperadas **A.** CP1. **B.** CP2.

El comportamiento térmico de CP1 y CP2 obtenido mediante análisis de DSC es presentado en la Figura 2.9. Puntos de fusión entre 76 y 77 °C para ceras de girasol purificadas han sido reportados por Leibovitz y Ruckenstein (1981) y por Bäumlér et al. (2013), mientras Liu et al. (1996) reportaron valores más bajos (73 °C). La curva del termograma DSC para CP1, mostró un pico de temperatura de fusión de 76,7 °C, mientras que la muestra CP2 exhibió dicho pico a una temperatura ligeramente más alta (80,53 °C). La entalpía de fusión de las dos muestras, asociada con el cambio de fase y determinada por el área del pico, fue de 202,77 J/g y 204,35 J/g para CP1 y CP2, respectivamente. Además, la muestra CP1 mostró una temperatura de inicio  $T_{on}$  más baja que CP2. Esto puede ser atribuido a la longitud de la cadena de las ceras y al grado de insaturación de los ácidos grasos. Es sabido que la temperatura de fusión de los ésteres de ceras se incrementa con la longitud de las cadenas, requiriendo mayor energía para fundir, mientras los ácidos grasos insaturados pueden fundir a temperaturas más bajas, con menos energía. La muestra de ceras CP1 presentó una

cantidad más pequeña de ceras con cadenas más largas y mayores insaturaciones comparadas con CP2 (Tabla 2.12). Los valores de entalpía de fusión estuvieron en el orden de los reportados por Bäumlér et al. (2013) pero fueron más altos que los reportados por Liu et al. (1996) (190 J/g), sugiriendo diferencias en la composición de las muestras analizadas.



**Figura 2.9.** Comportamiento térmico de ceras de girasol **A.** CP1 **B.** CP2.

El análisis del color de las ceras purificadas (CP1 y CP2) reportó diferencias significativas en luminosidad ( $L^*$ ,  $p \ll 0,01$ ) y en los ejes rojo/verde ( $a^*$ ,  $p < 0,05$ ) y amarillo/azul ( $b^*$ ,  $p \ll 0,01$ ), Tabla 2.14. Las dos muestras presentaron luminosidad alta y bajos valores de  $+a^*$  y  $+b^*$ . Las ceras CP1 fueron menos amarillas que CP2, lo que podría ser beneficioso en ciertas aplicaciones tales como recubrimientos comestibles de interés en alimentos.

**Tabla 2.14.** Parámetros de color de las muestras de ceras recuperadas.

<b>MUESTRA</b>	<b>L*</b>	<b>a*</b>	<b>b*</b>
<b>CP1</b>	88,41 ± 1,07 <sup>b</sup>	8,48 ± 0,06 <sup>a</sup>	7,61 ± 1,41 <sup>a</sup>
<b>CP2</b>	85,49 ± 0,93 <sup>a</sup>	8,61 ± 0,16 <sup>b</sup>	9,49 ± 0,99 <sup>b</sup>

Valores para el mismo componente en la misma columna seguido de letras diferentes son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) por el Test de Fisher.

## **2.5 CONCLUSIONES**

La caracterización inicial de las tortas de filtración suministradas indicó un alto contenido lipídico en las dos muestras (mayor al 50%). El fraccionamiento de dicho material fue posible (aceite recuperado y ceras purificadas) resultando en un alto porcentaje de aceite que se pierde en el proceso de descerado y que está retenido en la torta.

El contenido de ácidos grasos oleico y linoleico en los dos aceites recuperados fue diferente posiblemente debido al tipo de semilla procesada y a las condiciones ambientales (temperatura) en las que creció el cultivo de girasol.

Los análisis de índices de calidad y de color de los aceites recuperados sugirieron que estos pueden ser reincorporados en el proceso de refinación, reduciendo así las pérdidas. Sin embargo, se debe tener especial cuidado en el almacenamiento de las tortas de filtración, dado que la composición en ácidos grasos de los aceites y la conservación de la misma, tienen una marcada influencia en el nivel de deterioro del aceite que se encuentra atrapado en este residuo.

El contenido de las ceras en la porción lipídica de las tortas de filtración depende de las características de origen del cultivo de girasol, tipo de híbrido y de las etapas de refinación del aceite antes del proceso de descerado. El análisis del contenido y perfil de ceras en los aceites recuperados mostró resultados similares a los reportados en bibliografía para aceites crudos. Las muestras de las ceras purificadas estuvieron compuestas por una alta proporción de ceras cristalizables

(C > 40), con algunas diferencias observadas en el perfil de ceras y sus componentes (ácidos grasos y alcoholes grasos) atribuibles principalmente al distinto origen de la semilla procesada, entre otros factores.

La diferencia en el comportamiento térmico de las dos muestras de ceras purificadas radicó en la longitud de la cadena de ceras presentes y en el grado de insaturación de sus ácidos grasos, indicando un mayor punto de fusión para la muestra compuesta por cadenas más largas de ceras y menores insaturaciones.

La caracterización de las ceras purificadas permitió una comprensión más profunda de su composición, la cual es de extrema importancia para su uso potencial en diferentes industrias y tecnologías. Esto es también de gran relevancia ambiental, dado que los componentes del material de desecho generado por el proceso de winterización (tierras, aceite y ceras) podrían ser recuperados y reusados, dándoles valor agregado.

## 2.6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agüero M., Pereyra V., Aguirrezábal L. y Lúquez J. (1999), Rendimiento de grano y porcentaje de aceite de híbridos de girasol "alto oleico" cultivados en Argentina, *Agriscientia*, 16, 49-53.

AOCS (1994), *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society*, Ed. D. Firestone, AOCS Press, Champaign, Illinois, USA.

Bäumler E.R., Crapiste G.H. y Carelli A.A. (2007), Sunflower-oil wax reduction by seed solvent washing, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84(6), 603-608.

Bäumler E.R., Carelli A.A. y Martini S. (2013), Physical properties of aqueous solutions of pectin containing sunflower wax, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90(6), 791-802.

Brevedan M., Carelli A.A. y Crapiste G.H. (2000), Changes in composition and quality of sunflower oils during extraction and degumming, *Grasas y Aceites*, 51(6), 417-423.

CAA (2013), Código Alimentario Argentino, *Capítulo VII. Alimentos Grasos Aceites Alimenticios. Artículos 520 al 552*, disponible en: [http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO\\_VII.pdf](http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO_VII.pdf).

Carbone V., Carelli A.A., Carrín M.E., Cozzolino R., Crews C., Aparicio R., Ayadi M., Bäumler E.R. y Penci M.C. (2008), Assesment of chemical and physical-chemical

properties of edible oils, in *The Scientific Handbook. Mapping And Comparing Oils. "Sixth Framework Programme of the European Community" - Priority 5. Food Quality and Safety Priority.*, editado por Luigi R.G., Roma, Italy.

Carelli A.A., Bäumlér E.R. y Ceci L.N. (2012), Improved method for the determination of wax esters in vegetable oils, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114(11), 1312-1319.

Carelli A.A., Frizzera L.M., Forbito P.R. y Crapiste G.H. (2002), Wax composition of sunflower seed oils, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79(8), 763-768.

Carrín M.E. y Carelli A.A. (2010), Changes in quality and composition of sunflower oil during processing and storage, in *Advances in Fats Oil Research*, editado por Tomás M., pp. 25-48, Editorial Research Signpost, Kerala, India.

Codex Alimentarius (1999), Codex standard for named vegetable oils, *Codex Stan 210*, 1-13.

Crapiste G.H., Bredan M.I. y Carelli A.A. (1999), Oxidation of sunflower oil during storage, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76(12), 1437-1443.

Charrouf Z., Chiarello M.D., Di Stasio M., Kerem Z., Pages X., Pinelli L.d.L.d.O., Rossignol-Castera A. y Volpe M.G. (2008), Extraction, Refining, Conservation and Packaging Methods of Edible Oils, in *The Scientific Handbook. Mapping And*

*Comparing Oils. "Sixth Framework Programme of the European Community" - Priority 5. Food Quality and Safety Priority.*, editado por Luigi R.G., Roma, Italy.

Di Rienzo J., Casanoves F., Balzarini M., Gonzalez L., Tablada M. y Robledo y.C. (2011), InfoStat versión 2011, *Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina*. URL <http://www.infostat.com.ar>, 8, 195-199.

Dijkstra A.J. y Segers J. (2007), Production and Refining of Oils and Fats, in *The Lipid Handbook* editado por Gunstone F.D., Harwood J.L. and Dijkstra A.J., CRC Press. Taylor and Francis Group, Boca Raton, FL, USA.

Dobarganes M.C., Marquez-Ruiz G. y Perez-Camino M.C. (1993), Thermal stability and frying performance of genetically modified sunflower seed (*Helianthus annuus* L.) oils, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(4), 678-681.

Dorrell D.G. y Vick B.A. (1997), Properties and processing of oilseed sunflower, in *Sunflower technology and production*, editado por Schneiter A.A., pp. 709-745, American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA.

Garcés R., Sarmiento C. y Mancha M. (1992), Temperature regulation of oleate desaturase in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds, *Planta*, 186(3), 461-465.

Henon G., Recseg K. y Kovari K. (2001), Wax analysis of vegetable oils using liquid chromatography on a double-adsorbent layer of silica gel and silver nitrate-impregnated silica gel, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78(4), 401-410.

International Olive Council (COI) (2003), Method of Analysis. Determination of wax content by capillary column gas chromatography, COI/T.20/Doc. no.18/ Rev. 2.

International Olive Council (COI) (2015a), Determination of fatty acid methyl esters by gas chromatography, COI/T.20/Doc. No 33.

International Olive Council (COI) (2015b), Method of Analysis. Determination of aliphatic and triperpenic alcohols content by capillary gas chromatography, COI/T.20/Doc. no.26/Rev.1.

IUPAC (2013), International Union of Pure and Applied Chemistry, in *Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives*, editado por Paquot A., Hautfenne, Blackwell, Oxford Pergamon Press, Oxford, UK.

Izquierdo N.G., Aguirrezábal L.A., Andrade F.H. y Cantarero M.G. (2006), Modeling the response of fatty acid composition to temperature in a traditional sunflower hybrid, *Agronomy Journal*, 98(3), 451-461.

Leibovitz Z. y Ruckenstein C. (1981), Modern processing of sunflowerseed, *Fette Seifen Anstrichmittel*, 83, 534-540.

Liu H., Przybylski R., Dawson K., Eskin N. y Biliaderis C. (1996), Comparison of the composition and properties of canola and sunflower oil sediments with canola seed hull lipids, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73(4), 493-498.

Martini S., Carelli A.A. y Lee J. (2008), Effect of the addition of waxes on the crystallization behavior of anhydrous milk fat, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85(12), 1097-1104.

O'Brien R.D. (2008), *Fats and oils: formulating and processing for applications*, CRC Press. Taylor and Francis Group, Boca Raton, FL, USA.

Pérez E.E., Carelli A.A. y Crapiste G.H. (2004), Chemical characterization of oils and meals from wild sunflower (*Helianthus petiolaris* Nutt), *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81(3), 245-249.

Soomro R.K. y Sherazi S.T.H. (2013), Extraction and characterization of seed oil waxes by using chromatographic techniques, *International Journal of Industrial Chemistry*, 4(1), 1-7.

# **CAPÍTULO 3**

## **EMULSIONES ACUOSAS A PARTIR DE PECTINA Y CERAS DE GIRASOL**

### **3.1 OBJETIVO**

El objetivo de éste capítulo es desarrollar emulsiones acuosas de pectina de bajo metoxilo y ceras de girasol, que serán la base para la elaboración de películas comestibles para alimentos, analizar su estabilidad, propiedades reológicas y microestructurales.

### **3.2 INTRODUCCIÓN**

#### **3.2.1 Generalidades de las películas comestibles a partir de emulsiones**

En la actualidad el interés y la preocupación por el impacto ambiental de los residuos generados por los envases sintéticos y la demanda creciente de consumo de alimentos seguros de alta calidad y larga vida útil, han impulsado la búsqueda de alternativas enfocadas a la investigación de envases o películas comestibles elaboradas con materiales que posean propiedades únicas (Janjarasskul y Krochta, 2010). Es así que, a fin de controlar la calidad y estabilidad de los productos alimenticios, entre las propiedades buscadas en los materiales formadores de

películas se incluyen su habilidad para proteger al alimento y contribuir en la reducción de cambios bioquímicos causados por la transferencia de vapor de agua, etileno y oxígeno entre el alimento y su medio circundante (Debeaufort et al., 1998; Guilbert et al., 1995).

Las investigaciones se han centrado en el desarrollo y evaluación de dichas películas comestibles utilizando cuatro tipos principales de materiales: lípidos, resinas, polisacáridos y proteínas (Baldwin et al., 1995), y otros componentes derivados de fuentes renovables; cada uno de los cuales posee propiedades funcionales de acuerdo a su naturaleza y que pueden ser complementarias para mejorar las características de las películas y brindar la protección necesaria al producto dependiendo de su necesidad. Así mismo, junto con la gran variedad de materiales, se han analizado diferentes métodos o técnicas de elaboración que permiten lograr mejores resultados respecto a la aplicabilidad de las películas en los alimentos.

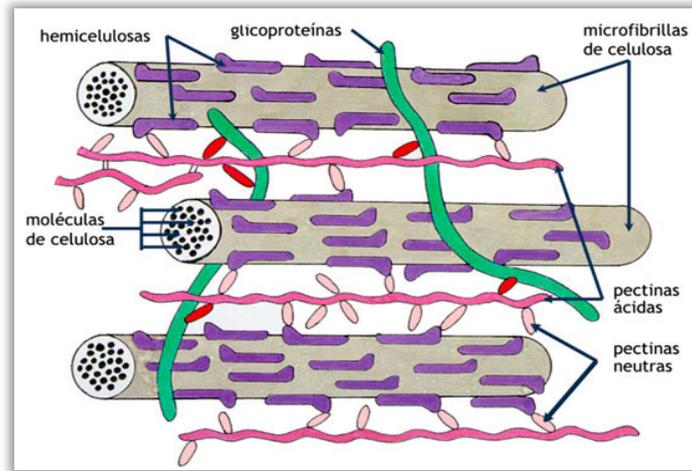
Dentro de la formulación de películas comestibles es necesario que uno o varios componentes formen una matriz cohesiva y continua, y para ello, el uso de polisacáridos (como celulosa, almidón, pectina, gomas vegetales, alginatos, carragenano, agar, etc.) ha sido muy difundido debido a su gran aporte estructural (Guilbert et al., 1995), capacidad de adherencia y, además, por sus buenas propiedades de barrera a los gases; aunque, por su carácter hidrofílico, son barreras débiles al vapor de agua (Mellinas et al., 2016). Es por esta última característica de los polisacáridos que pueden combinarse con la naturaleza hidrofóbica de los lípidos, los cuales proveen buenas propiedades de barrera a la humedad (Kester y Fennema, 1989; Maftoonazad et al., 2007), logrando así complementar y controlar las

propiedades finales de las películas. Al respecto, Schultz et al. (1949) han demostrado que los ácidos grasos y las ceras son sustancias hidrofóbicas muy eficientes, limitando la transferencia de vapor de agua.

Una de las estrategias para asociar dichas propiedades que ofrecen los polisacáridos y los lípidos, es la elaboración de emulsiones, las cuales permiten lograr la dispersión del componente hidrofóbico en una matriz acuosa (Baümler et al., 2013). Además de ser un método interesante industrialmente, debido a que involucra pocas operaciones en su preparación (Pérez-Gago y Krochta, 1999), permite que la asociación de las propiedades de los materiales que la conforman se realice de manera complementaria y se puedan minimizar las desventajas de uno u otro componente (Debeaufort et al., 1998).

### **3.2.2 Pectina**

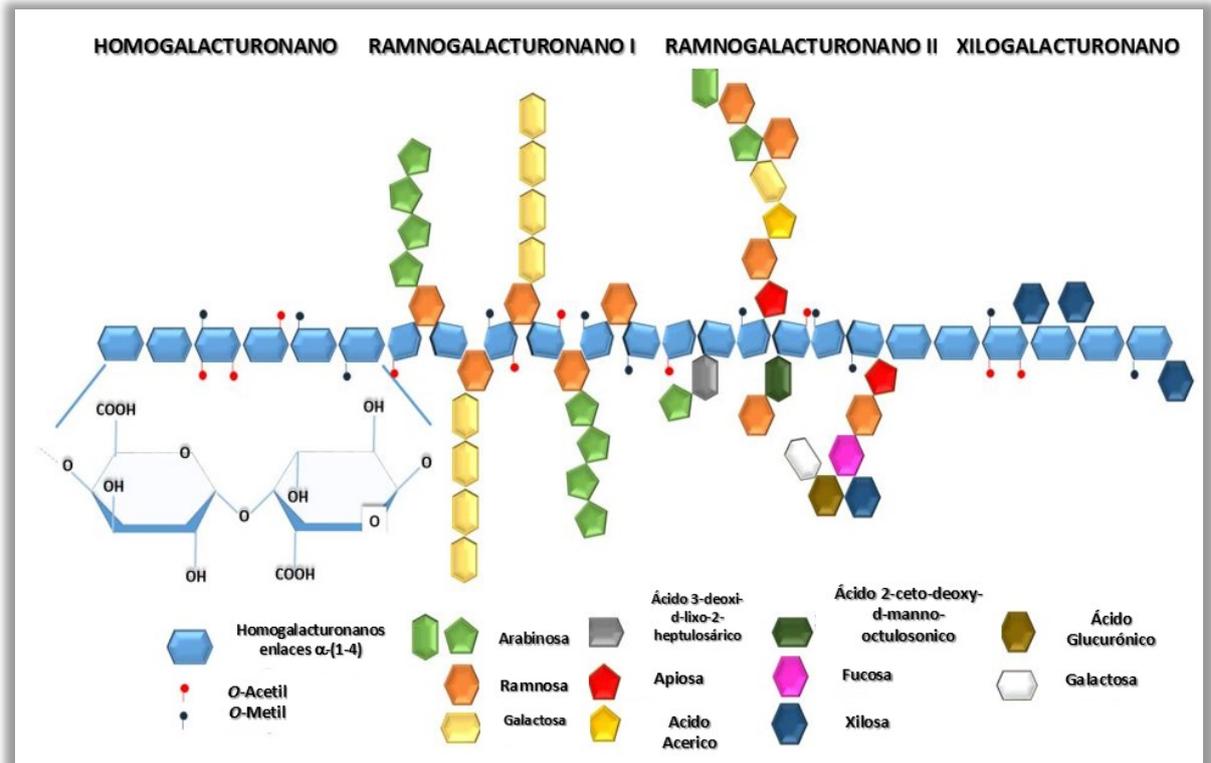
La pectina es uno de los polisacáridos más usados en la formulación de películas comestibles. Es considerada como el polisacárido más complejo en su estructura y funcionamiento, formando parte (junto con celulosa y hemicelulosa) de la construcción de la pared celular de las plantas, influyendo en su textura e interviniendo en su crecimiento, desarrollo, adhesión celular, unión de iones, estructura y porosidad de la pared, etc. (Jarvis, 1984; Mohnen, 2008) (Figura 3.1). Su fuente natural mayoritaria son las frutas, siendo ampliamente utilizada en la industria de alimentos y bebidas como agente gelificante, espesante y estabilizador debido a su capacidad de formar gel en condiciones ácidas (Nesic, 2014).



**Figura 3.1.** Pectina en la pared celular de las plantas.

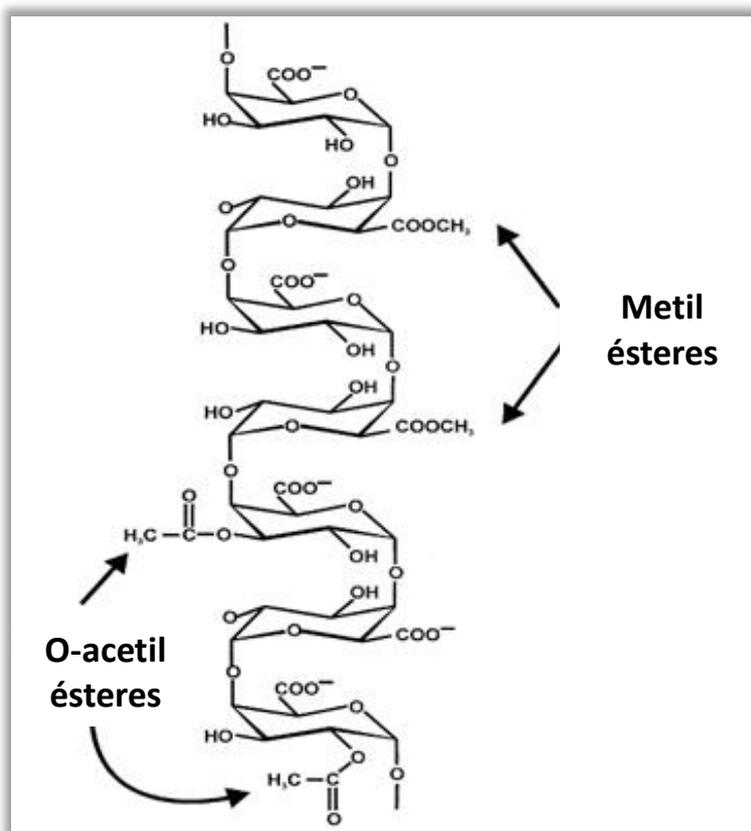
### 3.2.2.1 Estructura química

La pectina es una familia de polisacáridos ricos en ácido galacturónico con uniones  $\alpha$ -1,4; identificándose y caracterizándose tres grupos que se piensa se encuentran en todas las especies de pectinas: homogalacturonano (65% de la estructura de la pectina), ramnogalacturonano I (25-30%) y el galactronano sustituido ramnogalacturonano II (10%). Se cree que estos tres polisacáridos pueden estar unidos covalentemente para formar una red péctica a través de la matriz de la pared celular (Willats et al., 2001). El modelo esquemático de la Figura 3.2 muestra un esqueleto formado por homogalacturonanos unidos por enlaces  $\alpha$ -1,4, conteniendo varios azúcares como arabinosa, galactosa y arabinogalactanos o polímeros neutros que se unen para formar cadenas laterales (Albuquerque et al., 2016).



**Figura 3.2.** Estructura esquemática de la pectina. Fuente: Albuquerque et al. (2016).

El grupo homogalacturano es el polisacárido péctico más abundante, conteniendo ácido galacturónico parcialmente metil esterificado y acetilado, cuyo grado varía según la fuente (Nesic, 2014) (Figura 3.3). El grado de esterificación (GE) de la pectina es la relación entre los grupos de ácidos galacturónicos esterificados y la cantidad total de grupos de ácidos galacturónicos presentes en la estructura de la pectina. Es así como la pectina se divide en dos grupos basados en su GE: pectinas de alto metoxilo (HM) con GE > 50% y pectinas de bajo metoxilo (LM) con GE < 50%. La pectina HM forma geles termo reversibles en condiciones ácidas y en presencia de 60% (m/m) de sacarosa. Mientras que la pectina LM forma geles por la interacción entre los iones calcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ) y sus grupos carboxilos (Rinaudo, 2008).



**Figura 3.3.** Estructura primaria de homogalacturonano. Fuente: Ridley et al. (2001).

### 3.2.2.2 Propiedades funcionales de la pectina

Comercialmente la pectina es extraída de la piel de frutas cítricas y orujo de manzana, cuya industria se ha desarrollado en el aprovechamiento de subproductos, utilizando materiales de desecho generados en la producción de jugos de frutas y bebidas a base de jugos (May, 1997). La pectina ha sido utilizada en variedad de alimentos como agente gelificante, espesante y estabilizante. La funcionalidad de la molécula de pectina es determinada por un número de factores, en los que se incluye el GE y su tamaño molecular (Thakur et al., 1997).

La pectina es ampliamente conocida por sus propiedades gelificantes, que hacen de ésta un ingrediente importante en muchos productos alimenticios. Como ya

se mencionó, la pectina LM tiene la habilidad de formar geles en presencia de cationes divalentes como el  $\text{Ca}^{2+}$ , mientras la pectina HM los forma en presencia de azúcar y bajo condiciones ácidas. Las características del gel formado dependen de la generación de una red tridimensional continua de polímero reticulado, donde la existencia de una unión intermolecular estable es muy importante, además de zonas de unión de las moléculas del polímero, segmentos de intercomunicación y agua atrapada en la red polimérica (Jarvis, 1984; Thakur et al., 1997).

Asimismo, la pectina, como todos los polisacáridos, por su carácter hidrofílico exhibe una pequeña actividad superficial en la interface agua-aceite, por lo cual generalmente no es considerada como un agente emulsificante en sí (Akhtar et al., 2002). Sin embargo, se ha estudiado su capacidad para estabilizar emulsiones aceite en agua (O/W) (Dickinson, 2009; Drusch, 2007; Neiryneck et al., 2004), demostrando que es un componente capaz de reducir la tensión interfacial entre la fase lipídica y la fase acuosa, pudiendo ser eficiente en la preparación de emulsiones (Leroux et al., 2003). Es así que la pectina es clasificada tanto dentro de los polisacáridos más usados como dentro de los agentes estabilizantes en los alimentos (Dickinson, 2009).

### **3.2.3 Ceras de girasol**

Como se ha descrito en la sección 1.4.2.1, las ceras de girasol se encuentran principalmente en la cáscara del fruto, con un contenido de hasta el 3% en peso (Baümler et al., 2006; Carelli et al., 2002). Las ceras pasan al aceite en los procesos de extracción del mismo, siendo cristalizadas y retenidas en el desecho proveniente del proceso de winterizado del aceite de girasol. Como se analizó en el Capítulo 2,

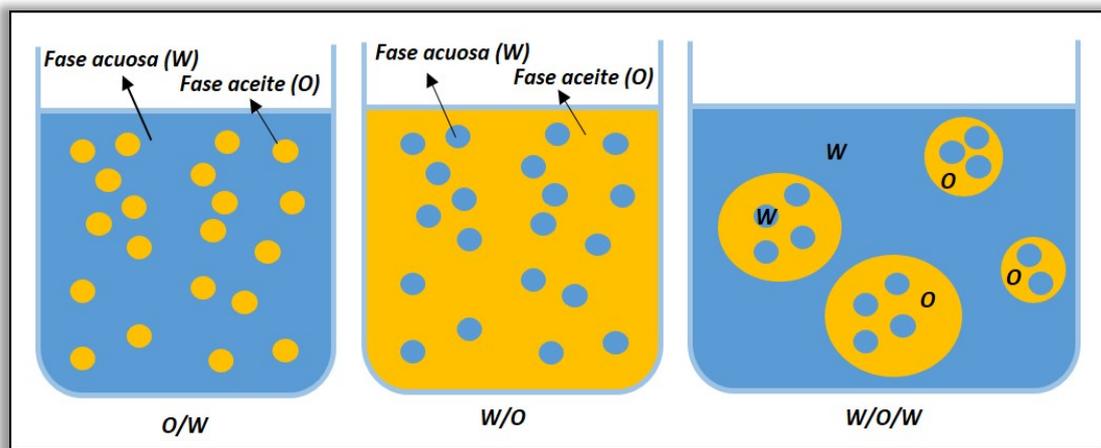
sección 2.4.3, dichas ceras son ésteres de ácidos grasos y alcoholes grasos cuya composición se encuentra entre 40 y 60 átomos de carbono.

En la actualidad, las ceras de girasol tienen un uso muy amplio en la formulación de productos cosméticos como lápices para labios (Hamilton, 1995), mascarillas y emulsiones confiriéndoles textura y mejorando su dureza y facilidad de desmolde, especialmente en barras para labios (Koster Keunen, 2016). La utilización de ceras comerciales (carnauba, candelilla, de abeja, etc.) en la elaboración de películas comestibles para la protección de productos frescos ha sido muy amplia debido a su alta hidrofobicidad (Hagenmaier, 2005). Las frutas recubiertas de ceras han sido estudiadas en relación a su deterioro, especialmente en el enfriamiento y pardeamiento, teniendo en muchos casos menos deterioro y una menor tasa de respiración que las muestras no recubiertas (Hagenmaier y Shaw, 1992). Las ceras son consideradas como una de las barreras más eficientes en la transferencia de vapor de agua (Callegarin et al., 1997; Rhim y Shellhammer, 2005) y una de las técnicas para la incorporación de estos materiales hidrofóbicos en las películas comestibles es la elaboración de emulsiones, en donde dicho material lipídico es soportado y dispersado en matrices cuyo contenido principal son polímeros naturales, otorgando, de esta manera, mejores propiedades funcionales a la película comestible (Galus y Kadzińska, 2015; Kester y Fennema, 1986; Panchev et al., 2009; Paredes-López et al., 1974; Pérez-Gago y Krochta, 2001; Tharanathan, 2003). La elaboración de emulsiones y la utilización de ceras de girasol en la elaboración de películas comestibles para alimentos ha sido reportado por Baümler et al. (2014).

### 3.2.4 Emulsiones

Se define por emulsión a la mezcla homogénea de dos líquidos inmiscibles, uno de los cuales se dispersa como pequeñas gotas esféricas (fase dispersa) en un medio continuo líquido (fase continua) (McClements, 1999). Existen tres tipos principales de emulsiones (Dalgleish, 2004) (Figura 3.4):

- ⊙ O/W Aceite en agua: gotas de aceite suspendidas en la fase acuosa continua.
- ⊙ W/O Agua en aceite: gotas de agua dispersas en la fase aceite continua.
- ⊙ W/O/W Agua en aceite en agua: emulsión cuyas gotas contienen a su vez gotas de agua.



**Figura 3.4.** Emulsiones O/W, W/O y W/O/W.

Muchos alimentos convencionales existen naturalmente o son elaborados como emulsiones. En la Tabla 3.1 se presentan ejemplos típicos de emulsiones alimentarias, su método de preparación y el mecanismo que poseen para mantenerse estables (Dickinson, 1987).

**Tabla 3.1.** Coloides alimentarios típicos.

<b>Alimento</b>	<b>Tipo de emulsión</b>	<b>Método de preparación</b>	<b>Mecanismo de estabilización</b>
Leche	O/W	Producto natural	Membrana proteica
Crema	A+O/W	Centrifugación	Membrana proteica + estabilización de partículas de aire
Helado	A+O/W	Homogenización	Membrana proteica + estabilización de partículas de aire + red de hielo
Manteca y margarina	W/O	Batido y cristalización	Red de cristales de grasa
Salchichas	O/W	Mezclado a alta velocidad y homogenización	Por proteína y polisacáridos
Productos cárnicos	O/W	Mezclado a baja velocidad y cortado	Matriz de proteína gelificada
Productos de panadería	A+O/W	Mezclado	Almidón y red de proteína

A = Aire. Fuente: Dickinson (1987).

Cuando dos líquidos inmiscibles entran en contacto, tienden a adoptar el estado más estable termodinámicamente, minimizando así el área de contacto entre las fases y observándose una separación de la fase aceite (arriba) y acuosa (fondo) por su diferencia de densidades (Figura 3.5). El proceso de formación de emulsiones requiere el suministro de energía, llevándose a cabo mediante la agitación mecánica intensa de homogeneizadores (Walstra, 1993), que permiten romper la fase aceite o la fase acuosa en pequeñas gotas que permanecen dispersas a través del otro líquido y también reducir el tamaño de las gotas en una emulsión preexistente (Dalgleish, 2004; McClements, 1999).

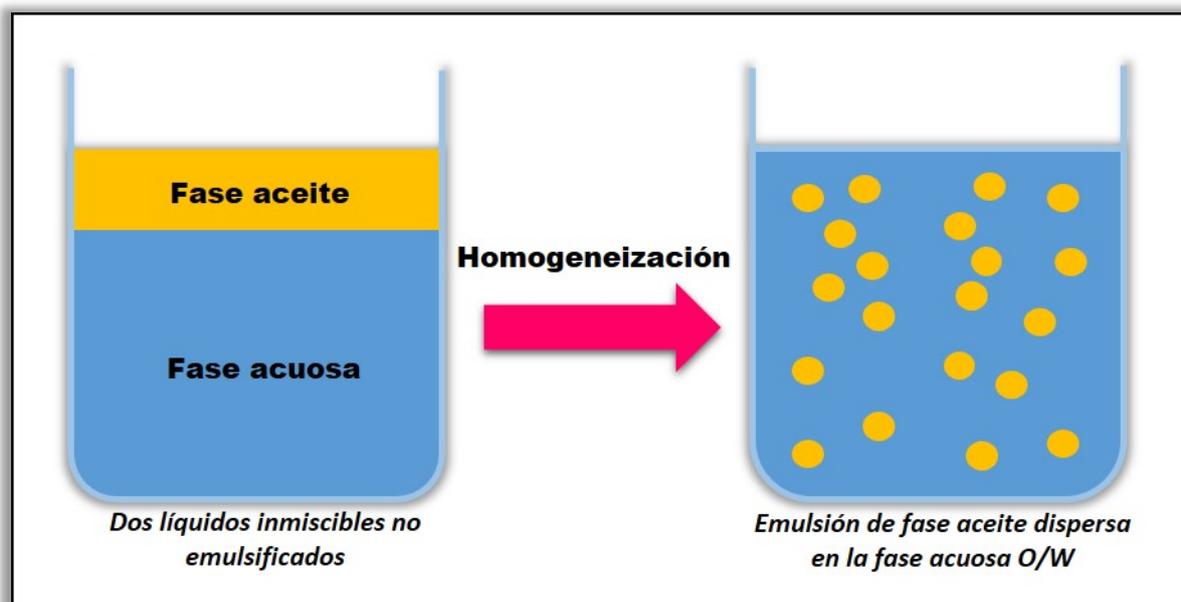


Figura 3.5. Formación de emulsiones.

#### 3.2.4.1 Agentes emulsionantes y espesantes

Las emulsiones son termodinámicamente inestables y, para retardar su desestabilización, es muy común la incorporación de dos clases de agentes: emulsionantes y/o agentes espesantes (o estabilizantes). Los agentes emulsionantes son sustancias anfífilas de bajo peso molecular (monoglicéridos, polisorbatos, lecitina, etc.) (Dickinson, 1992; Krog y Sparso, 2004) que disminuyen rápidamente la tensión interfacial entre la fase aceite y la fase acuosa, se unen fuertemente a la interfaz, protegiendo a las gotas formadas de fenómenos de desestabilización y previniendo la separación de la emulsión; logrando así, en el proceso de homogeneización, la ruptura de una de las fases para la formación de gotas mientras la otra fase fluye alrededor de las mismas. De esta manera, el líquido con la mayor tensión superficial tenderá a formar la fase dispersa, mientras que el de menor formará la fase continua de la emulsión (Dickinson, 2009; Vaclavik y Christian, 2008).

Los agentes espesantes o estabilizantes son en su mayoría polisacáridos, los cuales son predominantemente hidrofílicos y no presentan una actividad superficial significativa (BeMiller y Whistler, 1996); sin embargo, poseen la habilidad de incrementar la viscosidad de la fase continua de la emulsión, modificando su textura y confiriéndole una estabilidad a largo plazo (Dickinson, 2003). Los polisacáridos más ampliamente usados como agentes estabilizantes en alimentos son goma arábica, almidones modificados, celulosas modificadas, algunas clases de pectina y algunos galactomananos (Dickinson, 2009).

### **3.2.5 Estabilidad fisicoquímica de emulsiones**

Como ya se ha indicado en la sección 3.2.3.1, las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables desde el punto de vista fisicoquímico y en función de su estabilidad cinética, tienden a separarse en dos fases inmiscibles (Comas et al., 2006; Saether et al., 2004). Dada la complejidad y variabilidad de estos sistemas, la mayoría de los problemas en la tecnología de las emulsiones están relacionados con su estabilización y desestabilización. Por esta razón, es necesario comprender detalladamente estos mecanismos para conducir a avances significativos que logren resultados tecnológicamente aplicables (Saether et al., 2004).

La estabilidad de una emulsión hace referencia a la habilidad que tiene la misma para resistir cambios en sus propiedades a través del tiempo, de tal manera que si dichas propiedades cambian más lentamente, más estable es la emulsión (McClements, 1999). Algunos factores como el agente emulsionante, el tamaño de partícula o gota, cambios de pH o fuerzas iónicas, viscosidad, adición de estabilizantes, procesos de calentamiento y enfriamiento, almacenamiento y

manipulación de las emulsiones, afectan la estabilidad de las mismas (Vaclavik y Christian, 2008).

Los procesos de desestabilización o inestabilidad pueden ser físicos o químicos. La inestabilidad física resulta en una alteración en la distribución espacial u organización estructural de las moléculas, mientras que la química, implica una alteración en la estructura química de las moléculas (McClements, 1999). Dichos procesos pueden ser explicados teniendo en cuenta cómo las moléculas interactúan entre sí para formar una variedad de arreglos estructurales. Cada molécula individual dentro de una emulsión puede estar rodeada por moléculas del mismo tipo, de un tipo diferente o por contraiones, puede acumularse en una interfase entre dos fases o puede ser parte de un agregado molecular disperso en otra fase (Israelachvili, 2011).

### **3.2.5.1 Interacciones moleculares en emulsiones**

Factores como la naturaleza de las materias primas, condiciones en el método de elaboración y su posterior manipulación en el almacenamiento, influyen en la organización estructural de las moléculas en las emulsiones y por lo tanto en su estabilidad. A fin de entender y predecir los comportamientos de desestabilización en las emulsiones resulta necesario conocer el origen y la naturaleza de las fuerzas moleculares que son responsables de mantener las moléculas juntas y cómo estas fuerzas actúan orientando varios tipos de estructuras en las emulsiones. Según Israelachvili (2011) los cuatro tipos de fuerzas principales que actúan a nivel molecular son:

⊙ ***Interacciones covalentes:***

Estas interacciones se encuentran relacionadas con reacciones químicas y bioquímicas que ocurren durante el procesamiento y almacenamiento de los alimentos, las cuales implican la ruptura y formación de enlaces covalentes (Fennema, 1996). Dichas reacciones están influenciadas por el ambiente físico de las moléculas, siendo algunas de ellas de carácter benéfico para la calidad del producto, mientras que otras alteran notablemente propiedades globales (fisicoquímicas y organolépticas) del sistema, resultando en alteraciones en su estructura química (McClements, 1999).

⊙ ***Interacciones electrostáticas:***

Ocurren entre especies moleculares que tienen una carga eléctrica permanente, tales como iones y moléculas polares. Los iones poseen una carga positiva o negativa y las moléculas polares poseen un dipolo eléctrico. Estas interacciones tienen un papel muy importante en las propiedades de las emulsiones porque muchos de sus componentes son iónicos o dipolares (agua, azúcares, sales, proteínas, polisacáridos, surfactantes, ácidos y bases) (Fennema, 1996).

⊙ ***Interacciones de Van der Waals:***

Son las fuerzas atractivas o repulsivas entre moléculas y actúan entre todo tipo de especies moleculares, ya sean iónicas, polares o no polares (Israelachvili, 2011). Estas fuerzas son aditivas y dependen del radio de las partículas, de su material, de la distancia y el fluido entre ellas (Walstra, 1996).

© **Interacciones estéricas:**

Son fuerzas repulsivas que se generan cuando dos moléculas, que contienen especies adsorbidas en su superficie, se acercan o entran en contacto (debido al movimiento browniano) y sus electrones se superponen. Esta repulsión se incrementa rápidamente cuando la separación entre ellas es menor que la suma de sus radios (Das y Kinsella, 1990), provocando alejamiento de las moléculas y contribuyendo a la estabilización.

### **3.2.5.2 Fenómenos de desestabilización**

Fenómenos como sedimentación, cremado, floculación, coalescencia, inversión de fases y maduración de Ostwald son ejemplos de inestabilidad física (Guo et al., 2014; McClements, 1999; Robins, 2000; Rousseau, 2000) (Figura 3.6), mientras que la oxidación y la hidrólisis son ejemplos comunes de inestabilidad química (Fennema, 1996). En la práctica, comúnmente, se evidencia el acoplamiento de varios de estos fenómenos, cuyo conocimiento e identificación contribuye significativamente al control y mejoramiento de la estabilidad de las emulsiones (McClements, 1999).

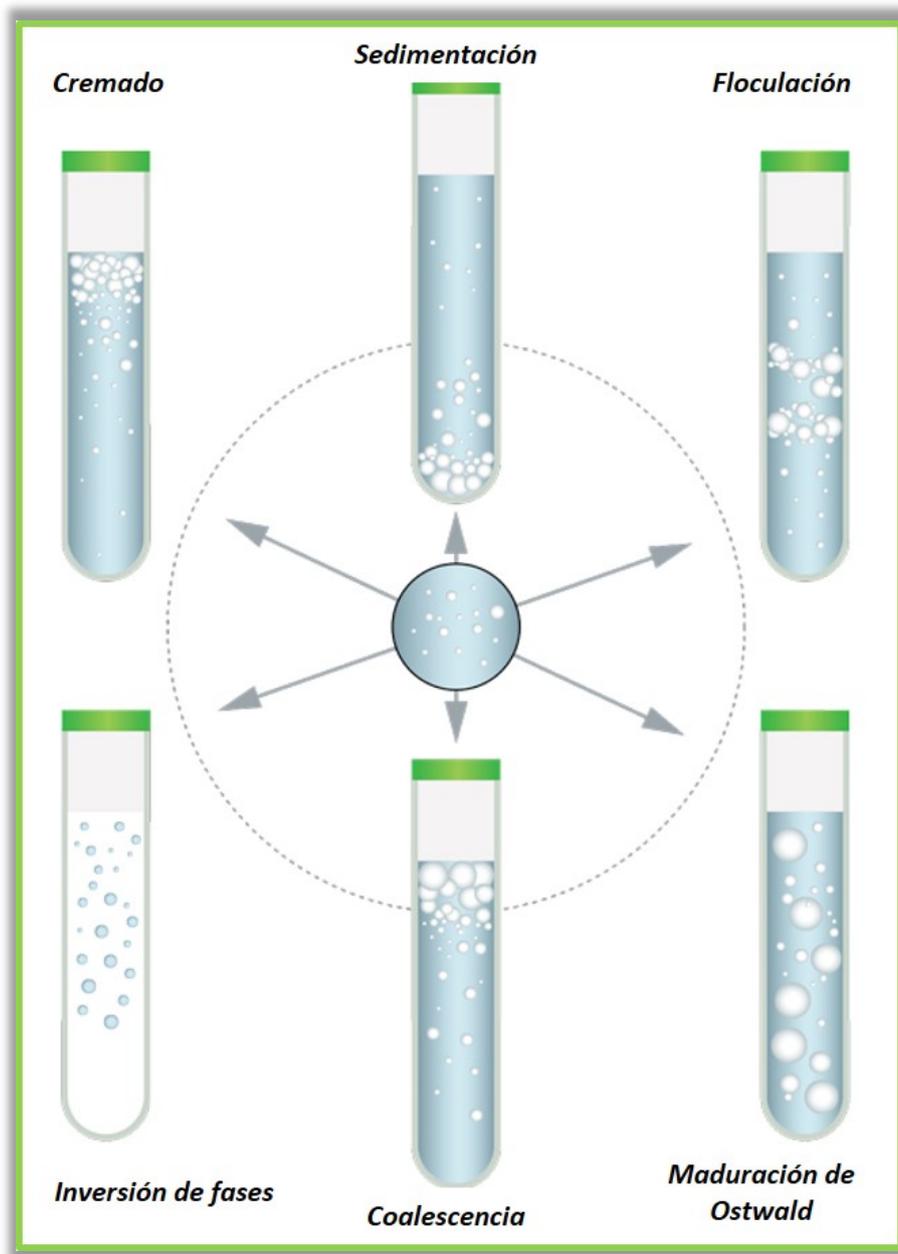
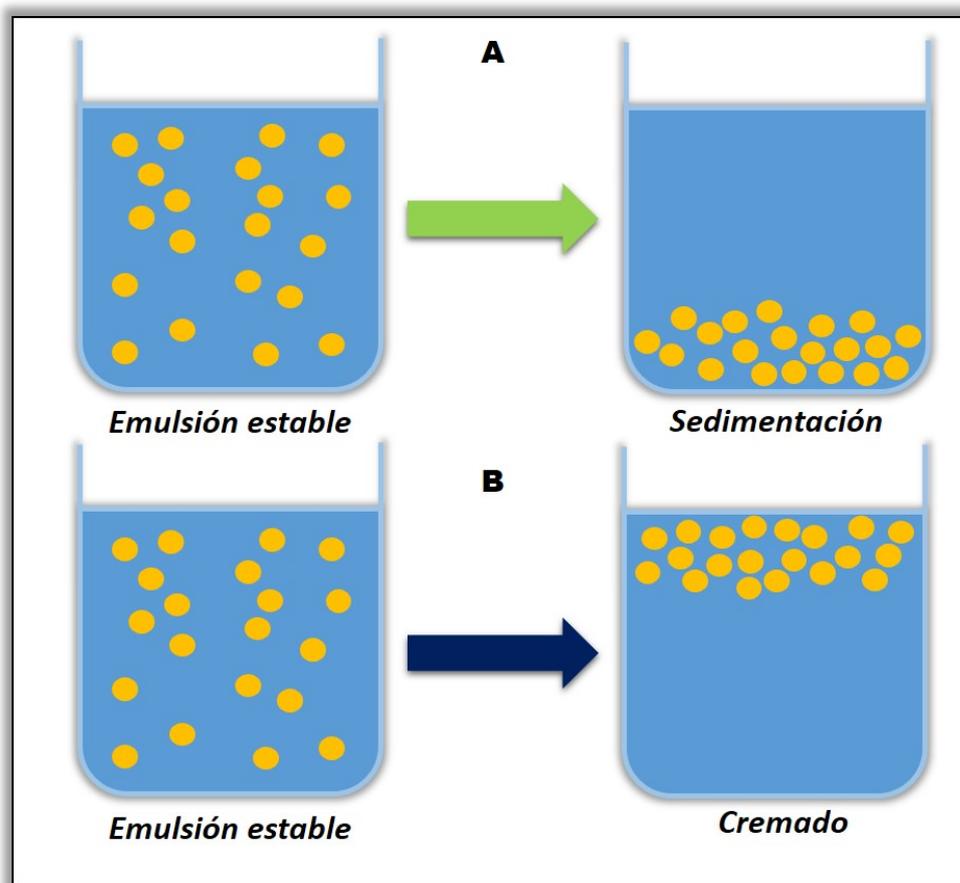


Figura 3.6. Fenómenos de destabilización de emulsiones.

### 3.2.5.2.1 Sedimentación y Cremado

Sedimentación y cremado son fenómenos físicos reversibles que implican la migración de las partículas o gotas (Comas et al., 2006; Pan et al., 2002) debido a la diferencia de densidades entre las fases y a la fuerza gravitacional. Cuando la densidad de la fase dispersa es mayor que la densidad de la fase continua, las partículas tienden a moverse hacia abajo, lo cual es conocido como *sedimentación*

(Robins, 2000) (Figura 3.7 A). Por el contrario, si la densidad de las partículas o gotas es menor que la del líquido circundante, éstas tienden a moverse hacia arriba, es entonces que ocurre el fenómeno de *cremado* (Das y Kinsella, 1990) (Figura 3.7 B). En el ámbito alimentario, esta separación gravitacional en los productos es indeseable para el consumidor, viéndose afectados atributos como apariencia, textura, sabor y la sensación en la boca (McClements, 1999).



**Figura 3.7. A. Sedimentación. B. Cremado.**

### **3.2.5.2.2 Coalescencia y Floculación**

En las emulsiones, las partículas o gotas se encuentran en continuo movimiento, produciendo choques con partículas cercanas debido a efectos de energía térmica, gravedad y fuerzas mecánicas. Cuando se producen estos choques, las partículas pueden seguir agregadas o no, dependiendo de la magnitud de las fuerzas de atracción y repulsión, y a su vez de la distancia entre ellas (McClements, 1999; Rousseau, 2000). La floculación y coalescencia son dos tipos principales de agregación en las emulsiones, siendo fenómenos físicos irreversibles que incluyen cambios en el tamaño de la partícula o gota (Lemarchand et al., 2003; Pan et al., 2002).

En el mecanismo de *floculación*, dos o más partículas o gotas interactúan por fuerzas de atracción y se agregan sin perder su identidad (Figura 3.8 A); mientras que en el fenómeno de *coalescencia*, dos o más partículas o gotas se unen para formar una sola de mayor tamaño (Figura 3.8 B), causando cremado o sedimentación a mayor velocidad debido al incremento de su tamaño (Das y Kinsella, 1990; McClements, 1999). Para que ocurra la coalescencia debe superarse una barrera de energía inicial (Rousseau, 2000), induciéndose la rotura de una película delgada entre las partículas cercanas, de tal manera que si un orificio se forma, las gotas tienden rápidamente a fluir para unirse (Walstra, 1996).

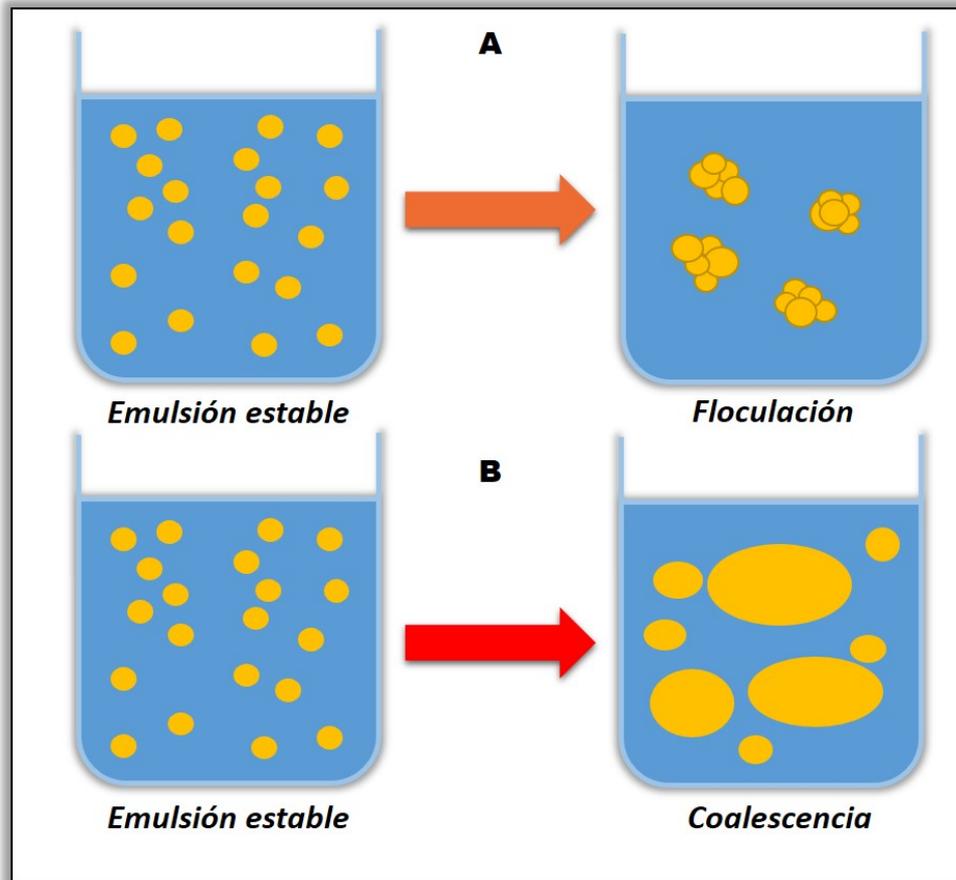
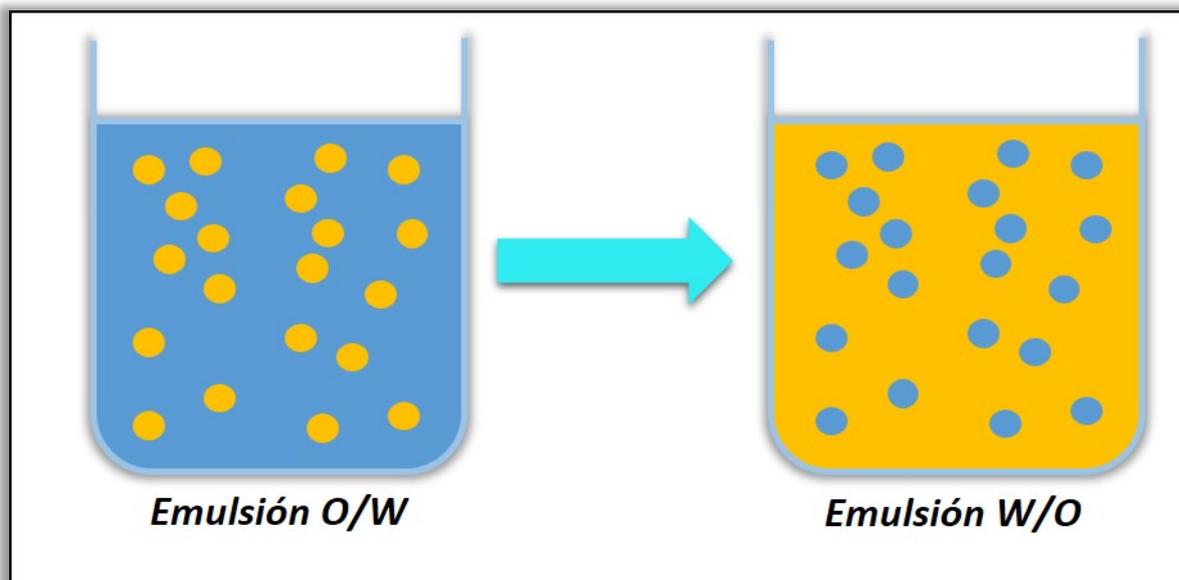


Figura 3.8. A. Flocculación. B. Coalescencia.

### 3.2.5.2.3 Inversión de fases

En este proceso el sistema cambia de una emulsión O/W a W/O o viceversa (Figura 3.9) siendo una etapa deseable en elaboración de productos como la manteca y margarina, mientras que para otros, es un proceso indeseable porque tiene efectos negativos en la apariencia, textura, estabilidad y sabor del producto final. Es un mecanismo complejo dado que implica aspectos de flocculación, coalescencia y formación de la emulsión. Se conoce como punto de balance al punto donde ocurre la inversión de las fases, el mismo supone estados coloidales intermedios dado que puede tener regiones donde predominen emulsiones O/W, W/O y emulsiones múltiples.

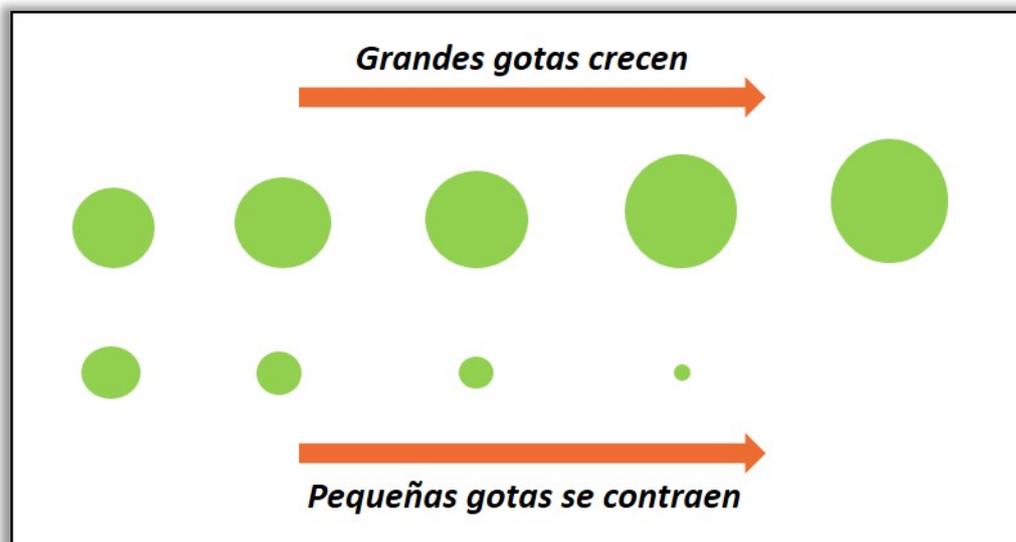


**Figura 3.9.** Fenómeno de inversión de fases.

#### **3.2.5.2.4 Maduración de Ostwald**

En este mecanismo, las gotas de mayor tamaño crecen a expensas de las más pequeñas (Figura 3.10), debido a una diferencia de la energía libre interfacial entre ellas que impulsa el transporte de masa del material disperso soluble a través del medio continuo (Das y Kinsella, 1990), resultando en la desaparición lenta de las gotas pequeñas con el tiempo. Desde el punto de vista de estabilidad, este proceso es casi siempre indeseable porque las gotas más grandes tendrán mayores velocidades de sedimentación o cremado (Schramm, 2006). En emulsiones O/W este fenómeno no es muy importante, porque los triglicéridos tienen muy poca solubilidad en agua y la velocidad de maduración es extremadamente lenta, pero incrementa a medida que las moléculas del lípido son más pequeñas y más polares en la emulsión (Walstra, 1987). Es decir, dicha velocidad puede controlarse reduciendo la solubilidad de la fase dispersa en la continua, con una distribución estrecha de tamaño de las gotas y disminuyendo la tensión interfacial entre éstas con el uso de agentes emulsionantes.

Este fenómeno es importante en alimentos congelados y emulsiones alimentarias que contienen aire disperso, tales como helado (Das y Kinsella, 1990).



**Figura 3.10.** Maduración de Ostwald.

### **3.2.5.3 Estabilidad en emulsiones formadoras de películas comestibles**

Las películas obtenidas a partir de emulsiones se ven afectadas por las características de la fase continua y dispersa, como son viscosidad, pH, fuerza iónica, tamaño y densidad de las partículas; estas propiedades inciden en gran medida sobre fenómenos de desestabilización, y también afectan la microestructura final de la matriz de las películas que define sus propiedades de barrera (Pérez-Gago y Krochta, 1999; Sánchez-González et al., 2009). Dichas propiedades son aportadas por componentes hidrofóbicos (lípidos) de la fase dispersa que deben estar distribuidos de manera homogénea en la matriz (Debeaufort y Voilley, 1995). Si una película se moldea a partir de una emulsión inestable, las dos fases pueden empezar a separarse durante el secado, creando un gradiente de concentración de lípidos a través del espesor de

la película, lo cual afecta la velocidad de transferencia de vapor de agua y por ende su permeabilidad (Shellhammer y Krochta, 1997).

La estabilidad de las emulsiones es una característica muy importante para determinar su eficiencia en la elaboración de películas comestibles, cuyas características finales son sensibles a la calidad y a las variaciones fisicoquímicas que ocurran en éstas. Los análisis de estabilidad y el conocimiento de fenómenos de desestabilización que se producen en las emulsiones permiten optimizar condiciones de proceso a fin de que dichos fenómenos no representen un inconveniente para la posterior aplicación comercial de las películas comestibles (Mellinas et al., 2016; Panchev et al., 2009; Pavlath y Orts, 2009).

#### **3.2.5.4 Reología de emulsiones como formadoras de películas comestibles**

En el campo alimentario, es posible relacionar las propiedades reológicas con atributos sensoriales específicos que permiten diseñar un producto con características requeridas por el consumidor. En el ámbito de procesos, el conocimiento del comportamiento reológico de los fluidos proporciona herramientas para el diseño de operaciones que involucran tuberías, procesos de agitación o empaque (McClements, 1999; Rao, 2005).

La reología de las emulsiones formadoras de películas comestibles es una manifestación directa de fuerzas de interacción que ocurren en el sistema (Tadros, 1994), variando con la concentración de sus componentes y convirtiéndose en una herramienta muy útil que brinda información acerca de su organización estructural (İbanoğlu, 2002). Una alteración en las propiedades reológicas de la fase continua

influye en la reología de toda la emulsión; por el contrario, la reología de la fase dispersa tiene una menor influencia en la emulsión debido a que las partículas o gotas están cubiertas por una membrana viscoelástica que les imparte propiedades similares a esferas rígidas (Tadros, 1994; Walstra, 1996)

Una vez formada la emulsión, el conocimiento de la reología de la misma es muy importante en la etapa de aplicación de ésta a los alimentos para la formación de la película. La elección o el diseño de la técnica de aplicación (ejemplo: inmersión, cepillado o pulverización) dependerá de las propiedades reológicas de las emulsiones (Chen et al., 2009), influyendo en la apariencia, uniformidad y presencia o ausencia de defectos en la película, que afectan las propiedades protectoras de la misma. Además, una alta viscosidad de las emulsiones puede dificultar el secado de las capas; mientras una baja viscosidad, por efecto de la gravedad, no brindaría una adecuada adherencia al producto (Peressini et al., 2003).

### **3.3 METODOLOGÍA**

#### **3.3.1 Materiales**

Para la elaboración de las emulsiones acuosas se usaron pectina cítrica de bajo metoxilo (GENU PECTIN tipo LM 104 AS) y ceras de girasol purificadas (CP1, CP2), las cuales fueron obtenidas a partir de las tortas de filtración del proceso de winterizado del aceite de girasol (Sección 2.3.2 Capítulo 2).

#### **3.3.2 Preparación de las emulsiones**

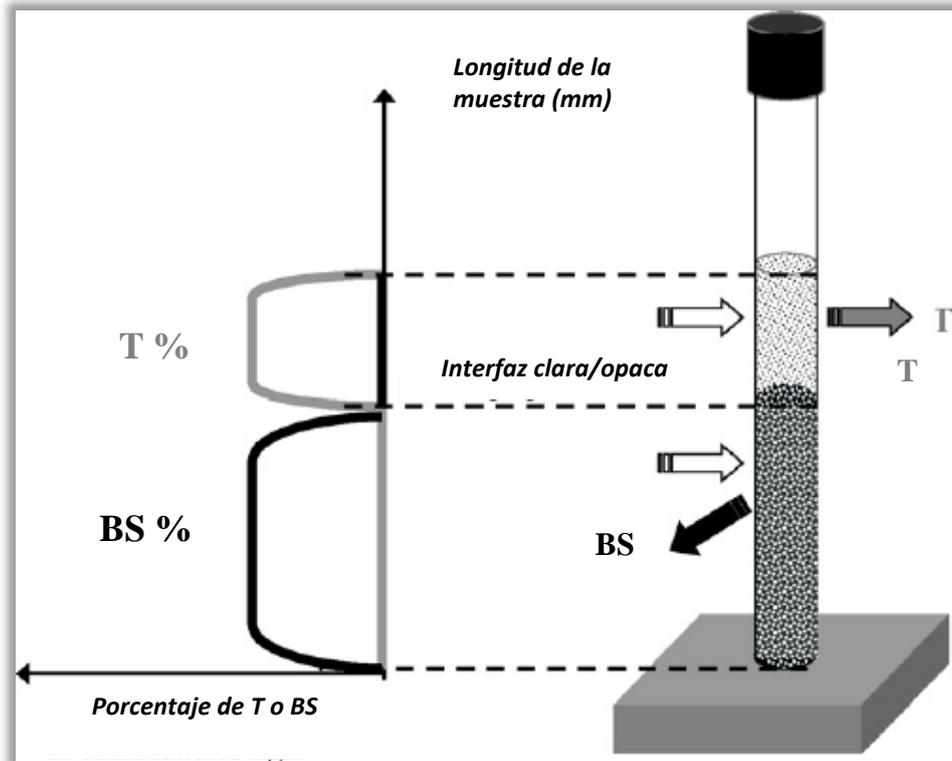
Las emulsiones fueron preparadas mediante hidratación de la pectina de bajo metoxilo en agua destilada en tres concentraciones: 1, 2 y 3% m/m, calentando a

85 °C (temperatura superior al punto de fusión de las ceras de girasol) en un baño de agua por 15 minutos hasta disolución completa de la pectina. Las ceras se añadieron en tres proporciones: 0,1, 0,2 y 0,3 g de ceras/g de pectina. Todas las muestras se homogenizaron por 10 minutos usando un Homogenizador Pro 200 (Pro Oxford Scientific Inc.) a 12000 rpm y manteniendo la temperatura a 85 °C para evitar la solidificación de las ceras. Se llamarán E1 y E2 a las emulsiones obtenidas con CP1 y CP2 respectivamente.

### **3.3.3 Caracterización de emulsiones**

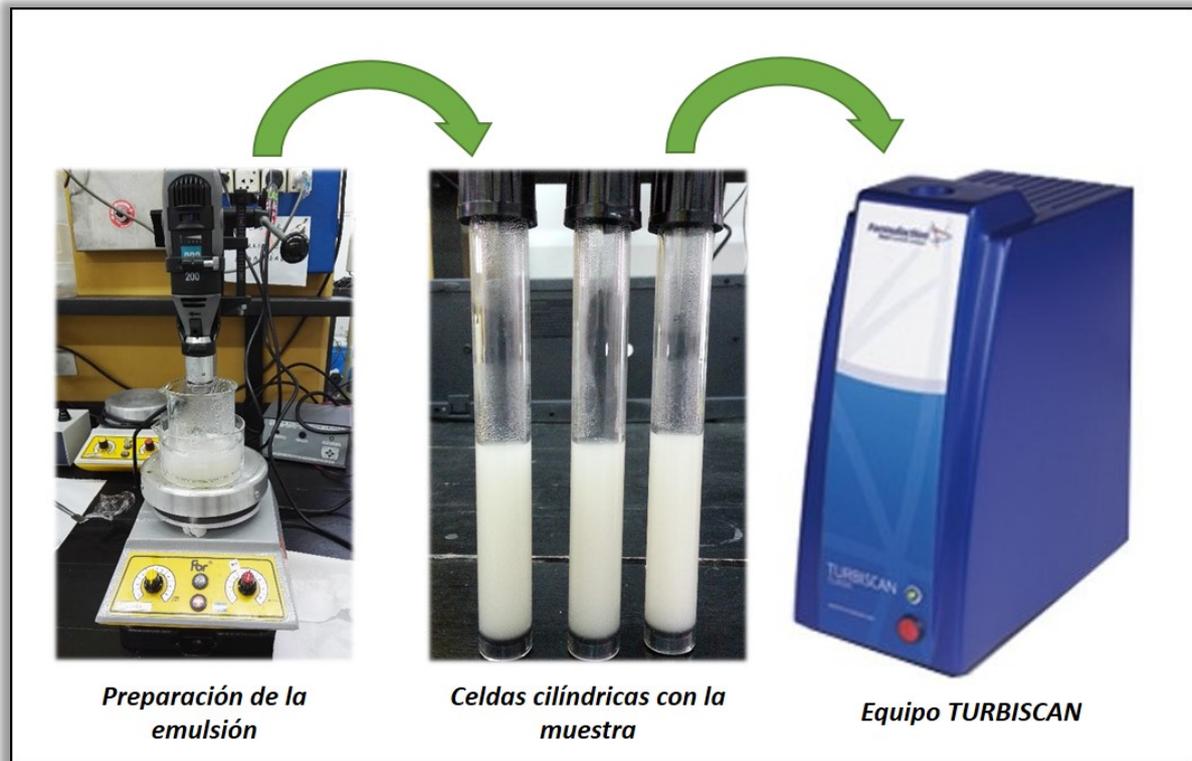
#### **3.3.3.1 Estabilidad fisicoquímica**

La estabilidad de las emulsiones fue monitoreada usando un TURBISCAN MA 2000 (Formulacion, Toulouse, France), que consta de un cabezal de detección que se mueve de arriba hacia abajo a lo largo de una celda cilíndrica de vidrio de fondo plano que contiene la muestra a analizar. El cabezal está compuesto por una fuente de luz pulsada cercana al infrarrojo (longitud de onda,  $\lambda = 850$  nm) y dos detectores sincrónicos. El detector de luz transmitida (T) recibe la luz que pasa a través de la muestra ( $0^\circ$  desde el haz incidente) mientras que el detector de luz retrodispersada o backscattering (BS) recibe la luz dispersada por la muestra a  $135^\circ$  desde el haz incidente. El cabezal explora toda la longitud de la muestra (aproximadamente 70 mm), adquiriendo datos de T y BS cada 40  $\mu\text{m}$  (Mengual et al., 1999) (Figura 3.11).



**Figura 3.11.** Principio de medición TURBISCAN MA 2000.

Después de la preparación de cada emulsión, aproximadamente 7 mL de la misma fueron colocados dentro de una celda a temperatura ambiente (Figura 3.12). Se adquirieron datos de T y BS cada 40  $\mu\text{m}$  hasta una altura máxima de 70 mm. Por la opacidad de las muestras se utilizó el detector BS. Los perfiles obtenidos muestran una curva que representa el porcentaje de luz BS o T en función de la altura de la muestra en la celda en mm. Cuanto mayor sea el valor de %BS, también lo es la cantidad de luz dispersada por las partículas y la turbidez de la muestra. Las mediciones a lo largo de las celdas cilíndricas fueron repetidas aproximadamente cada 15 minutos durante las dos primeras horas de preparada la emulsión, después a intervalos de tiempo más extendidos (45 minutos, 1 hora, una vez al día) hasta completar aproximadamente 42 días (1008 horas). Las celdas fueron preparadas por triplicado.



**Figura 3.12.** Elaboración de emulsiones y su disposición en Equipo TURBISCAN.

### **3.3.3.2 Cinéticas de desestabilización**

Utilizando el equipo TURBISCAN MA 2000, también fue posible evaluar la cinética de desestabilización de los fenómenos involucrados en las emulsiones. En el caso de los procesos que implican migración de las partículas, donde los perfiles muestran picos positivos o negativos de %BS (sedimentación y cremado), la cinética se evaluó midiendo el espesor del pico (peak thickness) al 50% de la altura a diferentes tiempos en la zona de estudio; mientras que para los fenómenos que implican variación de tamaño de las partículas (coalescencia o floculación), la cinética fue medida teniendo en cuenta el cambio de los valores medios %BS en función del tiempo (Herrera, 2012).

### **3.3.3.3 Reología de las emulsiones**

Se determinaron las características reológicas de las emulsiones y de emulsiones control (sin ceras de girasol) mediante un reómetro de esfuerzo controlado Anton Paar Physica MCR 301 con una geometría de cilindros concéntricos (Diámetro del rotor = 26,658 mm, altura del rotor = 40,000 mm, diámetro del vaso = 28,920 mm, volumen de muestra = 13 mL). Los ensayos fueron realizados a 25 °C sin esfuerzo previo. El rango de velocidad de deformación usada fue 0,1 - 100 s<sup>-1</sup>.

### **3.3.3.4 Distribución del tamaño de partícula**

El tamaño medio de las partículas en las emulsiones se obtuvo a través de un analizador por difracción láser HORIBA LA-950 V2. El tamaño medio fue expresado como el diámetro medio en volumen. La amplitud de la distribución o índice de dispersión (Span = S) permitió tener una medida del grado de dispersión de los datos alrededor de la media e independientemente del tamaño medio. Este parámetro fue calculado como (Palazolo et al., 2004):

$$S = \frac{d(v,0,9) - d(v,0,1)}{d(v,0,5)} \quad (\text{Ec. 3.1})$$

Donde  $d(v, 0, 9)$  y  $d(v, 0, 1)$  son los percentiles de volumen de 90 y 10% de la distribución de tamaño, mientras que  $d(v, 0, 5)$  es el percentil de volumen del 50%, conocido también como la mediana de la distribución.

### **3.3.3.5 Microscopía Láser Confocal**

Las muestras fueron observadas usando un microscopio láser confocal espectral Leica modelo TCS SP2 equipado con tres líneas láser (480, 543 y 633 nm)

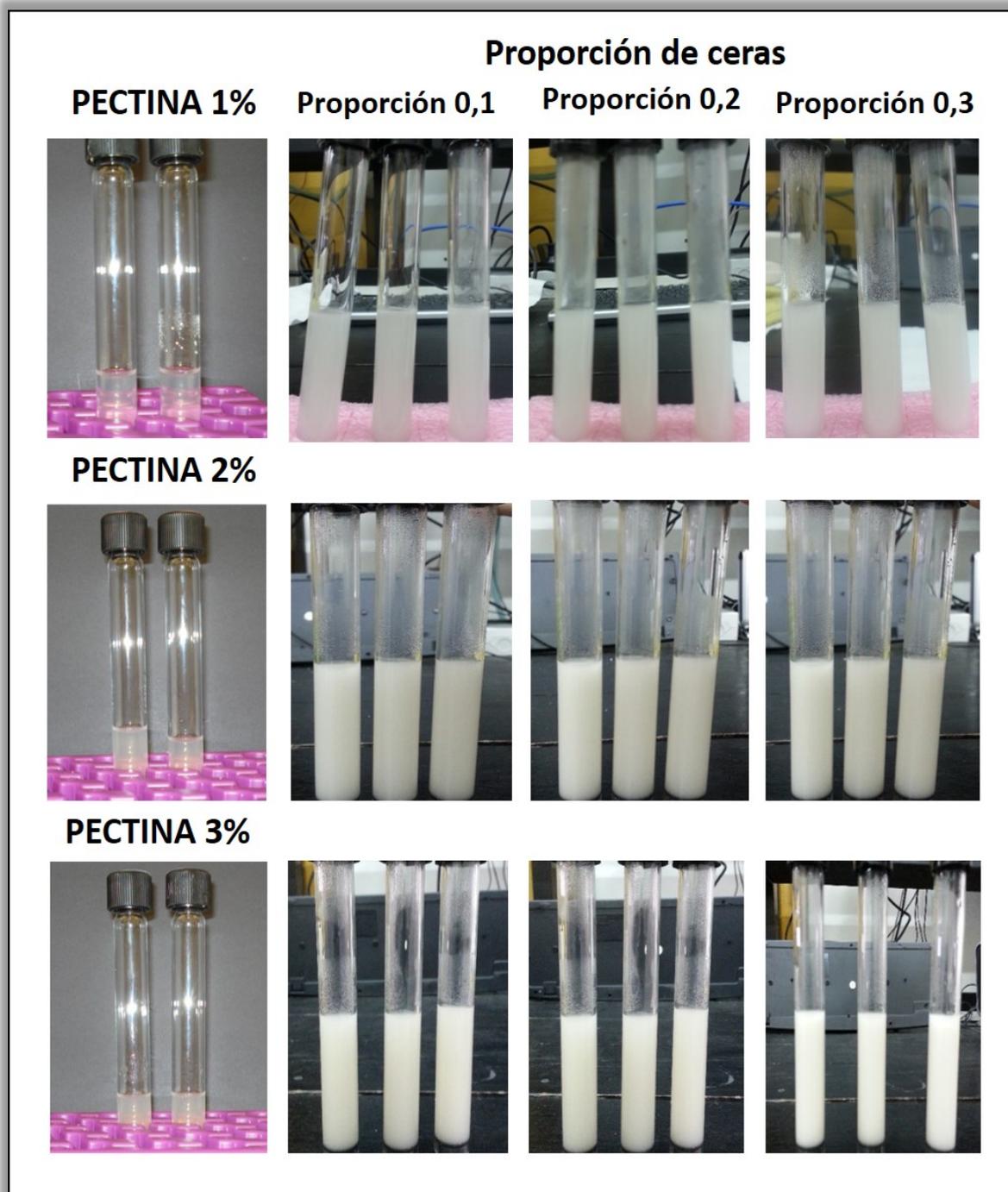
y configurado con un microscopio estativo invertido DM IRE2 que consta de un lente objetivo HCX PL APO 63x 1.2w CORR y una velocidad de escaneo de 400 Hz. El láser usado fue el de He/Ne a 543 nm, obteniéndose imágenes 2D con un formato de 1024 x 1024 pixeles mediante software Leica Confocal (LCS, Leica Microsystems). Durante la preparación de las muestras se incorporó el marcador Rojo Nilo, el cual facilitó la observación de sustancias lipídicas.

### **3.3.3.6 Análisis estadísticos**

Las diferencias significativas se analizaron realizando ANOVA de dos vías y Test de Fisher ( $\alpha = 0,05$ ), teniendo como factores el contenido de ceras de girasol y el contenido de pectina, y usando el software para análisis estadístico InfoStat versión 2011 (Di Rienzo et al., 2011).

## **3.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Las emulsiones obtenidas, E1 y E2, fueron opacas debido a la presencia de ceras, siendo esta característica más evidente a medida que su contenido aumentó. En la Figura 3.13 se muestran las emulsiones contenidas en las celdas cilíndricas para análisis de estabilidad.



**Figura 3.13.** Emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol.

### 3.4.1 Análisis de tamaño de partícula

Las distribuciones de tamaño de partícula de todas las emulsiones fueron normal logarítmicas, como se puede observar en la Figura 3.14.

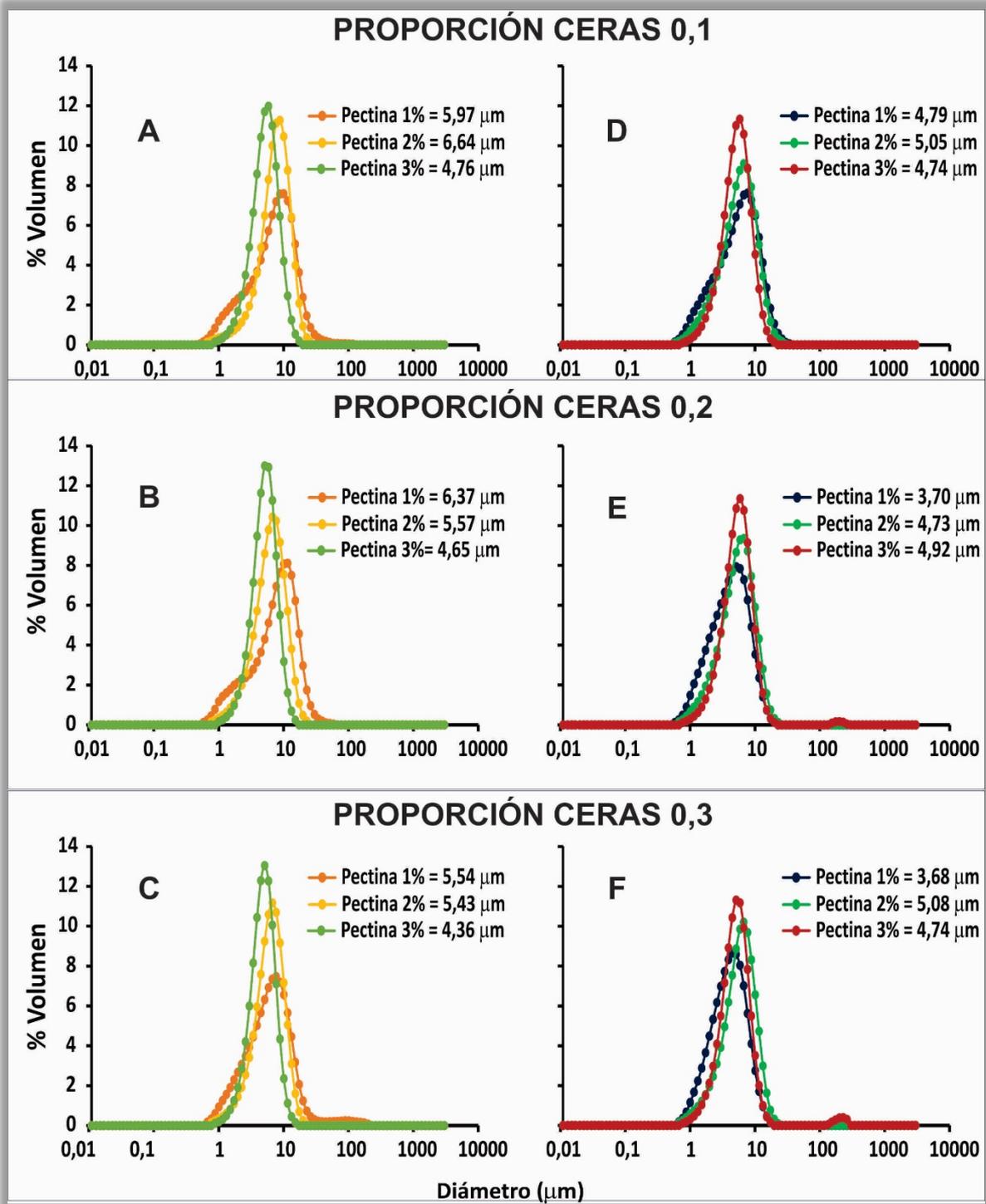


Figura 3.14. Distribución de tamaño de partícula con valores medios. E1: A); B), C). E2: D), E), F).

En estas distribuciones la media geométrica se considera como la posición más representativa de la población. En la Tabla 3.2 se muestra la media geométrica de los diámetros de partícula de las emulsiones E1 y E2. Los valores estuvieron entre los rangos de 4,36 - 6,64  $\mu\text{m}$  para E1 y 3,68 - 5,08  $\mu\text{m}$  para E2.

**Tabla 3.2.** Media geométrica ( $\mu\text{m}$ ) y desviación estándar de la media geométrica ( $\mu\text{m}$ ) del tamaño de partícula en emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol E1 y E2.

	Pectina (% m/m)	Proporción de ceras (g ceras/g pectina)		
		0,1	0,2	0,3
E1	1	5,97 $\pm$ 0,28 <sup>b, B</sup>	6,37 $\pm$ 0,08 <sup>c, C</sup>	5,54 $\pm$ 0,04 <sup>a, C</sup>
	2	6,64 $\pm$ 0,06 <sup>c, C</sup>	5,57 $\pm$ 0,01 <sup>b, B</sup>	5,43 $\pm$ 0,01 <sup>a, B</sup>
	3	4,76 $\pm$ 0,03 <sup>c, A</sup>	4,65 $\pm$ 0,05 <sup>b, A</sup>	4,36 $\pm$ 0,03 <sup>a, A</sup>
E2	1	4,77 $\pm$ 0,04 <sup>b, A</sup>	3,70 $\pm$ 0,02 <sup>a, A</sup>	3,68 $\pm$ 0,08 <sup>a, A</sup>
	2	5,05 $\pm$ 0,02 <sup>b, B</sup>	4,73 $\pm$ 0,06 <sup>a, B</sup>	5,08 $\pm$ 0,06 <sup>b, C</sup>
	3	4,74 $\pm$ 0,02 <sup>a, A</sup>	4,92 $\pm$ 0,03 <sup>b, C</sup>	4,74 $\pm$ 0,03 <sup>a, B</sup>

Valores medios  $\pm$  desviación estándar, n = 3. Valores en la misma fila seguidas por diferentes letras en minúscula (efecto adición de ceras) son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) por el Test de Fisher. Valores en la misma columna seguidas por diferentes letras en mayúscula (efecto adición de pectina) son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) por el Test de Fisher.

El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA doble, observándose, en los dos tipos de emulsiones, interacción entre los factores ( $p \ll 0,01$ ), por lo cual el análisis fue particionado. Para las emulsiones E1, el incremento en el contenido de pectina de 2% a 3% (Tabla 3.2, ver columnas letras mayúsculas) en todas las proporciones de ceras resultó en valores más bajos de diámetro medio de partícula, indicando que una mayor cantidad de pectina en las emulsiones contribuyó a la estabilización de las partículas sin la formación de agregados; este hecho fue menos evidente al considerar este parámetro en las emulsiones E2, observándose incluso un

leve incremento en el diámetro medio geométrico con el contenido de pectina cuando la proporción de ceras fue de 0,2 g cera/g pectina. Al considerar el efecto del incremento de pectina del 1 al 2%, en E1 y E2 no se observa un comportamiento uniforme en la variación del tamaño de partícula. Este hecho puede deberse a que el valor de la media de una población se ve afectada por el grado de dispersión de los datos. Como se observa en la Figura 3.14 y Tabla 3.3 que presenta datos de Span o amplitud de las distribuciones, el grado de dispersión en muestras con 1% m/m de pectina es mayor.

Considerando el efecto de la adición de ceras de girasol en las emulsiones E1 y E2 (Tabla 3.2, ver filas, letras minúsculas), se observa diferencias significativas entre los valores medios del tamaño de partícula de las muestras ( $p \ll 0,01$ ). En E1 se evidencia una disminución de los valores medios con el agregado de ceras especialmente en los niveles de pectina de 2 y 3%; mientras que en E2 no se observó una tendencia definida.

En la Figura 3.14, se observa que, tanto en E1 como en E2, a medida que el contenido de pectina incrementó, las distribuciones fueron menos amplias y con mayor altura (mayor valor de porcentaje en volumen), lo cual indicó la existencia de menores dispersiones. Dicho comportamiento se confirma con la reducción significativa ( $p \ll 0,01$ ) de los valores de Span o amplitud de la distribución (Tabla 3.3), los cuales muestran un menor grado de dispersión de los datos cuando la cantidad de pectina fue mayor. Este hecho indica que las emulsiones elaboradas con 2 y 3% m/m de pectina, contienen mayor cantidad de partículas en un rango de tamaño más reducido comparado con el obtenido en emulsiones con 1% m/m de pectina. El efecto del

agregado de ceras en los valores de Span fue muy variado sin causar un comportamiento específico.

**Tabla 3.3.** Span (S) o amplitud del tamaño de partículas en emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol E1 y E2.

	Pectina (% m/m)	Proporción de ceras (g ceras/g pectina)		
		0,1	0,2	0,3
E1	1	1,98 ± 0,08 <sup>ab, B</sup>	1,86 ± 0,03 <sup>a, C</sup>	2,04 ± 0,05 <sup>b, C</sup>
	2	1,30 ± 0,01 <sup>a, A</sup>	1,41 ± 0,01 <sup>c, B</sup>	1,32 ± 0,01 <sup>b, B</sup>
	3	1,22 ± 0,01 <sup>b, A</sup>	1,10 ± 0,02 <sup>a, A</sup>	1,12 ± 0,01 <sup>a, A</sup>
E2	1	1,97 ± 0,07 <sup>c, C</sup>	1,85 ± 0,08 <sup>b, C</sup>	1,63 ± 0,02 <sup>a, C</sup>
	2	1,68 ± 0,06 <sup>c, B</sup>	1,54 ± 0,03 <sup>b, B</sup>	1,48 ± 0,04 <sup>a, B</sup>
	3	1,29 ± 0,01 <sup>a, A</sup>	1,30 ± 0,01 <sup>ab, A</sup>	1,31 ± 0,01 <sup>b, A</sup>

Valores medios ± desviación estándar, n = 3. Valores en la misma fila seguidas por diferentes letras en minúscula (efecto adición de ceras) son significativamente diferentes (p<0,05) por el Test de Fisher. Valores en la misma columna seguidas por diferentes letras en mayúscula (efecto adición de pectina) son significativamente diferentes (p<0,05) por el Test de Fisher.

Los análisis anteriores realizados sobre las distribuciones obtenidas permiten destacar el importante papel estabilizador de la pectina en las emulsiones, influyendo en el tamaño medio de las partículas y en su uniformidad. Lo anterior está de acuerdo con el modelo propuesto por Leroux et al. (2003), que explica el poder estabilizante de las moléculas de pectina, rodeando las partículas lipídicas y causando inhibición de la nucleación y, por lo tanto, la disminución del tamaño de las partículas (Baümler et al., 2013).

El análisis de tamaño de partícula en las emulsiones es punto de partida muy importante para la elaboración de películas comestibles, dado que el contenido de partículas lipídicas dispersas uniformemente en el sistema influye en la reducción de

la transferencia de agua en el recubrimiento. Estudios realizados por Pérez-Gago y Krochta (2001) muestran una correlación lineal entre la disminución en el tamaño de partícula de la emulsión y una reducción en la permeabilidad de agua de las películas elaboradas con proteínas de suero y cera de abejas.

### **3.4.2 Estabilidad fisicoquímica y cinéticas de desestabilización**

Las Figuras 3.15 y 3.16 muestran los perfiles de %BS en función de la altura de la muestra (mm) correspondientes a las emulsiones E1 y E2, respectivamente. Los perfiles de estabilidad obtenidos en todas las emulsiones E1 y E2, mostraron el acoplamiento de tres fenómenos principales de desestabilización: sedimentación, coalescencia y cremado. También fue posible analizar el nivel de clarificación en las muestras, que aunque no es catalogado como un fenómeno de desestabilización en sí, es una consecuencia de la migración de las partículas.

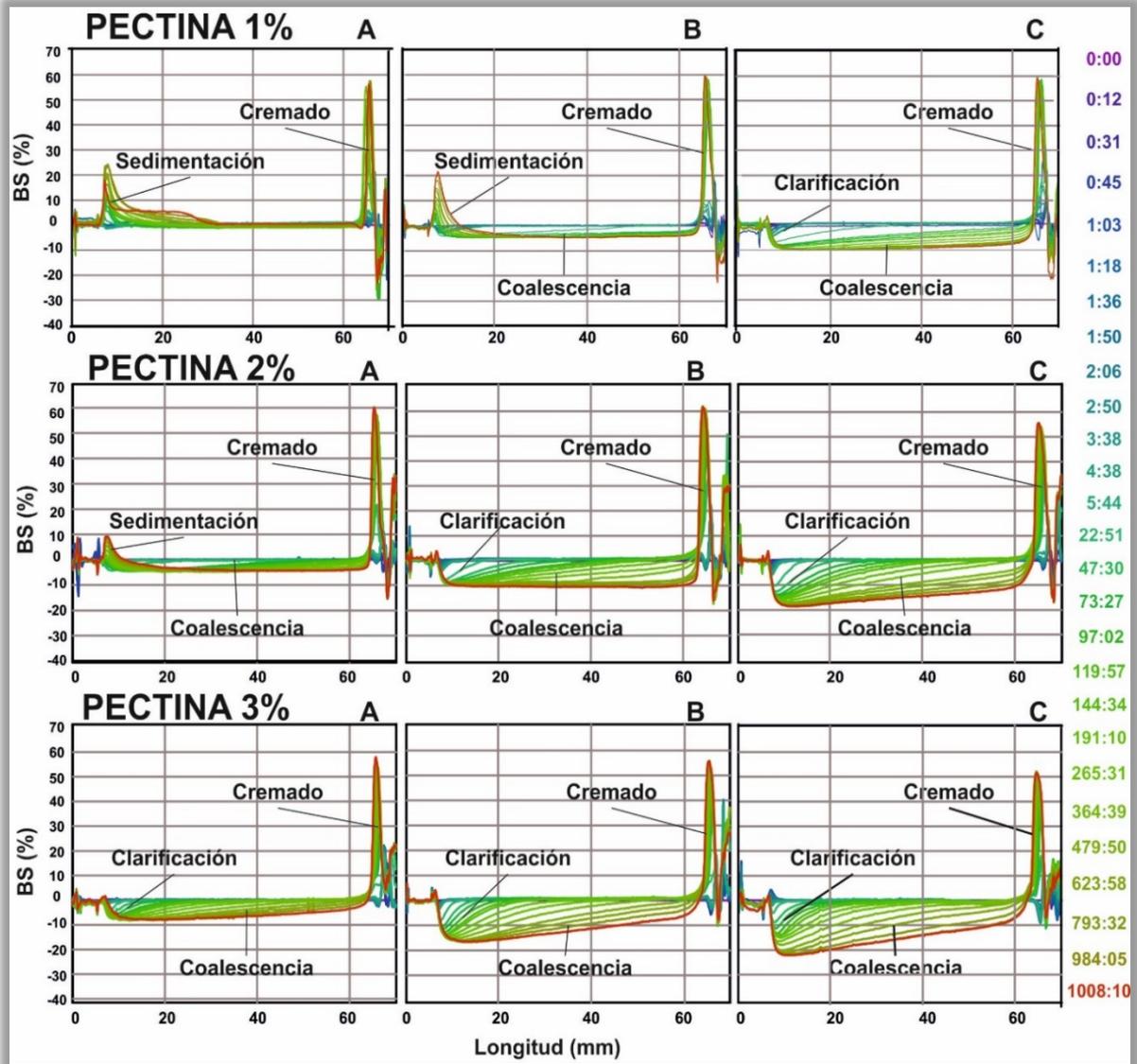


Figura 3.15. E1. Perfiles %BS. Proporción ceras de girasol A) 0,1 B) 0,2 C) 0,3. Escala de tiempo en horas.

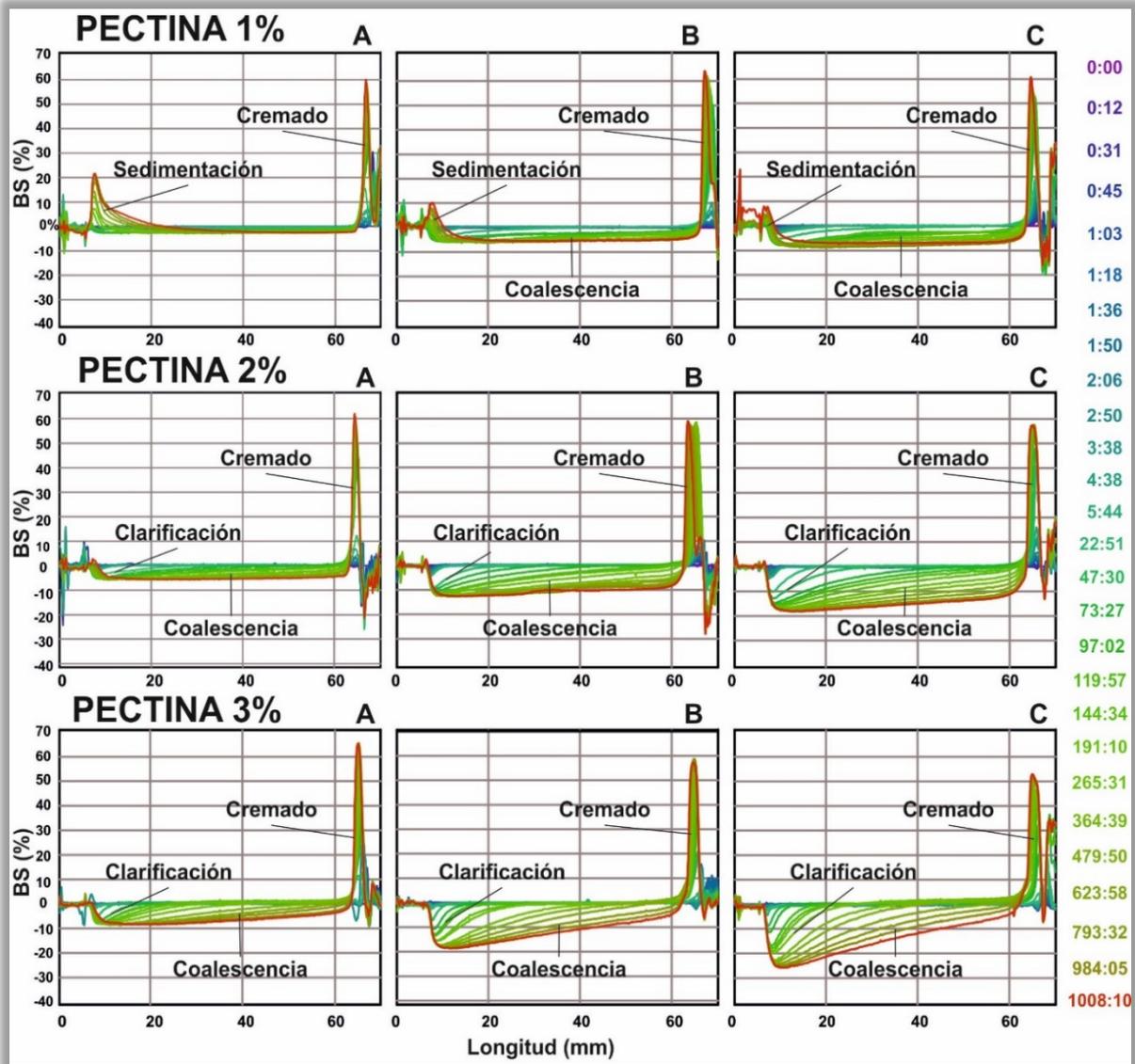


Figura 3.16. E2. Perfiles %BS. Proporción ceras de girasol **A)** 0,1 **B)** 0,2 **C)** 0,3.  
Escala de tiempo en horas.

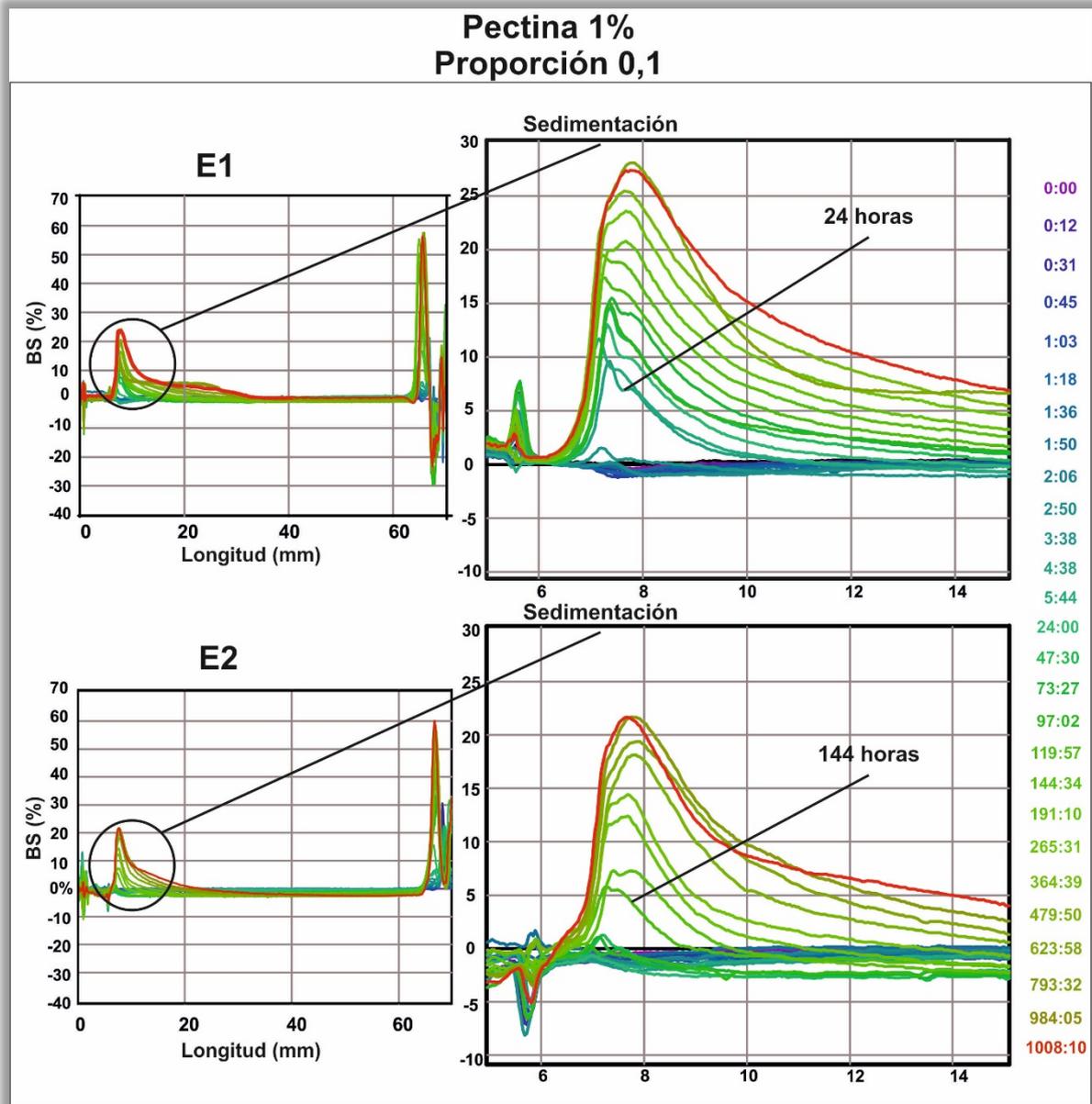
De acuerdo con los resultados y para un mejor análisis de ellos, los perfiles fueron divididos en tres zonas en función de la longitud de la muestra en el tubo y de los fenómenos de desestabilización encontrados (Tabla 3.4). Una vez identificadas las zonas de estudio y los fenómenos en cada una de ellas, fue posible analizar también su cinética de desestabilización, evaluando el efecto de la adición de ceras de girasol y del contenido de pectina en la estabilidad fisicoquímica de las emulsiones E1 y E2.

**Tabla 3.4.** Zonas de estudio de estabilidad de emulsiones.

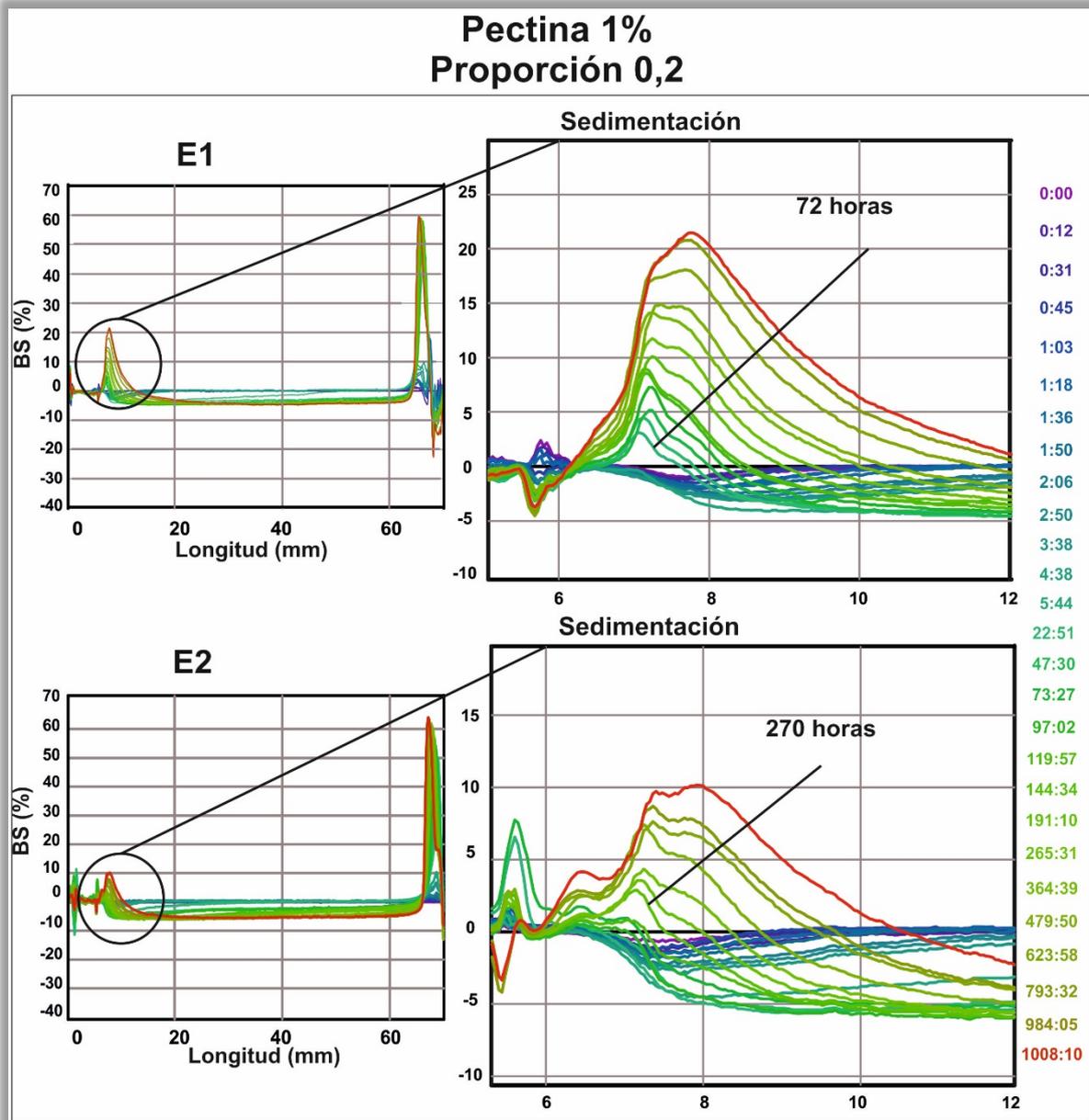
<b>Zona</b>	<b>Longitud de la muestra (mm)</b>	<b>Fenómeno analizado</b>
Zona 1	6 – 25	Sedimentación y clarificación
Zona 2	25 – 60	Coalescencia
Zona 3	60 – 67	Cremado

⊙ **Zona 1: Sedimentación y clarificación**

El fenómeno de sedimentación fue identificado principalmente en las emulsiones (E1 y E2) preparadas con 1% m/m de pectina (Figuras 3.15 y 3.16), observándose valores positivos de %BS, que fueron disminuyendo a medida que se incrementó la proporción de ceras de girasol, llegando a obtener valores positivos muy pequeños de %BS cuando la proporción de ceras fue 0,3, así como también valores negativos que indican la manifestación paulatina de clarificación en las muestras. En estos perfiles, para este mismo nivel de pectina (1% m/m) y proporciones de cera de 0,1 y 0,2, fue posible observar que los valores positivos de %BS en E1 y E2 surgen a diferentes tiempos, tomando lugar el fenómeno de sedimentación después de 24 y 72 horas en E1; mientras que para E2 comienza a registrarse a tiempos más grandes (144 – 270 horas). En las Figuras 3.17 y 3.18 se presenta una ampliación de la zona para observar los tiempos mencionados.



**Figura 3.17.** E1 y E2. Perfiles %BS. Ampliación zona de sedimentación Pectina 1%.  
Proporción ceras de girasol: 0,1. Escala de tiempo en horas.



**Figura 3.18.** E1 y E2. Perfiles %BS. Ampliación zona de sedimentación Pectina 1%.  
Proporción ceras de girasol: 0,2. Escala de tiempo en horas.

La diferencia de los tiempos de inicio de la sedimentación entre las dos emulsiones (E1 y E2) cuando el porcentaje de pectina fue de 1% m/m, puede deberse principalmente a que los valores medios de tamaño de partícula en E1 son mayores que E2 (Tabla 3.2), lo que produce que la velocidad de sedimentación sea mayor. Este hecho va de acuerdo a los planteado por la Ley de Stokes, donde la velocidad de

sedimentación es proporcional al cuadrado del tamaño de partícula (Ec. 3.2) (Mengual et al., 1999; Schramm, 2006).

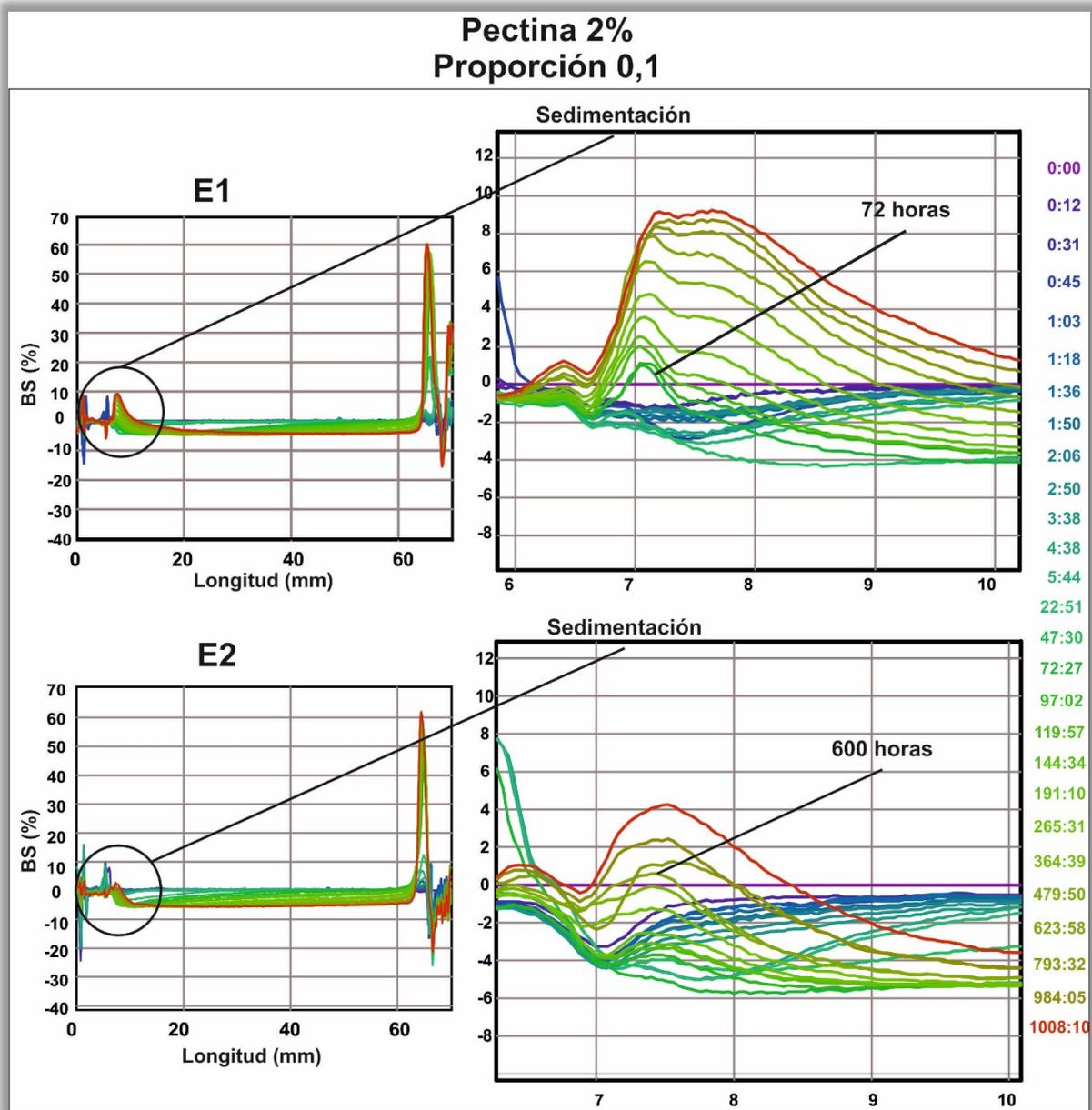
$$V_S = \frac{g(\rho_S - \rho)d^2}{18\mu} \quad (\text{Ec. 3.2})$$

Donde  $V_S$  es la velocidad de sedimentación,  $g$  es la gravedad,  $\rho_S$  es la densidad de las partículas o fase dispersa,  $\rho$  es la densidad de la fase continua,  $d$  es el diámetro de la partícula y  $\mu$  es la viscosidad del fluido.

La razón más importante en la reducción del fenómeno de sedimentación en las emulsiones asociado con el incremento en la cantidad de ceras de girasol, tiene su origen en la menor cercanía entre las partículas; de manera que a medida que las partículas de mayor tamaño migran hacia la parte superior, éstas chocan y se agregan con las de menor tamaño, produciéndose un movimiento hacia la parte superior (cremado) y no hacia la parte inferior (sedimentación) (McClements, 1999).

Cuando el porcentaje de pectina fue de 2% m/m y la proporción de ceras fue de 0,1, los perfiles de las emulsiones (Figuras 3.15 y 3.16) mostraron valores positivos de %BS, siendo más altos en E1, cuyo inicio se evidencia a aproximadamente 72 horas de medición; mientras que en E2, fueron más notorios a las 600 horas (Figura 3.19). Esta diferencia también se encuentra asociada a que la velocidad de sedimentación se relaciona de manera proporcional con el tamaño de las partículas (Ec. 3.2), cuyos valores medios son mayores para E1 (Tabla 3.2). Para este mismo porcentaje de pectina (2% m/m), cuando se incrementaron las proporciones de cera (0,2 y 0,3), los valores negativos de %BS indican una aparición paulatina del proceso

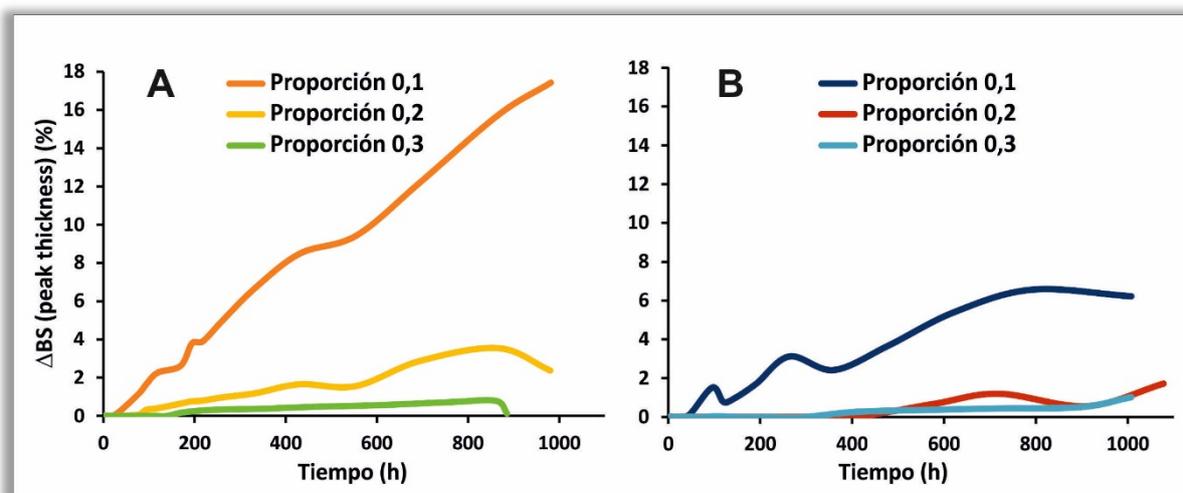
de clarificación, el cual se incrementa con el agregado de ceras. Dicho proceso también fue evidente en las emulsiones E1 y E2 elaboradas con 3% m/m de pectina.



**Figura 3.19.** E1 y E2. Perfiles %BS. Ampliación zona de sedimentación Pectina 2%.  
Proporción ceras de girasol: 0,1. Escala de tiempo en horas.

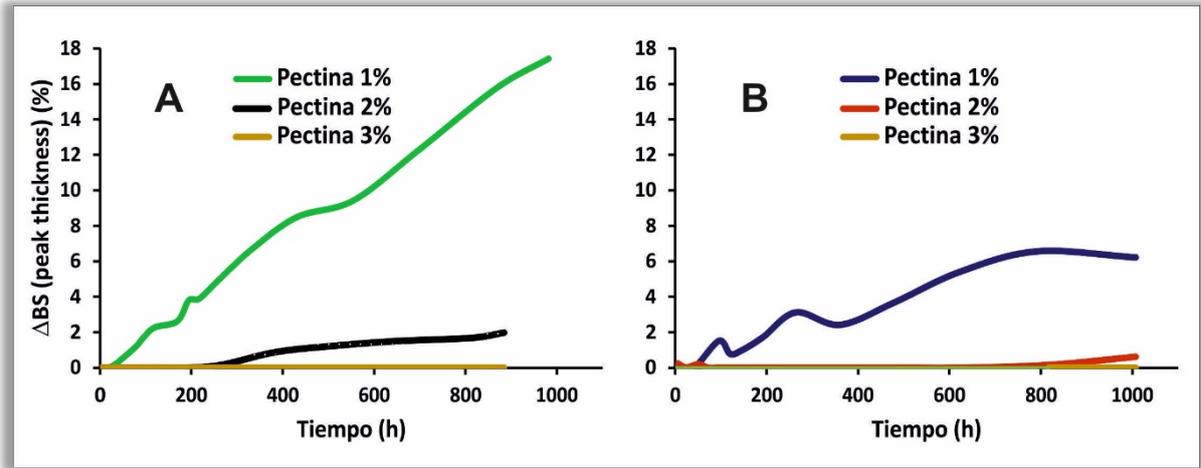
La influencia de las ceras de girasol en el fenómeno de sedimentación de E1 y E2 con 1% m/m de pectina, puede observarse a través de su cinética (Figura 3.20).

Se observan mayores velocidades de desestabilización en las emulsiones con proporción de ceras 0,1; siendo el fenómeno de sedimentación contrarrestado con el aumento de éstas. Dicho efecto es más notorio en E1, cuya velocidad de desestabilización es mayor comparada a E2 y por lo tanto su nivel de reducción también cuando la proporción de ceras aumentó.



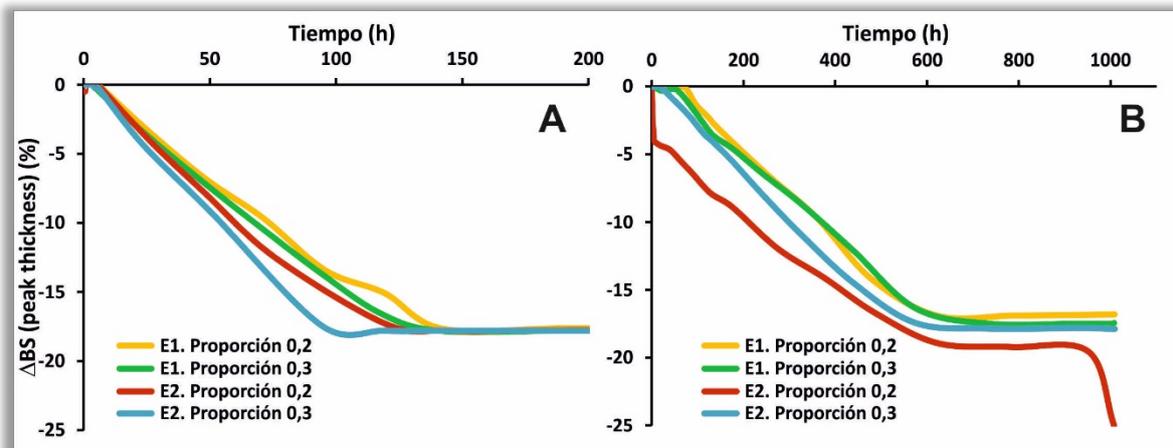
**Figura 3.20.** Cinética de desestabilización. Sedimentación. Efecto contenido de ceras de girasol. Pectina 1% m/m. Zona 1. **A.** E1 **B.** E2.

Evaluando el efecto del contenido de pectina en la cinética sedimentación en emulsiones E1 y E2 con proporción de ceras de 0,1 (Figura 3.21), se puede observar también una reducción del proceso de sedimentación, asociado a las propiedades estabilizantes que posee la pectina y al aumento de la viscosidad en el sistema, siendo prácticamente insignificantes los valores de  $\Delta BS$  positivos encontrados en el nivel más alto de pectina (3% m/m).



**Figura 3.21.** Cinética de desestabilización. Sedimentación. Efecto contenido de pectina. Proporción 0,1. Zona 1. **A.** E1 **B.** E2.

En la Figura 3.22 se presenta la influencia de las ceras de girasol en la cinética de clarificación. Las emulsiones E1 y E2 con 2% m/m de pectina y proporciones 0,2 y 0,3 (Figura 3.22 A) exhibieron un comportamiento similar, disminuyendo su velocidad de desestabilización aproximadamente a las 150 horas (6 días) de medición, mientras que las emulsiones E1 y E2 con 3% m/m de pectina (Figura 3.22 B) alcanzaron dicha disminución aproximadamente a las 600 horas (25 días) de medición.

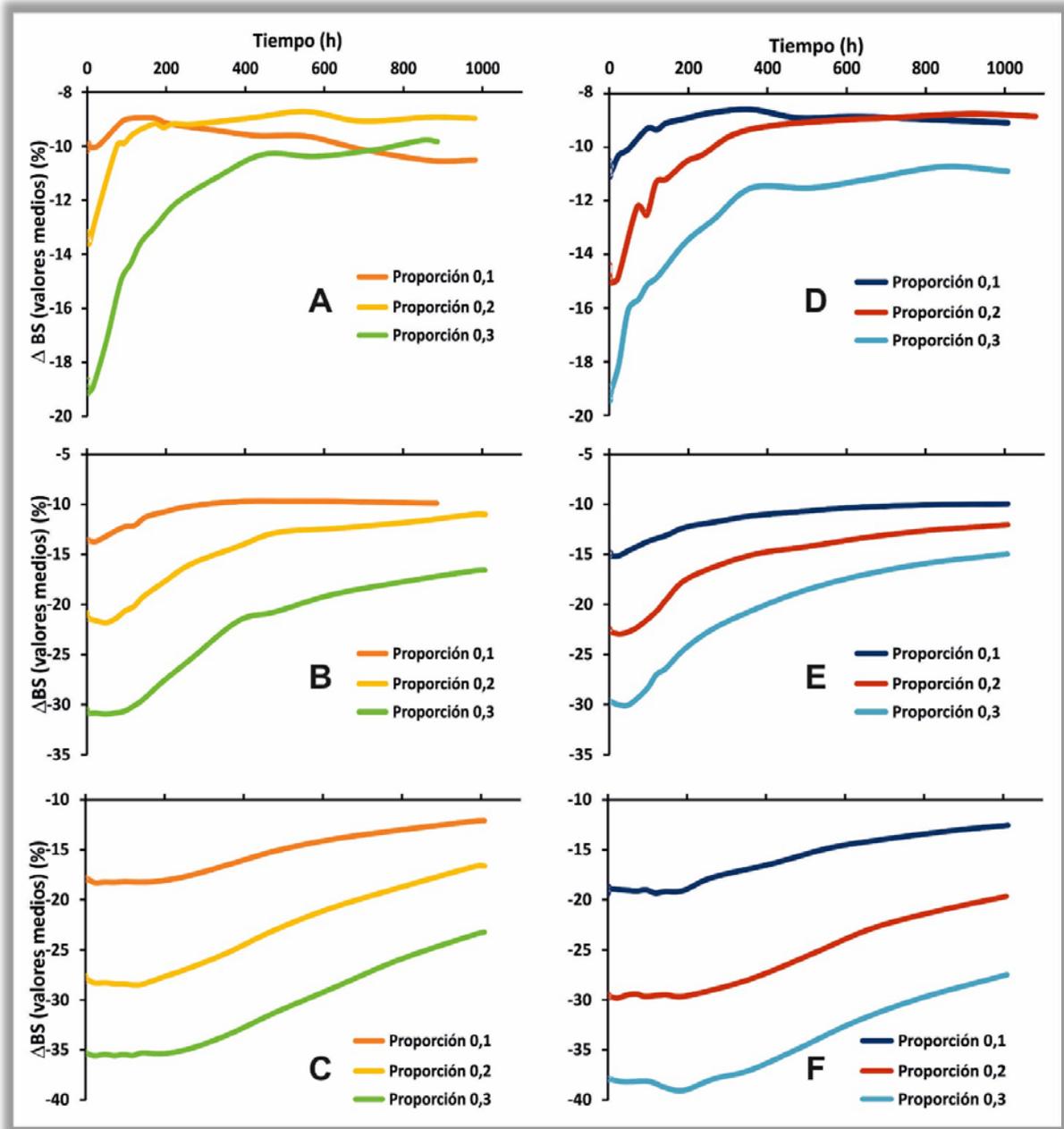


**Figura 3.22.** Cinética de desestabilización. Clarificación. Efecto contenido de ceras de girasol. Proporciones 0,2 y 0,3. Zona 1. **A.** Pectina 2% m/m **B.** Pectina 3% m/m.

## **Zona 2: Coalescencia**

En los perfiles de estabilidad de todas las emulsiones E1 y E2, excepto en las elaboradas con 1% m/m de pectina y proporción 0,1 de ceras, fue posible observar valores negativos de %BS en la zona media de la muestra (Figuras 3.15 y 3.16). Dichos valores fueron inducidos por una disminución progresiva de la retrodispersión cuando aumentó el tamaño de las partículas, característico de un fenómeno de coalescencia, el cual fue más pronunciado a medida que se incrementó el contenido de ceras y de pectina.

La evolución comparativa o cinética del proceso de coalescencia para E1 y E2 se presenta en la Figura 3.23. Las emulsiones E1 y E2 exhibieron efectos similares, siendo promovido dicho proceso por la adición de ceras y por el contenido de pectina (valores cada vez más negativos). En todos los niveles de pectina, las velocidades de desestabilización en emulsiones preparadas con una proporción 0,3 de ceras fueron las más altas, observándose en mayor medida en emulsiones con 1 y 2% m/m de pectina, donde se evidencia una disminución de la velocidad de desestabilización aproximadamente en la tercera parte del tiempo de medición (400 horas) (Figura 3.23 A, B, D, E). Lo contrario ocurre en las emulsiones con 3% m/m de pectina y la proporción más alta de ceras de girasol (Figura 3.23 C y F), donde a aproximadamente 400 horas de medición la velocidad de coalescencia se incrementa (mayor pendiente en la curva).



**Figura 3.23.** Cinética de desestabilización. Coalescencia. Efecto del contenido de ceras de girasol y pectina. Zona 2. E1 / % m/m pectina: A/1, B/2, C/3. E2 / % m/m pectina: D/1, E/2, F/3.

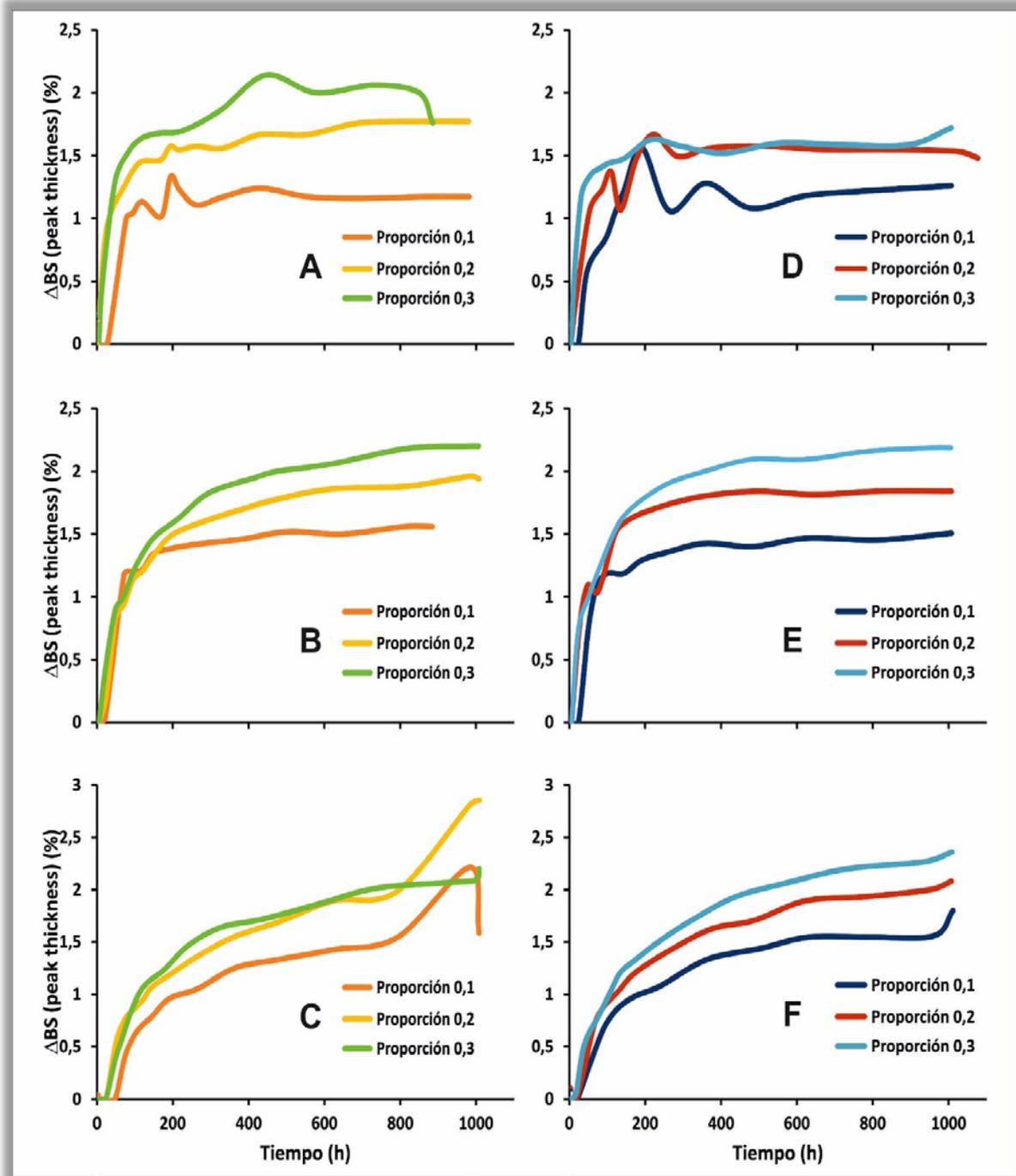
El proceso de coalescencia en las emulsiones está determinado por el rompimiento de la membrana interfacial que rodea las partículas, generando la unión de éstas luego de su colisión (sección 3.2.4.2.2). Si la capa de la fase continua que rodea las partículas es delgada y débil, la probabilidad de que el fenómeno de

coalescencia ocurra es alta. Por lo tanto, el aumento en las velocidades de desestabilización de coalescencia en las emulsiones con proporciones más altas de ceras, puede deberse a que la cantidad de pectina no fue suficiente para lograr una completa saturación de la superficie de las partículas y el aumento en la viscosidad de la fase continua no redujo el movimiento generado en las partículas a través de tiempo. Es así que se obtiene una membrana interfacial débil que ofrece poca resistencia a la unión de estas partículas, las cuales debido a su movimiento browniano, la gravedad o fuerzas mecánicas tienden a colisionar y, por lo tanto, a unirse entre sí. Además el tiempo prolongado de contacto (1008 horas) entre las partículas juega un papel importante en la evolución de este proceso.

### **Zona 3: Cremado**

En todos los perfiles de estabilidad de las emulsiones E1 y E2 (Figura 3.15 y 3.16), hacia la parte superior de la muestra, en una pequeña porción (10 mm), se observa un aumento en la señal de %BS (picos positivos) indicando la presencia del fenómeno de cremado, el cual fue más notorio a mayores tiempos de medición y cuyo inicio se produce entre las 24 a 48 horas.

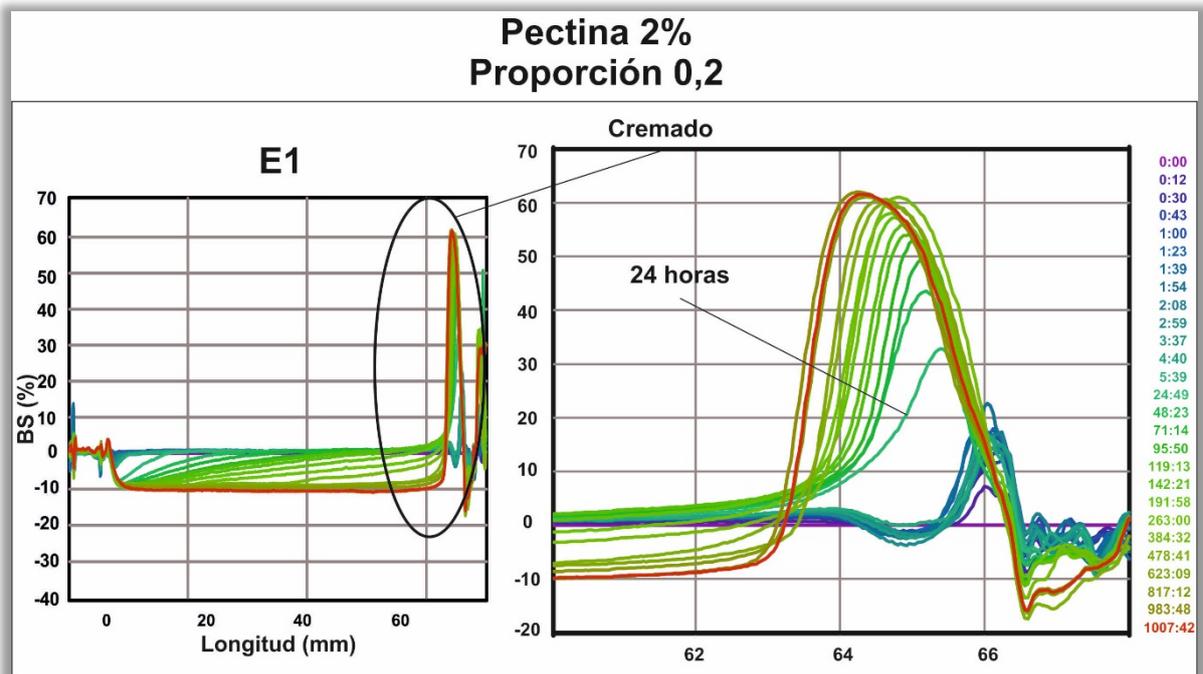
La Figura 3.24 muestra la cinética de desestabilización del fenómeno de cremado. Las emulsiones E1 y E2 registraron efectos similares. En todos los casos, la adición de ceras generó baja estabilidad de las emulsiones respecto a este fenómeno, disminuyendo su velocidad a tiempos de aproximadamente 200 horas (8 días).



**Figura 3.24.** Cinética de desestabilización. Cremado. Efecto del contenido de ceras de girasol y pectina. Zona 3. E1 / % m/m pectina: A/1, B/2, C/3. E2 / % m/m pectina: D/1, E/2, F/3.

La presencia de un amplio rango de diferentes tamaños de partícula en las emulsiones (polidispersión) contribuye a la presencia del fenómeno de cremado, dado

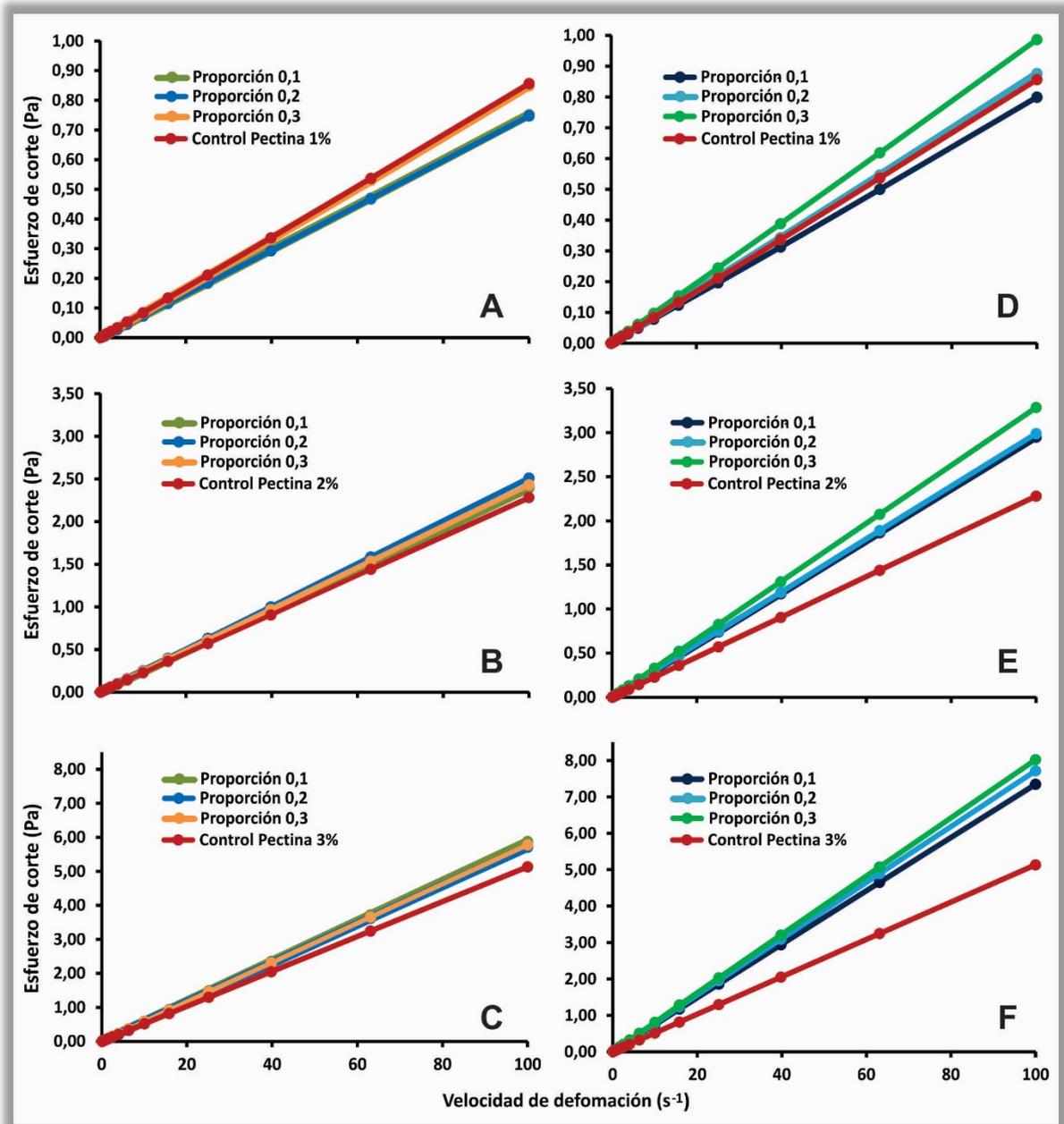
que las partículas de mayor tamaño tienden a migrar más rápidamente hacia la parte superior. Sin embargo, aunque las distribuciones de tamaño de partícula (Figura 3.14) indican que existe una mayor dispersión cuando el contenido de pectina fue menor, el fenómeno de cremado encontrado en las emulsiones E1 y E2 señala que este comportamiento no depende principalmente de la mayor o menor polidispersión, dado que en todas las emulsiones E1 y E2 este proceso ocurre a tiempos similares. Un ejemplo de la zona de cremado ampliada se muestra en la Figura 3.25. El proceso de coalescencia (aumento de tamaño de partícula), el cual se manifiesta de manera más pronunciada con el tiempo, sí contribuye en mayor medida con dicha migración y con la presencia paulatina de clarificación en el fondo del tubo.



**Figura 3.25.** E1. Perfiles %BS. Ejemplo ampliación zona de cremado Pectina 2%.  
Proporción ceras de girasol: 0,2. Escala de tiempo en horas.

### 3.4.3 Análisis reológico de las emulsiones

En la Figura 3.26 se muestra el esfuerzo de corte (Pa) en función de la velocidad de deformación ( $s^{-1}$ ) para las emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol E1 y E2.



**Figura 3.26.** Comportamiento reológico de las emulsiones. A) E1, 1% m/m Pectina, B) E1, 2% m/m Pectina, C) E1, 3% m/m Pectina, D) E2, 1% m/m Pectina, E) E2, 2% m/m Pectina, F) E2, 3% m/m Pectina.

En todos los casos fue posible observar una relación lineal entre el esfuerzo de corte y la velocidad de deformación, encontrándose valores más altos de esfuerzo de corte a medida que el contenido de pectina aumentó, lo cual es atribuido a las propiedades espesantes de este polisacárido. Sin embargo, la adición de ceras sólo implicó un incremento en el esfuerzo de corte en las emulsiones E1 y E2 con 2 y 3% m/m de pectina y E2 con 1% m/m de pectina y proporción 0,3; sugiriendo el bajo aporte de las ceras de girasol en el menor nivel de pectina (1% m/m) comparado con su control.

El modelo más apropiado para explicar el comportamiento reológico de las emulsiones fue el Modelo de Potencia Oswald Weale:

$$\tau = K \dot{\gamma}^n$$

donde  $\tau$  es el esfuerzo de corte,  $\dot{\gamma}$  es la velocidad de deformación,  $K$  es el índice de consistencia y  $n$  es el índice de comportamiento de flujo. Los valores de  $n$  de todas las emulsiones E1 y E2 fueron cercanos a 1 (Tabla 3.5), indicando una aproximación a fluidos newtonianos. Las viscosidades aparentes obtenidas con el Modelo de la Potencia para E1 y E2 se muestran en la Tabla 3.5. En todos los casos, las viscosidades de E2 fueron más altas que las encontradas en E1. Los datos fueron analizados con ANOVA doble, teniendo como factores el contenido de ceras de girasol y de pectina en las muestras. Respecto a las emulsiones E1, no se encontraron diferencias significativas ( $\alpha = 0,05$ ) entre el contenido de ceras ( $p = 0,9997$ ) ni entre la interacción de los tratamientos ( $p = 0,3993$ ), pero sí entre el contenido de pectina ( $p \ll 0,01$ ), resultando en valores de viscosidad más altos con su incremento.

El análisis estadístico de las viscosidades de las emulsiones E2, determinó la existencia de interacción entre el contenido de pectina y de ceras ( $p \ll 0,01$ ), por lo cual el análisis fue particionado. El mayor contenido de pectina y de ceras de girasol significaron un aumento en las viscosidades de E2 ( $p \ll 0,01$ ), observándose sin embargo, una pequeña variación de los valores en emulsiones con 2% m/m de pectina.

**Tabla 3.5.** Índices de comportamiento de flujo ( $n$ ) y viscosidades aparentes (Pa.s) basadas en el Modelo de la Potencia para emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol.

Pectina (% m/m)	Proporción de ceras (g ceras/g pectina)			
	0,1	0,2	0,3	
<b>Índice de comportamiento de flujo (<math>n</math>)</b>				
E1	1	1,0875 $\pm$ 0,0074	0,9627 $\pm$ 0,0267	1,0363 $\pm$ 0,0452
	2	1,0229 $\pm$ 0,0252	1,0191 $\pm$ 0,0004	1,0378 $\pm$ 0,0033
	3	1,0031 $\pm$ 0,0017	0,9989 $\pm$ 0,0020	1,0033 $\pm$ 0,0008
E2	1	1,0307 $\pm$ 0,0698	0,9997 $\pm$ 0,0065	0,9969 $\pm$ 0,0206
	2	1,0105 $\pm$ 0,0127	1,0046 $\pm$ 0,0071	1,0093 $\pm$ 0,0069
	3	1,0059 $\pm$ 0,0041	1,0061 $\pm$ 0,0148	1,0561 $\pm$ 0,0094
<b>Viscosidad Aparente (Pa.s)</b>				
E1	1	0,0070 $\pm$ 0,0002 <sup>a, A</sup>	0,0077 $\pm$ 0,0006 <sup>a, A</sup>	0,0080 $\pm$ 0,0006 <sup>a, A</sup>
	2	0,0231 $\pm$ 0,0011 <sup>a, B</sup>	0,0244 $\pm$ 0,0010 <sup>b, B</sup>	0,0230 $\pm$ 0,0019 <sup>a, B</sup>
	3	0,0587 $\pm$ 0,0004 <sup>a, C</sup>	0,0575 $\pm$ 0,0001 <sup>a, C</sup>	0,0577 $\pm$ 0,0004 <sup>a, C</sup>
E2	1	0,0076 $\pm$ 0,0007 <sup>a, A</sup>	0,0086 $\pm$ 0,0000 <sup>ab, A</sup>	0,0098 $\pm$ 0,0003 <sup>b, A</sup>
	2	0,0301 $\pm$ 0,0009 <sup>b, B</sup>	0,0296 $\pm$ 0,0003 <sup>b, B</sup>	0,0325 $\pm$ 0,0002 <sup>a, B</sup>
	3	0,0731 $\pm$ 0,0002 <sup>a, C</sup>	0,0773 $\pm$ 0,0020 <sup>b, C</sup>	0,0777 $\pm$ 0,0002 <sup>b, C</sup>

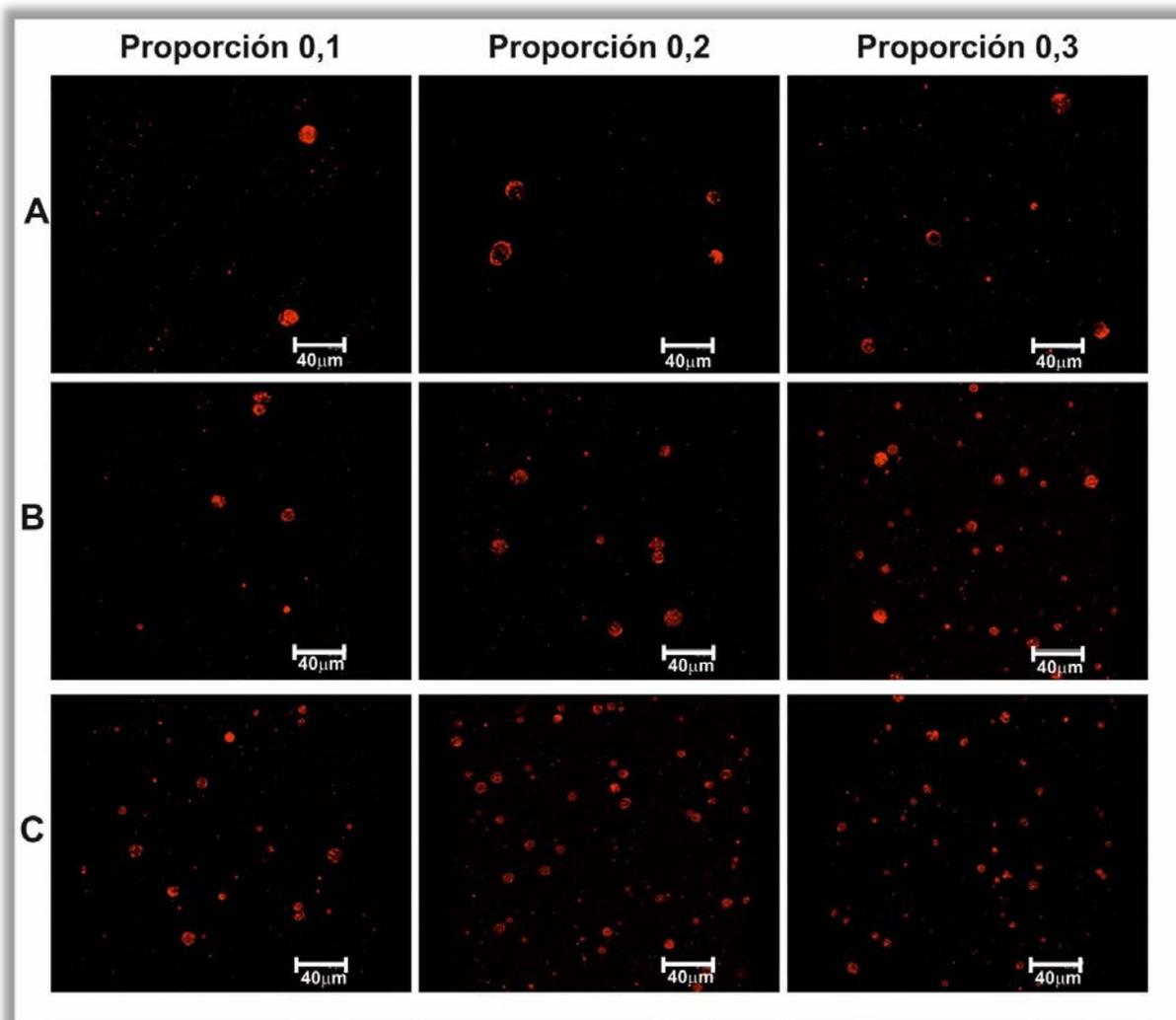
Valores medios  $\pm$  desviación estándar,  $n = 2$ . Valores en la misma fila seguidas por diferentes letras en minúscula (efecto adición de ceras) son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) por el Test de Fisher. Valores en la misma columna seguidas por diferentes letras en mayúscula (efecto adición de pectina) son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) por el Test de Fisher.

Las propiedades reológicas globales de las emulsiones O/W son influenciadas por los componentes de la fase continua, es decir, que un aumento en la viscosidad de ésta, es proporcional a la viscosidad de toda la emulsión. Claramente, el contenido de pectina en las emulsiones E1 y E2 influyó significativamente en las propiedades reológicas globales del sistema.

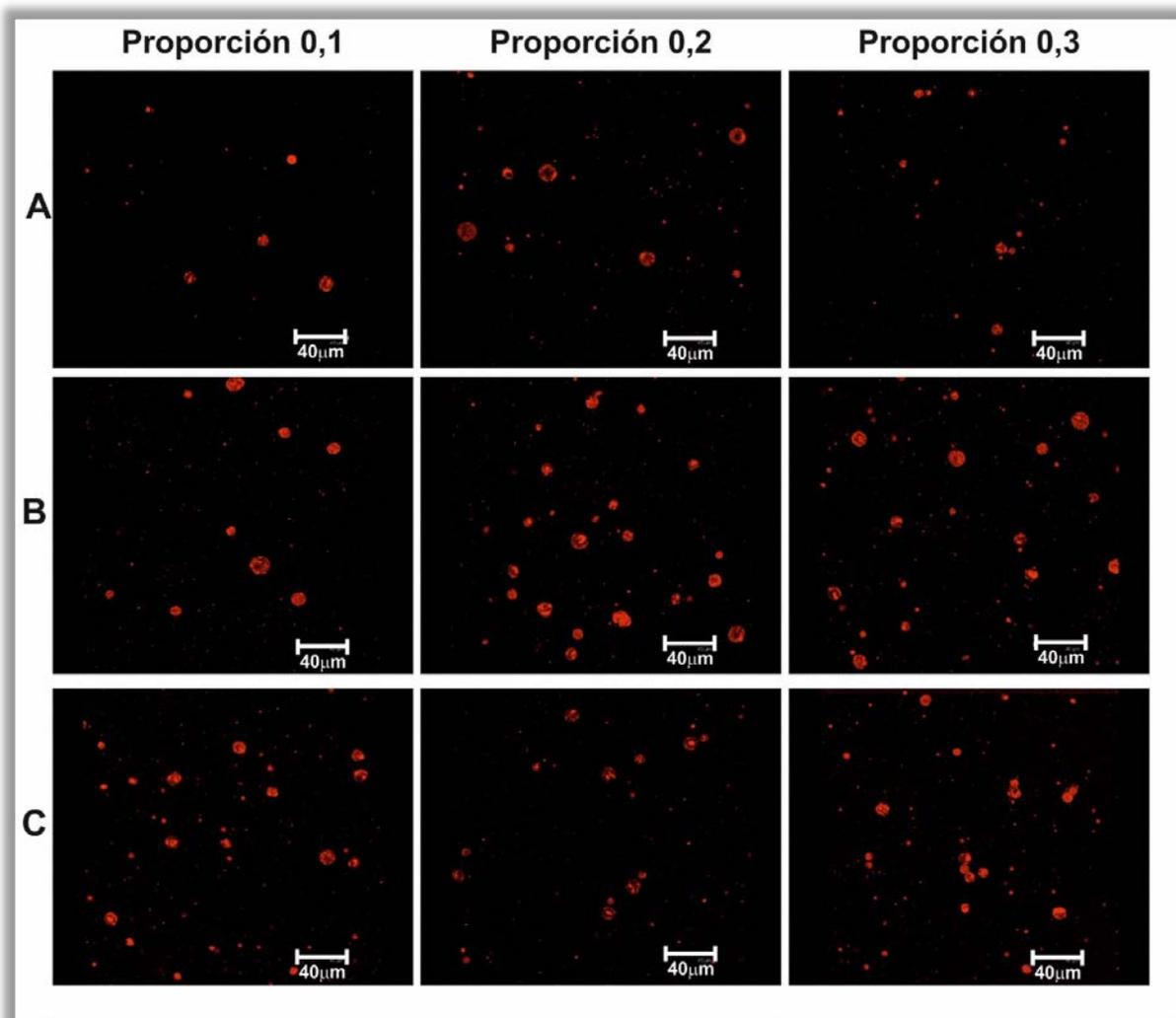
Es importante resaltar que aunque las emulsiones fueron más viscosas principalmente con el aumento de pectina, no se evidenció una influencia alta de ésta característica en la estabilidad global de las emulsiones. A pesar que dicho aumento en la viscosidad del sistema puede implicar la reducción del movimiento de las partículas y por lo tanto la disminución de ciertos fenómenos de migración debido a la gravedad (sedimentación o cremado) o de agrupamiento (coalescencia), el tiempo prolongado de estudio y el aumento en la proporción de ceras indicó que dicha reducción del movimiento de las partículas no fue tan evidente en el caso de estudio.

#### **3.4.4 Análisis imágenes Microscopía Confocal**

En las Figuras 3.27 y 3.28 se muestran las fotografías de las emulsiones E1 y E2, respectivamente, tomadas mediante microscopía confocal. En todas las emulsiones fue posible visualizar las ceras de girasol, observando la buena dispersión y distribución de las mismas en el medio sin notar la formación de agregados. Esto confirma la capacidad estabilizante de la pectina respecto a las partículas de cera, las cuales logran distribuirse de manera homogénea y uniforme en el medio. Como ya se ha mencionado antes, en las emulsiones cuyo objetivo final es la elaboración de películas comestibles, la buena dispersión del componente lipídico en la matriz tiene un efecto significativo en las propiedades de barrera finales de la película.



**Figura 3.27.** Imágenes de microscopía láser confocal. Emulsiones E1. A) Pectina 1% m/m B) Pectina 2% m/m C) Pectina 3% m/m.



**Figura 3.28.** Imágenes de microscopía láser confocal. Emulsiones E2. A) Pectina 1% m/m B) Pectina 2% m/m C) Pectina 3% m/m.

### **3.5 CONCLUSIONES**

El análisis de las propiedades físicas de emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol para la elaboración de películas comestibles es de gran importancia, ya que de éstas dependen sus características finales para brindar una adecuada protección a los alimentos.

La obtención de las películas comestibles a partir de emulsiones permitieron la dispersión del componente lipídico (ceras de girasol) en la matriz polimérica (pectina), para ello, fue necesario que las emulsiones presenten un alto grado de estabilidad que no permita afectar las propiedades finales de barrera de las películas. Los fenómenos de desestabilización como sedimentación, coalescencia y cremado estuvieron presentes. Con el aumento en el contenido de pectina y ceras, el fenómeno de sedimentación en las emulsiones fue disipado y los fenómenos de coalescencia y cremado se hicieron más evidentes a pesar del aumento en la viscosidad de las emulsiones. Estos fenómenos de desestabilización se evidenciaron a tiempos prolongados de ensayo, a las 24 horas o más de elaborada la emulsión. Por lo que se puede concluir que dichas emulsiones presentan una buena estabilidad para ser utilizadas en la producción de las películas.

El tamaño de partícula de las emulsiones fue afectado por el contenido de ceras y de pectina, obteniéndose, en la mayoría de los casos, tamaños de partícula menores principalmente cuando el contenido de pectina fue mayor; proceso que se relaciona con la capacidad estabilizante de este polisacárido sobre las partículas de cera y que evita la formación de agregados, evidenciándose una distribución de tamaño con

menor amplitud y mayor altura, lo que indica que dichas emulsiones poseen menor dispersión.

El análisis reológico indicó una aproximación de las emulsiones a fluidos newtonianos. El esfuerzo de corte y la viscosidad aumentaron con el contenido de pectina y tuvieron valores variables con la adición de ceras, lo que muestra que las propiedades reológicas de la emulsión dependen significativamente de la reología de la fase continua.

El análisis de las micrografías reveló la presencia de cristales de cera y una buena dispersión atribuida a la capacidad estabilizante de la pectina, lo cual es de suma importancia en la posterior capacidad permeante de la película una vez elaborada.

### **3.6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Akhtar M., Dickinson E., Mazoyer J. y Langendorff V. (2002), Emulsion stabilizing properties of depolymerized pectin, *Food Hydrocolloids*, 16(3), 249-256.

Albuquerque P., Coelho L.C., Teixeira J.A. y Carneiro-da-Cunha M.G. (2016), Approaches in biotechnological applications of natural polymers, *AIMS Molecular Science*, 3(3), 386-425.

Baldwin E., Nisperos-Carriedo M. y Baker R. (1995), Edible coatings for lightly processed fruits and vegetables, *HortScience*, 30(1), 35-38.

Bäumler E.R., Crapiste G.H. y Carelli A.A. (2006), Estudios de extractabilidad de ceras de semillas de girasol, *Aceites y Grasas*, 65, 672-676.

Bäumler E.R., Carelli A.A. y Martini S. (2013), Physical properties of aqueous solutions of pectin containing sunflower wax, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90(6), 791-802.

Bäumler E.R., Carelli A.A. y Martini S. (2014), Preparation and physical properties of calcium pectinate films modified with sunflower wax, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116(11), 1534-1545.

BeMiller J.N. y Whistler R.L. (1996), Carbohydrates, in *Food Chemistry*, editado por Fennema O.R., p. 157, Marcel Dekker, New York, USA.

Callegarin F., Gallo J.-A.Q., Debeaufort F. y Voilley A. (1997), Lipids and biopackaging, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 74(10), 1183-1192.

Carelli A.A., Frizzera L.M., Forbito P.R. y Crapiste G.H. (2002), Wax composition of sunflower seed oils, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79(8), 763-768.

Comas D., Wagner J. y Tomás M. (2006), Creaming stability of oil in water (O/W) emulsions: Influence of pH on soybean protein–lecithin interaction, *Food Hydrocolloids*, 20(7), 990-996.

Chen C.-H., Kuo W.-S. y Lai L.-S. (2009), Rheological and physical characterization of film-forming solutions and edible films from tapioca starch/decolorized hsian-tsoo leaf gum, *Food Hydrocolloids*, 23(8), 2132-2140.

Dalgleish D.G. (2004), Food emulsions: their structures and properties, in *Food Emulsions*, editado por Friberg S., Larsson K. and Sjöblom J., pp. 1-44, Marcel Dekker, Inc., New York, USA.

Das K. y Kinsella J. (1990), Stability of food emulsions: physicochemical role of protein and nonprotein emulsifiers, *Advances in Food and Nutrition Research*, 34, 81-201.

Debeaufort F. y Voilley A. (1995), Effect of surfactants and drying rate on barrier properties of emulsified edible films, *International Journal of Food Science & Technology*, 30(2), 183-190.

Debeaufort F., Quezada-Gallo J.-A. y Voilley A. (1998), Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review, *Critical Reviews in Food Science*, 38(4), 299-313.

Di Rienzo J., Casanoves F., Balzarini M., Gonzalez L., Tablada M. y Robledo y.C. (2011), InfoStat versión 2011, *Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina*. URL <http://www.infostat.com.ar>, 8, 195-199.

Dickinson E. (1987), *Food Emulsions and Foams*, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK.

Dickinson E. (1992), *An introduction to food colloids*, Oxford University Press, Oxford, UK.

Dickinson E. (2003), Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems, *Food Hydrocolloids*, 17(1), 25-39.

Dickinson E. (2009), Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers, *Food Hydrocolloids*, 23(6), 1473-1482.

Drusch S. (2007), Sugar beet pectin: A novel emulsifying wall component for microencapsulation of lipophilic food ingredients by spray-drying, *Food Hydrocolloids*, 21(7), 1223-1228.

Fennema O.R. (1996), Introduction of Food Chemistry, in *Food Chemistry*, editado por Fennema O.R., pp. 1-16, Marcel Dekker, New York, USA.

Galus S. y Kadzińska J. (2015), Food applications of emulsion-based edible films and coatings, *Trends in Food Science & Technology*, 45(2), 273-283.

Guilbert S., Gontard N. y Cuq B. (1995), Technology and applications of edible protective films, *Packaging Technology and Science*, 8(6), 339-346.

Guo X., Zhao W., Pang X., Liao X., Hu X. y Wu J. (2014), Emulsion stabilizing properties of pectins extracted by high hydrostatic pressure, high-speed shearing homogenization and traditional thermal methods: a comparative study, *Food Hydrocolloids*, 35, 217-225.

Hagenmaier R.D. (2005), A comparison of ethane, ethylene and CO<sub>2</sub> peel permeance for fruit with different coatings, *Postharvest Biology and Technology*, 37(1), 56-64.

Hagenmaier R.D. y Shaw P.E. (1992), Gas permeability of fruit coating waxes, *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 117(1), 105-109.

Hamilton R. (1995), Commercial waxes: their composition and applications, in *Waxes: Chemistry, Molecular Biology and Functions*, editado por Hamilton R., pp. 257-292, The Oily Press, Dundee, UK.

Herrera M. (2012), *Analytical techniques for studying the physical properties of lipid emulsions*, 61 pp., Springer Science & Business Media, New York, USA.

İbanoğlu E. (2002), Rheological behaviour of whey protein stabilized emulsions in the presence of gum arabic, *Journal of Food Engineering*, 52(3), 273-277.

Israelachvili J.N. (2011), *Intermolecular and Surface Forces. Third Edition*, 706 pp., Academic Press: Elsevier, USA.

Janjarasskul T. y Krochta J.M. (2010), Edible packaging materials, *Annual Review of Food Science and Technology*, 1, 415-448.

Jarvis M.C. (1984), Structure and properties of pectin gels in plant cell walls, *Plant, Cell & Environment*, 7(3), 153-164.

Kester J. y Fennema O. (1986), Edible films and coatings: a review, *Food Technology (USA)*, 48, 47.

Kester J. y Fennema O. (1989), Resistance of lipid films to water vapor transmission, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 66(8), 1139-1146.

Koster Keunen (2016), Wax Products. Sunflower Wax. General Information, último acceso: diciembre 2016, disponible en: <http://www.koster-wax.com/us/waxes-by-industry/candle-waxes/sunflower-wax--258g>.

Krog N.J. y Sparso F.V. (2004), Food emulsifiers: their chemical and physical properties, in *Food Emulsions*, editado por Friberg S., Larsson K. and Sjöblom J., pp. 62-108, Marcel Dekker, Inc., New York, USA.

Lemarchand C., Couvreur P., Vauthier C., Costantini D. y Gref R. (2003), Study of emulsion stabilization by graft copolymers using the optical analyzer Turbiscan, *International Journal of Pharmaceutics*, 254(1), 77-82.

Leroux J., Langendorff V., Schick G., Vaishnav V. y Mazoyer J. (2003), Emulsion stabilizing properties of pectin, *Food Hydrocolloids*, 17(4), 455-462.

Maftoonazad N., Ramaswamy H.S. y Marcotte M. (2007), Evaluation of factors affecting barrier, mechanical and optical properties of pectin - based films using response surface methodology, *Journal of Food Process Engineering*, 30(5), 539-563.

May C. (1997), Pectins, in *Thickening and Gelling Agents for Food*, editado por Imeson A., pp. 230-261, Springer, United Kingdom.

McClements D.J. (1999), *Food emulsions: principles, practices, and techniques*, CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.

Mellinas C., Valdés A., Ramos M., Burgos N., Garrigós M.d.C. y Jiménez A. (2016), Active edible films: current state and future trends, *Journal of Applied Polymer Science*, 133(2), 1-15.

Mengual O., Meunier G., Cayré I., Puech K. y Snabre P. (1999), TURBISCAN MA 2000: multiple light scattering measurement for concentrated emulsion and suspension instability analysis, *Talanta*, 50(2), 445-456.

Mohnen D. (2008), Pectin structure and biosynthesis, *Current Opinion in Plant Biology*, 11(3), 266-277.

Neiryck N., Van Der Meeren P., Gorbe S.B., Dierckx S. y Dewettinck K. (2004), Improved emulsion stabilizing properties of whey protein isolate by conjugation with pectins, *Food Hydrocolloids*, 18(6), 949-957.

Nesic A.R. (2014), Pectin films for application in food packaging: review, in *Pectin: Chemical Properties, Uses and Health Benefits*, editado por Bush P.L., pp. 225-251, Nova Science Publishers, New York, USA.

Palazolo G.G., Sorgentini D.A. y Wagner J.R. (2004), Emulsifying properties and surface behavior of native and denatured whey soy proteins in comparison with other proteins. Creaming stability of oil-in-water emulsions, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81(7), 625-632.

Pan L., Tomás M. y Añón M. (2002), Effect of sunflower lecithins on the stability of water-in-oil and oil-in-water emulsions, *Journal of Surfactants and Detergents*, 5(2), 135-143.

Panchev I., Nikolova K. y Pashova S. (2009), Physical characteristics of wax-containing pectin aqueous solutions, *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*, 11(9), 1214-1217.

Paredes-López O., Camargo-Rubio E. y Gallardo-Navarro Y. (1974), Use of coatings of candelilla wax for the preservation of limes, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 25(10), 1207-1210.

Pavlath A.E. y Orts W. (2009), Edible films and coatings: why, what, and how?, in *Edible Films and Coatings for Food Applications*, editado por Embuscado M.E. and Huber K.C., pp. 1-23, Springer, New York, USA.

Peressini D., Bravin B., Lapasin R., Rizzotti C. y Sensidoni A. (2003), Starch - methylcellulose based edible films: rheological properties of film-forming dispersions, *Journal of Food Engineering*, 59(1), 25-32.

Pérez-Gago M. y Krochta J. (1999), Water vapor permeability of whey protein emulsion films as affected by pH, *Journal of Food Science*, 64(4), 695-698.

Pérez-Gago M. y Krochta J. (2001), Lipid particle size effect on water vapor permeability and mechanical properties of whey protein/beeswax emulsion films, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(2), 996-1002.

Rao M. (2005), Rheological properties of fluid foods, in *Engineering Properties of Foods*, editado por Rao M., Rizvi S.S.H. and Datta A.K., pp. 1-47, Tayllor & Francis Group, Boca Raton, FL, USA.

Rhim J.W. y Shellhammer T.H. (2005), Lipid-based edible films and coatings, in *Innovations in Food Packaging*, editado por Han J.H., pp. 362-384, Elsevier Science & Technology Books, Amsterdam, Holland.

Ridley B.L., O'Neill M.A. y Mohnen D. (2001), Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling, *Phytochemistry*, 57(6), 929-967.

Rinaudo M. (2008), Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials, *Polymer International*, 57(3), 397-430.

Robins M.M. (2000), Emulsions - creaming phenomena, *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 5(5), 265-272.

Rousseau D. (2000), Fat crystals and emulsion stability - a review, *Food Research International*, 33(1), 3-14.

Saether O., Sjöblom J. y Dukhin S. (2004), Droplet flocculation and coalescence in dilute oil-in-water emulsions, in *Food Emulsions*, editado por Friberg S., Larsson K. and Sjöblom J., pp. 175-220, Marcel Dekker, Inc., New York, USA.

Sánchez-González L., Vargas M., González-Martínez C., Chiralt A. y Cháfer M. (2009), Characterization of edible films based on hydroxypropylmethylcellulose and tea tree essential oil, *Food Hydrocolloids*, 23(8), 2102-2109.

Schramm L.L. (2006), *Emulsions, foams, and suspensions: fundamentals and applications*, John Wiley & Sons. Marcono Print Media Pte Ltda, Weinheim, Germany.

Schultz T., Miers J., Owens H. y Maclay W. (1949), Permeability of pectinate films to water vapor, *The Journal of Physical Chemistry*, 53(9), 1320-1330.

Shellhammer T. y Krochta J. (1997), Whey protein emulsion film performance as affected by lipid type and amount, *Journal of Food Science*, 62(2), 390-394.

Tadros T.F. (1994), Fundamental principles of emulsion rheology and their applications, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 91, 39-55.

Thakur B.R., Singh R.K., Handa A.K. y Rao M. (1997), Chemistry and uses of pectin - a review, *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 37(1), 47-73.

Tharanathan R. (2003), Biodegradable films and composite coatings: past, present and future, *Trends in Food Science & Technology*, 14(3), 71-78.

Vaclavik V. y Christian E. (2008), *Essentials of Food Science*, Springer, New York, USA.

Walstra P. (1987), Overview of emulsion and foam stability, in *Food Emulsions and Foams*, editado por Dickinson E., pp. 242-257, Woodhead Publishing Limited, United Kingdom.

Walstra P. (1993), Principles of emulsion formation, *Chemical Engineering Science*, 48(2), 333-349.

Walstra P. (1996), Dispersed Systems: Basic Considerations, in *Food Chemistry*, editado por Fennema O.R., pp. 95-156, Marcale Dekker, New York, USA.

Willats W.G., McCartney L., Mackie W. y Knox J.P. (2001), Pectin: cell biology and prospects for functional analysis, in *Plant Cell Walls*, editado por Albersheim P., Darvill A., Roberts K., Sederoff R. and Staehelin A., pp. 9-27, Garland Science, Taylor and Francis Group, New York, USA.

# CAPÍTULO 4

## PELÍCULAS COMESTIBLES

### 4.1 OBJETIVO

El objetivo de este capítulo es la elaboración de películas comestibles a partir de emulsiones acuosas de pectina de bajo metoxilo, ceras de girasol y glicerol (plastificante), evaluando su estructura, resistencia al agua, propiedades mecánicas y determinando su comportamiento térmico.

### 4.2 INTRODUCCIÓN

En el mercado global alimentario, los requerimientos de la industria, movidos por las necesidades del consumidor, han hecho necesario que se exploren nuevos caminos en el empaque de alimentos, buscando materiales que brinden protección, seguridad y confiabilidad a la hora de consumirlos y que además contribuyan al medio ambiente.

En la actualidad, el envasado y empaque de alimentos se realiza utilizando materiales convencionales, caracterizados por su gran disponibilidad, costo relativamente bajo, buen comportamiento mecánico y buenas propiedades de barrera (Siracusa et al., 2008). Los plásticos, materiales provenientes de productos

petroquímicos, son los más usados en esta industria, siendo los más importantes: tereftalato de polietileno (PET), policloruro de vinilo (PVC), polietileno (PE), poliestireno (PS) y poliamida (PA), entre otros. Sin embargo, éstos causan efectos adversos al medio ambiente dado que no todos son totalmente reciclables o biodegradables, originando riesgos a la salud humana y a los ecosistemas (Mahalik y Nambiar, 2010). Esta situación ha incentivado la investigación acerca del uso alternativo o de manera sinérgica, de materiales degradables y comestibles provenientes de fuentes renovables o derivados de subproductos o residuos de la industria alimentaria (Debeaufort y Voilley, 1995). Estos nuevos materiales deben proteger al alimento actuando como barrera a la transferencia de agua, gases y solutos de alimentos, como así también mejorar su apariencia y brindar resistencia e integridad estructural en el proceso de manipulación de los mismos (Guilbert et al., 1995). En este campo, se han desarrollado diversos estudios innovadores acerca de películas comestibles y recubrimientos, que surgen como nuevas aplicaciones o como refuerzo de tecnologías ya existentes (Hansen y Plackett, 2008; Janjarasskul y Krochta, 2010; Mellinas et al., 2016; Razavi et al., 2015).

#### **4.2.1 Películas comestibles**

Una película comestible puede definirse como una o varias capas delgadas de material comestible preformado que pueden ser colocadas sobre los alimentos y a su vez actuar como barrera a la transferencia de agua, gases y solutos (McHugh, 2000). Las películas comestibles se diferencian de los recubrimientos comestibles dado que éstos, a partir de las soluciones, se forman directamente sobre el alimento por diferentes métodos pasando a constituir parte del mismo, mientras que las películas

son autoportadas, formándose sobre una superficie y separándose de la misma cuando está elaborada (Falguera et al., 2011).

El objetivo principal de las películas es proteger al alimento de deterioros químicos y físicos como la oxidación, crecimiento microbiano, pérdida y/o cambio de aromas y sabores y deshidratación, los cuales son promovidos por la migración de vapor de agua, oxígeno, etileno, etc. (Pavlath y Orts, 2009). Para lograr dicha protección es necesario analizar la interacción del alimento con el medio circundante y que la película en su formulación incluya componentes capaces de complementarse.

#### **4.2.1.1 Breve historia de las películas comestibles**

Las ceras fueron los primeros materiales usados para recubrir frutas, su uso data desde los siglos XII y XIII cuando en China aplicaban ceras a naranjas y limones (Hardenburg, 1967), notando que las frutas recubiertas podían ser almacenadas por un tiempo más prolongado que las no recubiertas. Después, en Inglaterra, se reporta el uso de manteca de cerdo o grasas para prolongar la vida útil de los productos cárnicos (Labuza y Contreras-Medellin, 1981). Desde el siglo XV una película comestible proteica obtenida de parte de la grasa de leche de soja hervida llamada yuba, ha sido tradicionalmente usada en Asia (Han y Gennadios, 2005). En el siglo XIX la sacarosa se aplicó como un recubrimiento protector en nueces, almendras y avellanas para prevenir la oxidación y rancidez durante el almacenamiento (Debeaufort et al., 1998). En ese mismo siglo, en la década de los años 30, se dispuso comercialmente cera fundida de parafina como recubrimiento comestible de manzanas y peras (Park, 1999); y, además, a partir de esa década, se usó una emulsión de ceras y aceite en agua para mejorar la apariencia de las frutas, controlar

su maduración y retardar la pérdida de agua, uso que luego sería reportado por Erbil y Muftugil (1986) en el recubrimiento de duraznos. También se han realizado trabajos que incluyeron el uso de polisacáridos, alginatos, carragenanos, celulosa, pectina, almidón para mejorar la calidad de carnes (Labuza y Contreras-Medellin, 1981). En los últimos 40 años se han venido desarrollando metodologías y formulaciones, además de la caracterización de películas y recubrimientos comestibles utilizando materiales biodegradables que también provienen de fuentes de desecho. Se han estudiado diferentes materiales como almidón (Jiménez et al., 2012), derivados de celulosa (Hansen y Plackett, 2008), quitosano (Elsabee y Abdou, 2013), gomas (Razavi et al., 2015), proteínas (Gennadios, 2004), polisacáridos y lípidos (Garcia et al., 2000; Rhim y Ng, 2007), entre otros, con los que se han obtenido películas para empaque de alimentos frescos o procesados con el objetivo de extender su vida útil.

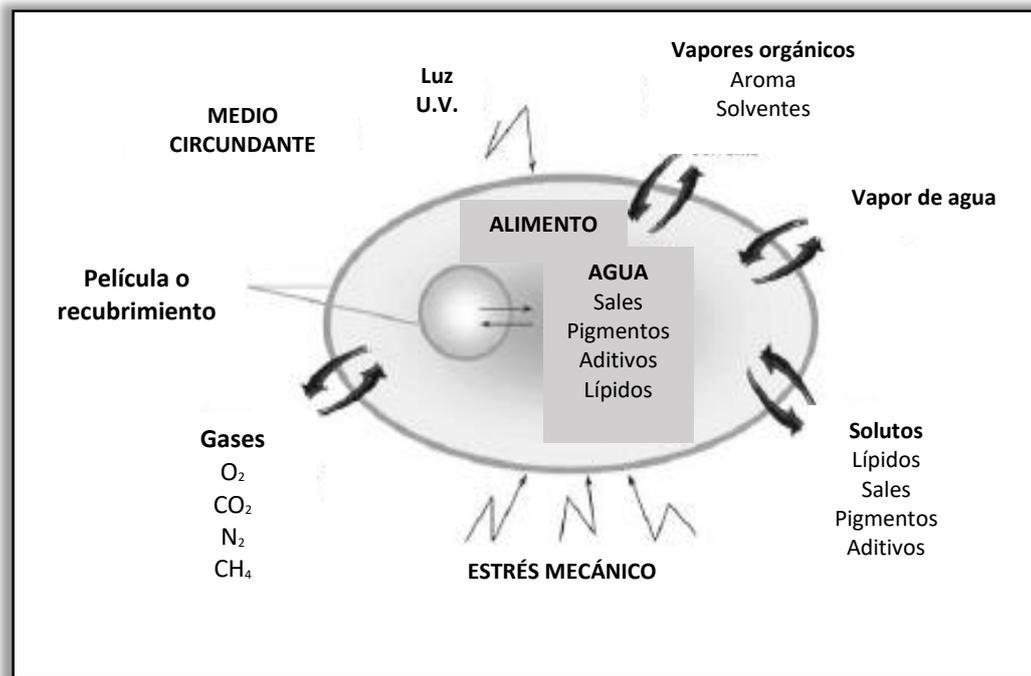
#### **4.2.2 Propiedades funcionales de las películas comestibles**

Las películas comestibles proporcionan al alimento muchos beneficios en términos de protección, manteniendo y mejorando su calidad física, química y microbiológica, brindándole resistencia e integridad estructural, color y suavidad en su superficie y siendo portadoras de ingredientes activos. Entre las propiedades funcionales más importantes se encuentran:

- ⊙ Reducción de la pérdida de humedad y transporte de gases

Los fenómenos de migración de diferentes componentes son uno de los principales responsables de los cambios fisicoquímicos y de deterioro que sufren los alimentos durante su almacenamiento y distribución, e influyen en su calidad nutricional y microbiológica (Nguyen et al., 2001) (Figura 4.1). Dichos fenómenos

pueden ocurrir entre el alimento y su medio circundante, entre el alimento y los materiales de embalaje o entre ingredientes heterogéneos en el propio producto alimenticio (Krochta, 1997). Las películas comestibles pueden cubrir los alimentos y ubicarse entre las partes heterogéneas para reducir o evitar estos fenómenos de migración y preservar la calidad (Guilbert et al., 1995).



**Figura 4.1.** Transferencias que pueden ser controladas por barreras comestibles.

Fuente: Debeaufort y Voilley (2009).

Estos fenómenos se pueden analizar mediante la caracterización de las propiedades de barrera, no solo al agua, sino también al oxígeno, dióxido de carbono, sabores, etc.. Algunas películas comestibles poseen una baja permeabilidad al oxígeno, pero una alta permeabilidad al agua (con excepción de los lípidos), siendo generalmente mayor a la permeabilidad de las películas elaboradas de materiales plásticos (Hagenmaier, 2011). Estas propiedades de barrera se ven afectadas por: a) la composición de la película debido a las características específicas del material

formador, b) la temperatura, dado que si ésta aumenta provee mayor energía a la migración de sustancias aumentando la permeabilidad, c) la humedad relativa del ambiente y d) la adición de aditivos como plastificantes, los cuales intervienen en la estructura aumentando la permeabilidad de la mayoría de los migrantes (Baldwin y Hagenmaier, 2011).

⊙ Propiedades de barrera a la grasa

La hidrofiliidad inherente de proteínas y polisacáridos proporciona a las películas basadas en estos materiales resistencia a la migración de aceites y grasas, utilizándose potencialmente para mejorar la calidad del producto y la eficiencia en varias etapas de procesamiento de alimentos. Estudios realizados por Balasubramaniam et al. (1997), Dragich y Krochta (2010) y Mallikarjunan et al. (1997) indican que las películas y recubrimientos comestibles basados en polisacáridos pueden ser utilizados para retener la humedad y reducir la absorción de grasa en los alimentos fritos.

Además, la aplicación de películas o recubrimientos comestibles puede ayudar a una deshidratación selectiva, es decir, contribuyendo a la reducción del contenido de agua de los alimentos. Por lo que es deseable en procesos como la liofilización que la película posea una alta permeabilidad al agua y una baja permeabilidad a ingredientes valiosos solubles en agua, sabores y aromas o la sal (Dabrowska y Lenart, 2001; Guilbert et al., 1995).

⊙ Propiedades mecánicas y de manejo de los alimentos

Las películas comestibles brindan un refuerzo estructural a los productos alimenticios que son frágiles, protegiéndolos de daños físicos causados por impacto mecánico, presión, vibraciones, etc. y facilitando su manejo, transporte, almacenamiento, comercialización y uso final, como por ejemplo, disminuyendo el daño de las células epidérmicas en productos frescos o mejorando la integridad mecánica y evitando la fragmentación en productos congelados y liofilizados (Janjarasskul y Krochta, 2010).

Generalmente, para evaluar las propiedades mecánicas de la película, se incluye la medición de la resistencia a la tracción, elongación a la rotura, módulo de elasticidad, resistencia a la compresión, a la perforación, al desgarramiento y a la abrasión, rigidez, fuerza de adhesión, etc. (Han y Gennadios, 2005). Las propiedades mecánicas de las películas comestibles dependen de la cohesión estructural, la cual deriva del tipo y proporción de materiales formadores de película utilizados, su proceso de elaboración y las condiciones experimentales (Janjarasskul y Krochta, 2010). Estas películas tienen menor resistencia a la tracción que las películas de plástico comunes, mientras que su elongación a la rotura varía ampliamente. Muchas películas, cuyos materiales son hidrófilos, son sensibles a la humedad, afectando su resistencia física. Esta disminuye a humedades relativas altas ya que las moléculas de agua absorbidas por las películas actúan como plastificante (Debeaufort et al., 1998). Otro factor que afecta las propiedades mecánicas de las películas es la temperatura, cuando la misma aumenta por encima de la temperatura de transición vítrea del material contribuye en la disminución de su resistencia (Han y Gennadios, 2005).

⊙ Contenido de aditivos

El interés de investigaciones actuales se centra en el análisis de la capacidad que poseen las películas y recubrimientos comestibles de transportar y liberar controladamente compuestos como antioxidantes, antimicrobianos, pigmentos, sabores, especias, sales, nutrientes, nutraceuticos, etc. (Janjarasskul y Krochta, 2010; Kester y Fennema, 1986). En los empaques llamados activos, estos aditivos proveen a la película o recubrimiento funciones adicionales para proteger a los alimentos de la oxidación y del deterioro microbiano o evitando la pérdida de compuestos de interés, lo que resulta en el mejoramiento de la calidad y aumento de la seguridad alimentaria (Debeaufort et al., 1998; Han y Gennadios, 2005).

#### **4.2.3 Materiales usados en películas comestibles**

Las películas pueden ser elaboradas a partir de polisacáridos, proteínas, lípidos y resinas, los cuales pueden usarse solos o combinados, otorgándole a las películas ciertas propiedades funcionales que dependen de la naturaleza del material formador (Pérez-Gago y Krochta, 2001). En la formulación también se utilizan solventes como agua o etanol y aditivos grado alimenticio como plastificantes o surfactantes con el fin de mantener la comestibilidad y seguridad alimentaria (Mellinas et al., 2016; Pavlath y Orts, 2009).

En la Tabla 4.1 se muestran algunos de los materiales más usados en la formulación de películas comestibles.

Las películas comestibles elaboradas a base de polisacáridos, por ser materiales hidrofílicos, muestran una baja barrera a la humedad y pueden actuar como

un “agente de sacrificio” aplicándose en este caso en un espesor relativamente grueso para absorber agua intencionalmente y proporcionar protección temporal contra la pérdida de humedad adicional (Pavlath y Orts, 2009). Estas películas a base de polisacáridos muestran una permeabilidad selectiva al O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> y una buena estabilidad estructural. Como se puede observar en la Tabla 4.1, una gran variedad de polisacáridos y sus derivados han sido usados como matrices para formar películas, los cuales brindan características como dureza, viscosidad, compactibilidad, adhesividad y capacidad para formar geles (Sánchez-Ortega et al., 2014).

**Tabla 4.1.** Materiales usados para películas comestibles.

Composición funcional	Materiales
<b>Materiales formadores de películas</b>	<p><b>Proteínas:</b> Colágeno, gelatina, caseína, proteína de suero de leche, zeína, glúten de trigo, proteína de soja, proteína blanca de huevo, proteína miofibrilar de peces, proteína de sorgo, de guisante, de salvado de arroz, de semilla de algodón, de maní, queratina.</p> <p><b>Polisacáridos:</b> almidón, almidón modificado, celulosa modificada (CMC, MC, HPC, HPMC), alginato, carragenano, pectina, pululano, quitosano, goma gellan, goma xantán.</p> <p><b>Lípidos:</b> ceras (cera de abejas, parafina, carnauba, candelilla, de salvado de arroz), <b>resinas</b> (goma laca, terpeno), acetoglicéridos.</p>
<b>Plastificantes</b>	Glicerol, propilenglicol, sobitol, sacarosa, polietilenglicol, jarabe de maíz, agua.
<b>Aditivos funcionales</b>	Antioxidantes, antimicrobianos, nutrientes, nutraceuticos, productos farmacéuticos, sabores, colores.
<b>Otros aditivos</b>	Agentes emulsificantes (lecitina, Tweens, Spans), emulsiones lipídicas (ceras comestibles, ácidos grasos)

CMC, carboximetilcelulosa; MC, metilcelulosa; HPC, hidroxipropil celulosa; HPMC, hidroxipropil metilcelulosa. Fuente: Han y Gennadios (2005)

Los polisacáridos pueden presentar carga neutra (ésteres de acetato, metil éteres, azúcares neutros), carga negativa (carboxilato, grupos sulfato) o carga positiva (grupos amino) debido a la presencia de diversos grupos químicos unidos a unidades individuales de monosacáridos. Estas características estructurales contribuyen a sus diferencias de solubilidad, sinergia o incompatibilidad entre sí o con otros ingredientes (proteínas, minerales, ácidos y lípidos), propiedades espesantes, gelificantes y emulsionantes y a la capacidad para formar una película en una superficie tras su aplicación (propiedad filmogénica) (Nieto, 2009). En esta última propiedad, el mecanismo de formación de la película por parte del polisacárido implica la separación de segmentos de polímero y el reordenamiento de las cadenas en una matriz o gel por evaporación de un solvente que crea enlaces hidrógeno (Rhim y Ng, 2007).

#### **4.2.3.1 La pectina como matriz polimérica para la elaboración de películas**

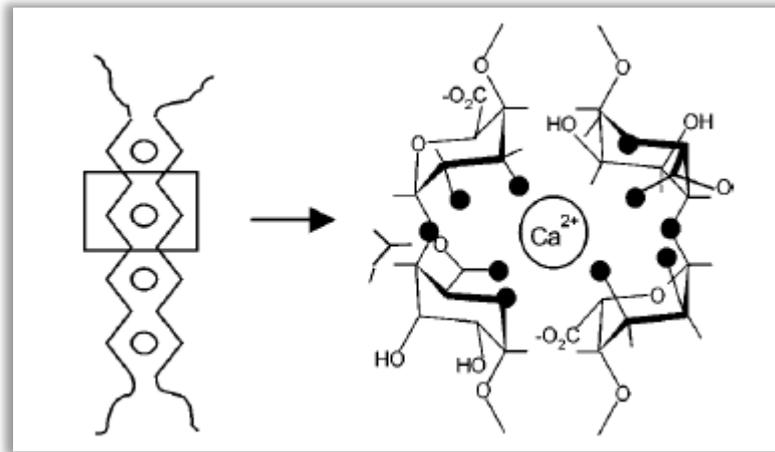
Los subproductos de las plantas procesadoras de alimentos representan un importante problema de eliminación y disposición, pero también son fuentes prometedoras de compuestos con propiedades tecnológicas y nutricionales favorables (Galanakis, 2012). Como ya se describió en el Capítulo 3, la industria de la pectina se ha desarrollado en el aprovechamiento de subproductos, especialmente en la utilización de materiales de desecho, siendo el orujo de manzana y las cáscaras de cítricos las principales fuentes industriales de pectina (Laurent y Boulenguer, 2003; May, 1997), aunque también puede obtenerse del procesamiento de frutas como durazno, mango, guayaba, papaya y maracuyá, las cuales son fuente de pectina y cuyos subproductos podrían ser aprovechados potencialmente (Schieber et al., 2001).

La pectina es un polisacárido ampliamente utilizado en gran variedad de alimentos, siendo considerado un ingrediente GRAS (Generalmente Reconocido Como Seguro) por la Food and Drug Administration (FDA) (FDA, 2016a) y es usado como agente gelificante, espesante y estabilizante en productos como mermeladas, helados y bebidas como yogurt y leche saborizada (May, 1997).

El uso de polisacáridos como la pectina en la formulación de películas comestibles ha sido muy difundido, siendo una matriz polimérica adecuada dado que reduce la tensión interfacial entre fases hidrofílicas e hidrofóbicas (Leroux et al., 2003) y además posee características importantes como biodegradabilidad, biocompatibilidad, comestibilidad, gelificación, permeabilidad selectiva a los gases, etc. (Espitia et al., 2014).

La elaboración de dichas películas a base de pectinas implica el aprovechamiento de las propiedades gelificantes de este polisacárido, las cuales dependen de su GE. Para el uso de pectina LM, es indispensable el uso de un agente entrecruzante, generalmente calcio, que permita la formación de una red de pectinato (Baümler et al., 2014). La gelificación de esta pectina se produce en presencia de iones calcio u otros iones metálicos divalentes (Díaz-Rojas et al., 2004; Fraeye et al., 2010). El entrecruzamiento se realiza con la formación de enlaces iónicos a través de puentes de calcio entre grupos carboxilos disociados (Thakur et al., 1997), involucrando interacciones electrostáticas entre los cationes y cavidades cargadas negativamente que están formadas por cadenas de polímero, donde se insertan los cationes. Esta estructura se conoce como “caja de huevo”, la cual es similar a la formada por los alginatos (Espitia et al., 2014; Fraeye et al., 2010). En la Figura 4.2 se

representa dicha estructura, observándose las cadenas de ácido galacturónico y los círculos oscuros en dirección al ion calcio que representan los átomos de oxígeno involucrados (Braccini y Pérez, 2001).



**Figura 4.2.** Representación esquemática del modelo “caja de huevo”. Fuente: Braccini y Pérez (2001).

La fuerza del gel de pectina es determinada por el número de zonas de unión eficaces, siendo mayor cuanto más alta sea la concentración de  $\text{Ca}^{+2}$  y menor cuando aumenta la temperatura y la acidez del medio (o el pH es menor a 3) (Nieto, 2009). Estos geles poseen altas permeabilidades al vapor de agua, actuando como “agentes de sacrificio” para prevenir la deshidratación (Soliva-Fortuny et al., 2011).

#### 4.2.3.2 El papel de los lípidos en las películas comestibles

Como ya se describió en la sección 4.2.1.1, el uso de material lipídico es una práctica antigua (Han y Gennadios, 2005). La mayoría de los lípidos son materiales comestibles, biodegradables y cohesivos que poseen características que permiten ser moldeados (Han y Gennadios, 2005). Dichos materiales son incorporados en la formulación de películas comestibles combinándose con proteínas y polisacáridos

debido a que por sí solos no forman una matriz resistente y autosoportada. Además, los lípidos imparten hidrofobicidad a las películas, considerándose barreras que limitan la migración de vapor de agua en los alimentos (Baldwin et al., 1997; Debeaufort y Voilley, 2009). Dicha migración tiene una marcada dependencia con la relación entre el material hidrofílico e hidrofóbico en la formulación y ocurre generalmente a través de la porción hidrofílica o polar de la película (Hernandez, 1994).

Una gran variedad de compuestos lipídicos podrían ser utilizados en la formulación de películas comestibles, la selección del compuesto a utilizar depende del objetivo de su aplicación (Tabla 4.2). Diversos estudios se han realizado investigando la incorporación de materiales lipídicos en la formulación para la elaboración de películas comestibles utilizadas en frutas y vegetales, observando algunas ventajas como el control de la deshidratación, el ataque de hongos, abrasión durante el procesamiento y el mejoramiento de la apariencia (brillo), siendo la cera de abejas, parafina, candelilla y carnauba las más utilizadas para este propósito (Baldwin et al., 1997; Debeaufort y Voilley, 2009; Garcia et al., 2000; Hagenmaier y Baker, 1994). Dichas ceras son consideradas como ingredientes GRAS por la FDA (FDA, 2016a) y se encuentran aprobadas por el Código Alimentario Argentino (CAA) para su utilización como aditivos alimentarios (CAA, 2013d) y como aditivos para materiales plásticos destinados a la elaboración de envases (CAA, 2013a). En lo que respecta a las ceras de girasol, no se encuentran explícitamente indicadas en el CAA pero sí implícitamente en el artículo 917 relativo a semillas comestibles (CAA, 2013b) y en el artículo 528 referente al aceite de girasol virgen (CAA, 2013c).

**Tabla 4.2.** Sustancias hidrofóbicas usadas como componentes de barrera en las películas comestibles.

<b>Aceites, grasas, manteca, margarina</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aceites y grasas de origen vegetal y animal (maní, coco, palma, cacao, mantequilla de leche, manteca de cerdo, sebo, etc.).</li> <li>• Aceites y grasas fraccionados, concentrados y/o reconstituidos (ácidos grasos, mono, di y triglicéridos, sustitutos de la manteca de cacao, etc.).</li> <li>• Aceites hidrogenados y transesterificados (margarina, manteca, etc.).</li> </ul>
<b>Ceras</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ceras vegetales y animales naturales: candelilla, carnauba, de abejas, jojoba.</li> <li>• Ceras sintéticas: parafina, minerales, microcristalinas, de polietileno oxidadas o no oxidadas.</li> </ul>
<b>Resinas naturales</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Asafoetida, Benjoin, Chicle, Guaraná, Myrrhe, Olibanum (incienso), Opoponax, Sandaraque, Styrax (Turquía).</li> </ul>
<b>Aceites esenciales</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alcanfor, menta y aceites esenciales de frutas cítricas.</li> </ul>
<b>Emulsionantes y agentes tensoactivos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lecitinas, mono y diglicéridos y sus ésteres.</li> <li>• Ésteres de ácidos grasos de sacarosa, alcoholes grasos, ácidos grasos.</li> </ul>

Fuente: Debeaufort y Voilley (2009)

#### 4.2.3.3 Plastificantes

Estos compuestos son muy utilizados en las formulaciones de películas comestibles, especialmente en las elaboradas con polisacáridos y proteínas (por interacciones presentes entre sus moléculas) (Cerqueira et al., 2012). Los plastificantes son compuestos de bajo peso molecular que disminuyen la temperatura de transición vítrea de los polímeros, pueden posicionarse entre las moléculas y separarlas entre sí para interferir en la interacción polímero-polímero, facilitando el movimiento molecular, aumentando la flexibilidad e interviniendo en las propiedades

mecánicas de la matriz (Baldwin y Hagenmaier, 2011; Budi Santosa y Padua, 1999; Han y Gennadios, 2005), pero también reduciendo las propiedades de barrera de las películas (Maftoonazad et al., 2007).

Como plastificantes ampliamente usados en las películas basadas en polisacáridos se encuentran el agua, mono, di y oligosacáridos, polioles (glicerol, sorbitol, etc.), lípidos y sus derivados (Suyatma et al., 2005), siendo el glicerol un subproducto importante de la producción de biodiesel y considerado como un ingrediente GRAS por parte de la FDA (FDA, 2016b). La selección del tipo de plastificante a usar requiere considerar su compatibilidad, eficiencia, estabilidad y economía (Janjarasskul y Krochta, 2010).

#### **4.2.4 Películas compuestas y sus metodologías de elaboración**

Teniendo en cuenta que las características finales de las películas comestibles compuestas dependen de la sinergia entre las propiedades que aporten sus ingredientes, se han desarrollado distintas metodologías para su elaboración, todas ellas encaminadas a facilitar su obtención y a mejorar la calidad de las mismas, investigando combinaciones de materiales lipídicos, los cuales aportan buenas propiedades de barrera a la transferencia de vapor de agua, con polisacáridos o proteínas, que forman una matriz de soporte (Pérez-Gago y Krochta, 2005).

Las películas compuestas pueden ser elaboradas como películas bicapa o a partir de emulsiones estables. En la primera, el lípido forma una segunda capa sobre otra de polisacárido o proteína; mientras que en la segunda, el lípido se dispersa y se atrapa en la matriz de proteína o polisacárido (Baümler et al., 2013). Las proteínas

son más apropiadas para esta técnica, dado que en el caso de los polisacáridos se requiere el uso de agentes emulsionantes (Pérez-Gago y Krochta, 2005). La industria de alimentos se ha enfocado en las películas emulsionadas, dado que requieren solo un paso en su fabricación, comparado con los dos pasos o más que implica la elaboración de las películas bicapa (Debeaufort y Voilley, 2009; Quezada Gallo et al., 2000).

Las propiedades mecánicas y de barrera se ven afectadas, en mayor o menor proporción por la distribución de las sustancias hidrofóbicas en las películas compuestas, obteniendo una barrera más eficaz cuánto más homogénea sea dicha distribución. Según los estudios realizados por Martin-Polo et al. (1992), Debeaufort et al. (1993) y Schultz et al. (1949), la eficacia de barrera al vapor de agua resultante de películas bicapa es a menudo del mismo orden de magnitud que la de los lípidos puros y es mucho más alta que la de las películas basadas en emulsión; sin embargo, cuando la capa hidrófila está en contacto con la fase húmeda, ésta tiende a absorber agua (Debeaufort y Voilley, 2009). Por otro lado, las películas bicapa tienden a deslaminarse, exhibiendo malas propiedades mecánicas en comparación con las presentadas por las películas en emulsión (Pérez-Gago y Krochta, 2005).

Una vez que la emulsión o solución formadora de película ha sido obtenida, uno de los métodos más usados para lograr la película final es el método de casting, el cual consiste en la disposición de la solución en una superficie plana y antiadherente, seguida de secado y posterior desprendimiento de la película (Mellinas et al., 2016). Este método puede realizarse en batch o continuo, siendo el primero muy útil en la preparación de películas a escala laboratorio, mientras que el segundo es

ampliamente usado a escala industrial. Ambos métodos, batch o continuo, se diferencian tanto en el volumen de solución como en el tiempo de secado (Espitia et al., 2014), considerando más práctico el método de casting continuo, el cual permite reducir los tiempos de secado a pocos minutos, formando rápidamente las películas y evitando la contaminación microbiana de las mismas (Du et al., 2011).

En los últimos años se ha visto un amplio progreso en la investigación en el campo de las películas, surgiendo desafíos que necesitan ser superados para permitir extender su uso en aplicaciones masivas y comerciales definitivas (Mellinas et al., 2016). Este campo es muy prometedor para mejorar la calidad y conservación de los alimentos durante su procesamiento, almacenamiento y distribución, debido a la amplitud de propiedades que poseen los materiales con los cuales se elaboran las películas comestibles y a su contribución para aliviar muchos de los problemas que surgen con los alimentos (Bourtoom, 2008). Dichos materiales son productos o subproductos de origen agrícola, los cuales son completamente renovables, biodegradables (Guilbert y Gontard, 2005), de amplia disponibilidad y se usan en pequeñas cantidades, aunque su costo sea mayor comparado con el de los materiales plásticos.

El estudio y conocimiento de los productos naturales y de sus fuentes renovables debe utilizarse de manera conjunta para el desarrollo de nuevas aplicaciones, nuevos materiales biodegradables y nuevos enfoques ambientales para el desarrollo o el refuerzo de nuevas tecnologías en el empaque o envasado de alimentos (Debeaufort et al., 1998), investigando formulaciones y métodos de elaboración para lograr películas con objetivos específicos.

## **4.3 METODOLOGÍA**

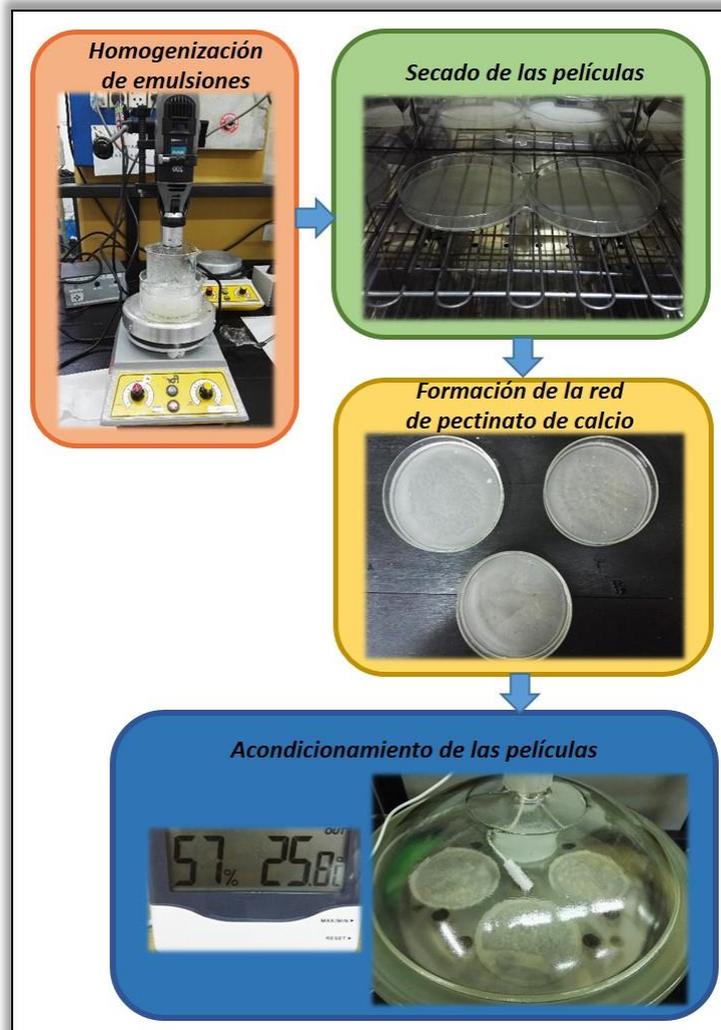
### **4.3.1 Materiales**

Para la elaboración de las películas comestibles se utilizaron las emulsiones preparadas con pectina y ceras de girasol descritas en el Capítulo 3. En el presente Capítulo se llamará P1 a las películas elaboradas con CP1 y P2 a las elaboradas con CP2. El glicerol adicionado fue provisto por Fisher Scientific (98-99% de pureza, reactivo grado analítico) y fue usado como plastificante. Las sales  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{NaBr}$  y  $\text{KNO}_3$  fueron obtenidas de J.T. Backer Inc. (Phillipsburg, NJ) (98-99% de pureza, reactivo grado analítico) y usadas como material entrecruzante ( $\text{CaCl}_2$ ) y para formar ambientes con humedades relativas conocidas ( $\text{NaBr}$  y  $\text{KNO}_3$ ).

### **4.3.2 Elaboración de películas**

El método de elaboración de las películas se inició con la preparación de las emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol descritas en el Capítulo 3, sección 3.3.2, adicionando a la emulsión 4% m/m de plastificante antes de añadir las ceras. Luego de elaborada la emulsión, aproximadamente 25 g de la misma fueron vertidos dentro de cajas de Petri de 10,5 cm de diámetro y secadas a 50 °C durante 20 horas. Posteriormente se agregaron aproximadamente 30 g de una solución 2% de  $\text{CaCl}_2$  con el fin de promover la reacción del calcio con el ácido galacturónico de la pectina y formar una red de pectinato de calcio. Una vez obtenidas las películas, éstas fueron enjuagadas tres veces con agua destilada para eliminar restos de calcio y luego separadas con cuidado de las cajas de Petri para evitar roturas. Teniendo en cuenta el promedio de humedad relativa anual de la ciudad de Bahía Blanca, las películas fueron almacenadas en desecadores sellados en una condición de humedad relativa similar a la ambiental: 57% HR (solución saturada de  $\text{NaBr}$ ) a 25 °C (Figura 4.3). Las

películas control (1%, 2% y 3% m/m de pectina) siguieron el mismo procedimiento descrito anteriormente con la excepción de que las ceras de girasol no fueron agregadas.



**Figura 4.3.** Diagrama de elaboración de películas comestibles de pectina y ceras de girasol.

### 4.3.3 Caracterización de las películas obtenidas

#### 4.3.3.1 Espesor

El espesor de las películas se obtuvo usando un micrómetro digital, el mismo fue posicionado en cinco zonas de las películas (una central y cuatro periféricas). Para

cada película se determinó el promedio del espesor y su respectiva desviación estándar. Este dato promedio fue usado para calcular la permeabilidad de vapor de agua.

#### 4.3.3.2 Microestructura

El análisis de la microestructura de las películas fue realizado con un microscopio electrónico de barrido (LEO EVO 40XVP, Cambridge, 2004). Las muestras se fijaron a un cubreobjeto y se cubrieron con una delgada capa de oro en un dispositivo de pulverización catódica. Las imágenes digitales fueron obtenidas a 5,0 kV usando 2000x de magnificación. Se tomaron fotografías transversales y de las superficies superior e inferior de las películas.

#### 4.3.3.3 Resistencia al agua

##### 4.3.3.3.1 Índice de swelling (IS)

De cada película se cortaron círculos de 2,5 cm de diámetro, los cuales fueron pesados ( $m_i$ ) y sumergidos en 100 mL de agua destilada (25 °C) en un sistema agitado durante 2 minutos. La muestra húmeda se secó cuidadosamente con un material absorbente para eliminar el exceso de agua de la superficie y se volvió a pesar ( $m_f$ ). El índice de swelling fue calculado como (Bigi et al., 2004):

$$IS (\%) = \frac{(m_f - m_i) * 100}{m_i} \quad (\text{Ec. 4.1})$$

Se realizaron tres determinaciones independientes por cada película reportándose el valor promedio acompañado de su desviación estándar.

#### 4.3.3.3.2 Absorción de agua (AG)

La habilidad de los films para absorber agua fue determinada midiendo el peso ganado de la película (expresado en porcentaje) después de ser almacenada a 95% HR (usando una solución saturada de  $\text{KNO}_3$  en agua destilada) en un desecador a 25 °C por dos semanas. La cantidad de agua absorbida fue calculada como (Liu et al., 2007):

$$AG (\%) = \frac{(P_f - P_0) * 100}{P_f} \quad (\text{Ec. 4.2})$$

Donde  $P_0$  es el peso de la muestra antes del experimento de absorción de agua y  $P_f$  es el peso después de dos semanas. Por cada película se efectuaron tres determinaciones independientes reportándose el valor promedio y su desviación estándar.

#### 4.3.3.3.3 Velocidad de transmisión de vapor de agua (VTVA) y Permeabilidad al vapor de agua (PVA)

La transferencia de vapor de agua a través de la película se determinó de acuerdo al método ASTM E-96 (ASTM, 1995); el mismo consistió en sellar herméticamente con la muestra de la película la boca de una celda de permeación que contenía agua (HR = 100%). La celda se colocó en un ambiente con temperatura y humedad relativa controladas (HR = 12%) generando así un gradiente de actividad de agua entre el interior y exterior de la celda. El peso de la celda se registró periódicamente para determinar el flujo de vapor de agua a través de la película, hasta alcanzar el equilibrio en las condiciones de ensayo. La velocidad de trasmisión de vapor de agua (VTVA) se obtuvo de la pendiente de la recta obtenida mediante una

regresión lineal de los datos experimentales del peso de la celda en función del tiempo (Ec. 4.3) y la permeabilidad de vapor de agua (PVA) se determinó por la Ec. 4.4.

$$VTVA = \frac{P}{t * A} \quad (\text{Ec. 4.3})$$

$$PVA = \frac{VTVA * x}{\Delta P} \quad (\text{Ec. 4.4})$$

Donde  $P$  es el incremento en peso (g),  $t$  es la duración del experimento (días),  $A$  es el área de permeación ( $32,17 \text{ cm}^2$ ),  $x$  es el espesor de la película (mm) y  $\Delta P$  es la diferencia de presión de vapor de agua a ambos lados de la película (kPa). Los ensayos de VTVA y PVA fueron realizados por duplicado.

#### 4.3.3.4 Propiedades mecánicas

La determinación de las propiedades mecánicas de las películas se basó en la técnica ASTM D882-91 (ASTM, 2010). Los ensayos de tracción se realizaron utilizando un texturómetro TA-Plus (Lloyds Instruments, UK). Se midió la fuerza requerida por el equipo para estirar a velocidad constante una muestra rectangular ubicada entre dos conjuntos de grampas paralelas. Las muestras se cortaron en tiras de 25,4 mm de ancho y 125 mm de longitud. Los extremos se ubicaron sobre rectángulos de cartulina mediante cinta doble adhesiva para mejorar la sujeción de las mordazas. En todos los ensayos, la separación inicial de las mordazas fue de 90 mm y su velocidad de separación o distanciamiento durante el ensayo fue de 20 mm/min. Se reportan los valores de porcentaje de elongación (%E), tensión de rotura (TS) y el módulo elástico o módulo de Young ( $Y$ ). Los ensayos fueron realizados por duplicado.

#### **4.3.3.5 Comportamiento térmico**

Se realizó por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) empleando un equipo Perkin Elmer Pyris I (USA). Las muestras, entre 5 y 15 mg, se ubicaron en celdas de aluminio cerradas herméticamente. Las mismas se equilibraron a 25 °C, manteniendo la temperatura por 2 min, luego se calentaron hasta 250 °C a una velocidad de 10 °C/min a fin de evaluar el comportamiento de fusión (Baümler et al., 2014). Se realizaron dos ensayos independientes de cada muestra.

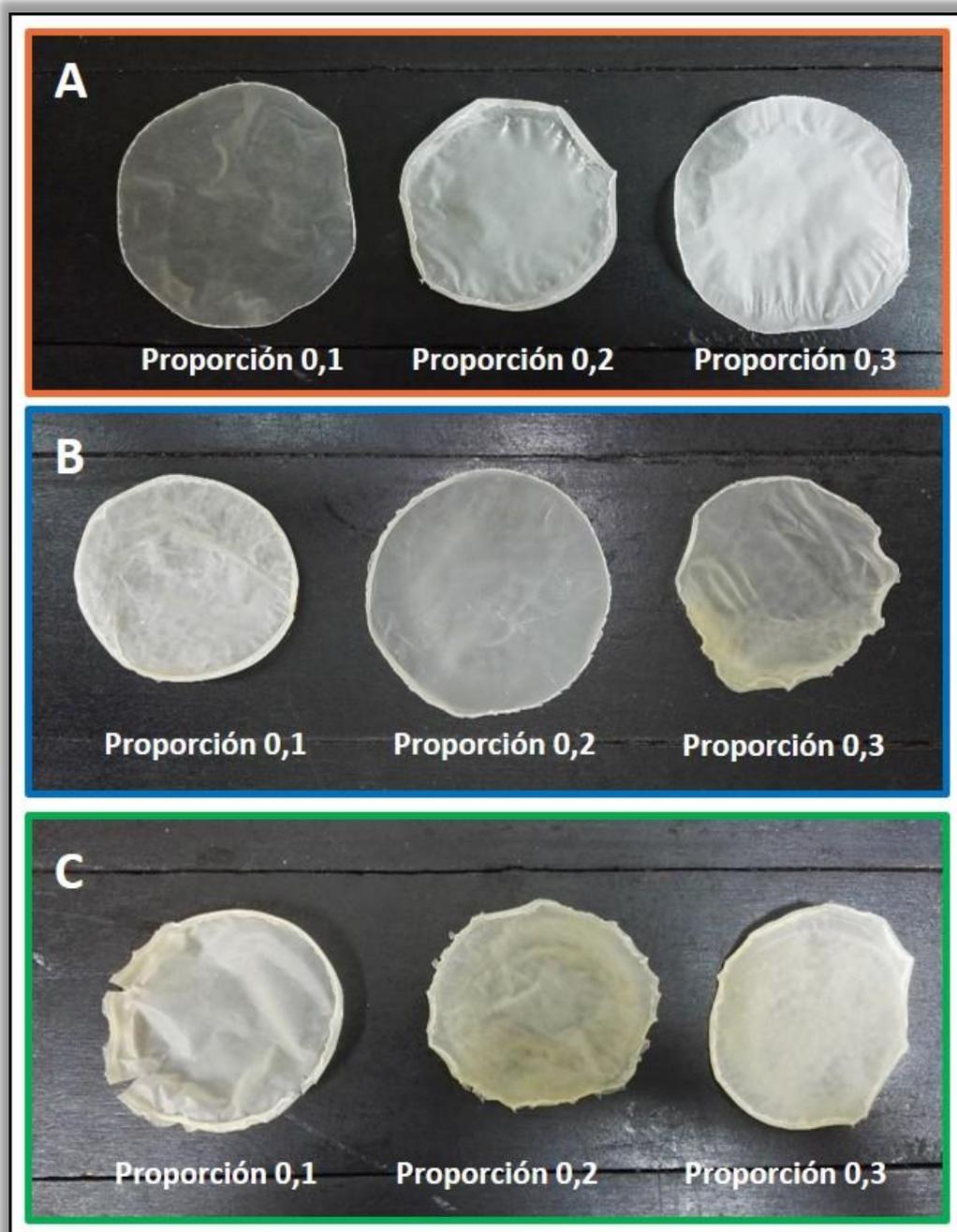
#### **4.3.3.6 Análisis estadístico**

Los resultados se expresaron como el valor medio de n determinaciones y fueron acompañados por su desviación estándar. Las diferencias significativas se analizaron mediante ANOVA doble y Test de Fisher ( $\alpha=0,05$ ), teniendo como factores el contenido de ceras de girasol y el contenido de pectina en las muestras. Se utilizó el software de análisis estadístico InfoStat Versión 2011 (Di Rienzo et al., 2011).

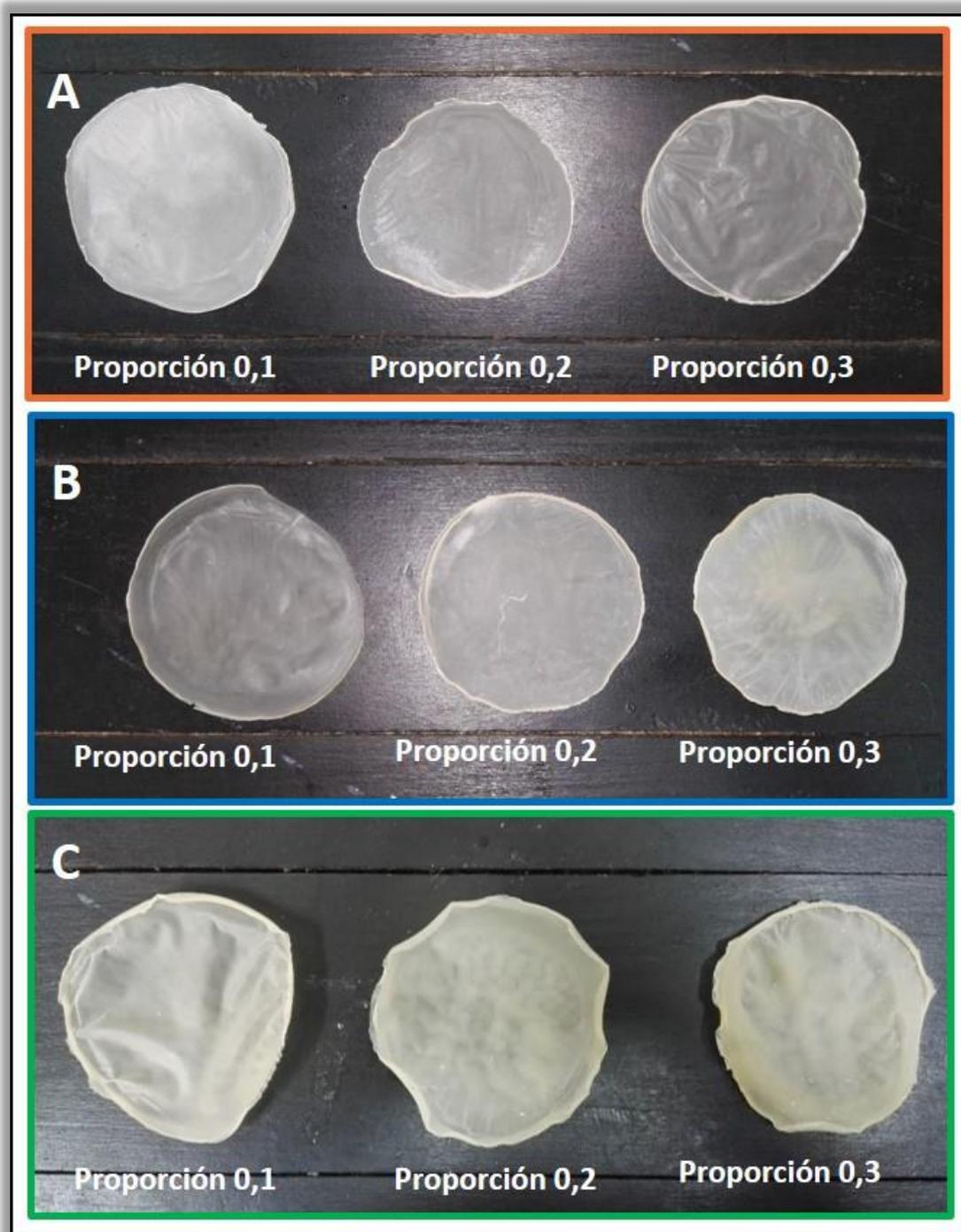
### **4.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En las Figuras 4.4 se presentan fotografías de las películas P1 obtenidas con adición de ceras CP1, en la Figura 4.5 se muestran las películas P2 elaboradas con ceras CP2 y en la Figura 4.6 A se adjuntan las fotografías de las películas control sin el agregado de ceras. Como descripción preliminar, en todas las películas la facilidad de manipulación fue disminuyendo a medida que el contenido de pectina y de ceras de girasol incrementó. Las películas con 1% m/m de pectina, con y sin agregado de ceras fueron separadas de las cajas de Petri con mayor dificultad que las demás, pero a su vez tuvieron un aspecto más uniforme junto con las elaboradas con 2% m/m de pectina. Como se puede observar en las Figuras 4.4 y 4.5 comparadas con el control

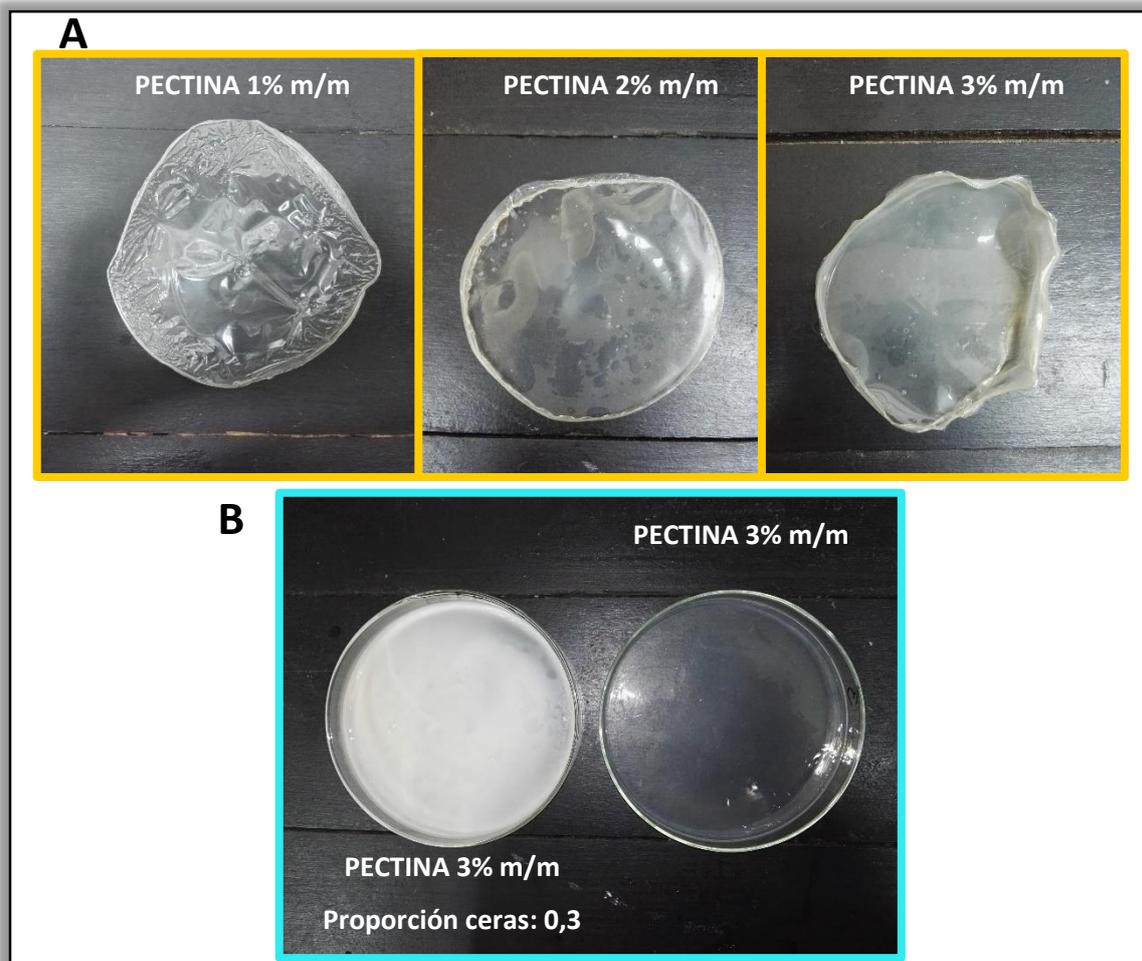
(Figura 4.6 A) y en la Figura 4.6 B, el nivel de opacidad aumentó con la adición de ceras de girasol. Las películas fueron conservadas en un ambiente de humedad determinado (HR = 57%), siendo las películas con mayor porcentaje de pectina (3% m/m) más duras y difíciles de manipular luego de su conservación.



**Figura 4.4.** Películas comestibles de pectina y ceras de girasol P1. **A.** Pectina 1% m/m **B.** Pectina 2% m/m **C.** Pectina 3% m/m.



**Figura 4.5.** Películas comestibles de pectina y ceras de girasol P2. **A.** Pectina 1% m/m **B.** Pectina 2% m/m **C.** Pectina 3% m/m.



**Figura 4.6.** A. Películas control de pectina. B. Comparación entre película control y película con adición de ceras de girasol.

#### 4.4.1 Espesor

En la Tabla 4.3 se muestran los resultados de la medición del espesor de las películas con agregado de ceras y de las películas control. Los valores obtenidos estuvieron entre 56,4 y 358,8  $\mu\text{m}$  para P1 y entre 49,2 y 303,2  $\mu\text{m}$  para P2, siendo mayores a los valores de espesor encontrados para las películas control en cada nivel de pectina (48,2 – 174,2  $\mu\text{m}$ ). Para todas las películas P1 y P2, se observó interacción entre los factores ( $p < 0,05$ ), por lo que el análisis fue particionado encontrando diferencias significativas ( $\alpha = 0,05$ ) en todos los casos. En todas las películas, el incremento en el contenido de pectina resultó en valores más altos de espesor

( $p \ll 0,01$ ). Teniendo como referencia los valores de espesor encontrados en las películas control, en todas las muestras se observa un aumento de los espesores promedio con el agregado de ceras de girasol, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas de dicho aumento cuando la proporción de ceras fue de 0,1, mientras que en proporción 0,3 se evidencia que las ceras de girasol tienen un efecto significativo en el espesor ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 4.3.** Espesor ( $\mu\text{m}$ ) de las películas P1, P2 y películas control.

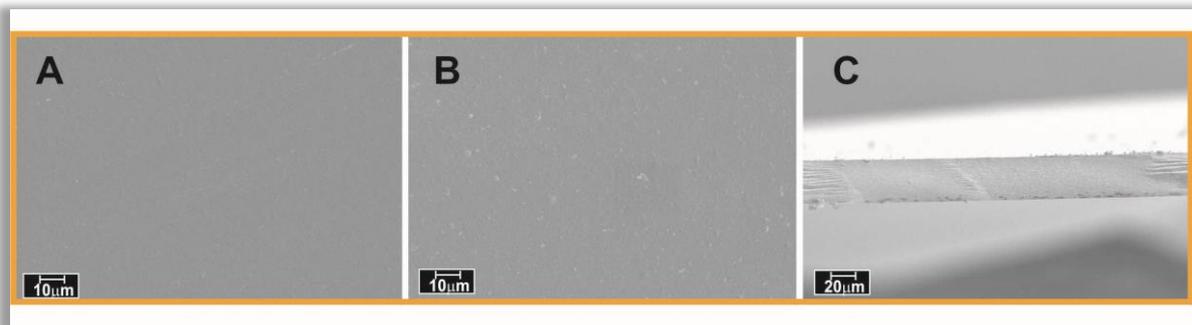
Pectina (% m/m)	Proporción de ceras de girasol (g ceras/g pectina)			
	Películas control	0,1	0,2	0,3
1	48,2 $\pm$ 15,1 <sup>a, A</sup>	56,4 $\pm$ 17,1 <sup>ab, A</sup>	64,2 $\pm$ 17,7 <sup>b, A</sup>	70,3 $\pm$ 20,9 <sup>b, A</sup>
2	100,8 $\pm$ 40,5 <sup>a, B</sup>	<b>P1</b> 119,2 $\pm$ 27,1 <sup>ab, B</sup>	134,6 $\pm$ 67,7 <sup>ab, B</sup>	158,5 $\pm$ 71,7 <sup>b, B</sup>
3	174,2 $\pm$ 45,5 <sup>a, C</sup>	175,4 $\pm$ 24,6 <sup>a, C</sup>	296,9 $\pm$ 83,8 <sup>b, C</sup>	358,8 $\pm$ 110,6 <sup>b, C</sup>
1	48,2 $\pm$ 15,1 <sup>a, A</sup>	49,2 $\pm$ 16,3 <sup>a, A</sup>	52,4 $\pm$ 11,2 <sup>a, A</sup>	79,2 $\pm$ 15,1 <sup>b, A</sup>
2	100,8 $\pm$ 40,5 <sup>a, B</sup>	<b>P2</b> 103,2 $\pm$ 18,8 <sup>a, B</sup>	133,1 $\pm$ 18,0 <sup>ab, B</sup>	148,9 $\pm$ 66,5 <sup>b, B</sup>
3	174,2 $\pm$ 45,5 <sup>a, C</sup>	219,3 $\pm$ 93,1 <sup>ab, C</sup>	269,2 $\pm$ 57,2 <sup>bc, C</sup>	303,2 $\pm$ 65,1 <sup>c, C</sup>

Valores medios  $\pm$  desviación estándar,  $n = 5$ . Valores en la misma fila seguidas por diferentes letras en minúscula (efecto adición de ceras) son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) por el Test de Fisher. Valores en la misma columna de la emulsión considerada seguidas por diferentes letras en mayúscula (efecto adición de pectina) son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) por el Test de Fisher.

Las desviaciones encontradas para los valores de espesor de las películas P1 y P2 están relacionadas con la existencia de diferencias entre las mediciones de una misma película y pueden deberse a la presencia de discontinuidades en las superficies de las mismas, especialmente cuando el contenido de ceras de girasol aumentó.

#### 4.4.2 Microestructura

La microestructura de las películas pudo ser observada mediante imágenes obtenidas por SEM. Fueron tomadas imágenes de la superficie superior (la superficie en contacto con el aire en el secado), inferior (superficie en contacto con el vidrio de las cajas de Petri) y de un corte transversal. La Figura 4.7 muestra las fotografías de una de las películas control (2% m/m de pectina sin ceras de girasol), debido a que en todas las concentraciones de pectina utilizadas se observaron imágenes similares. En las mismas se aprecia una superficie superior muy uniforme y homogénea (Figura 4.7 A), una superficie inferior con la presencia de algunas partículas que puede tratarse de cúmulos muy pequeños de pectina (Figura 4.7 B) y un corte transversal liso y plano (Figura 4.7 C).

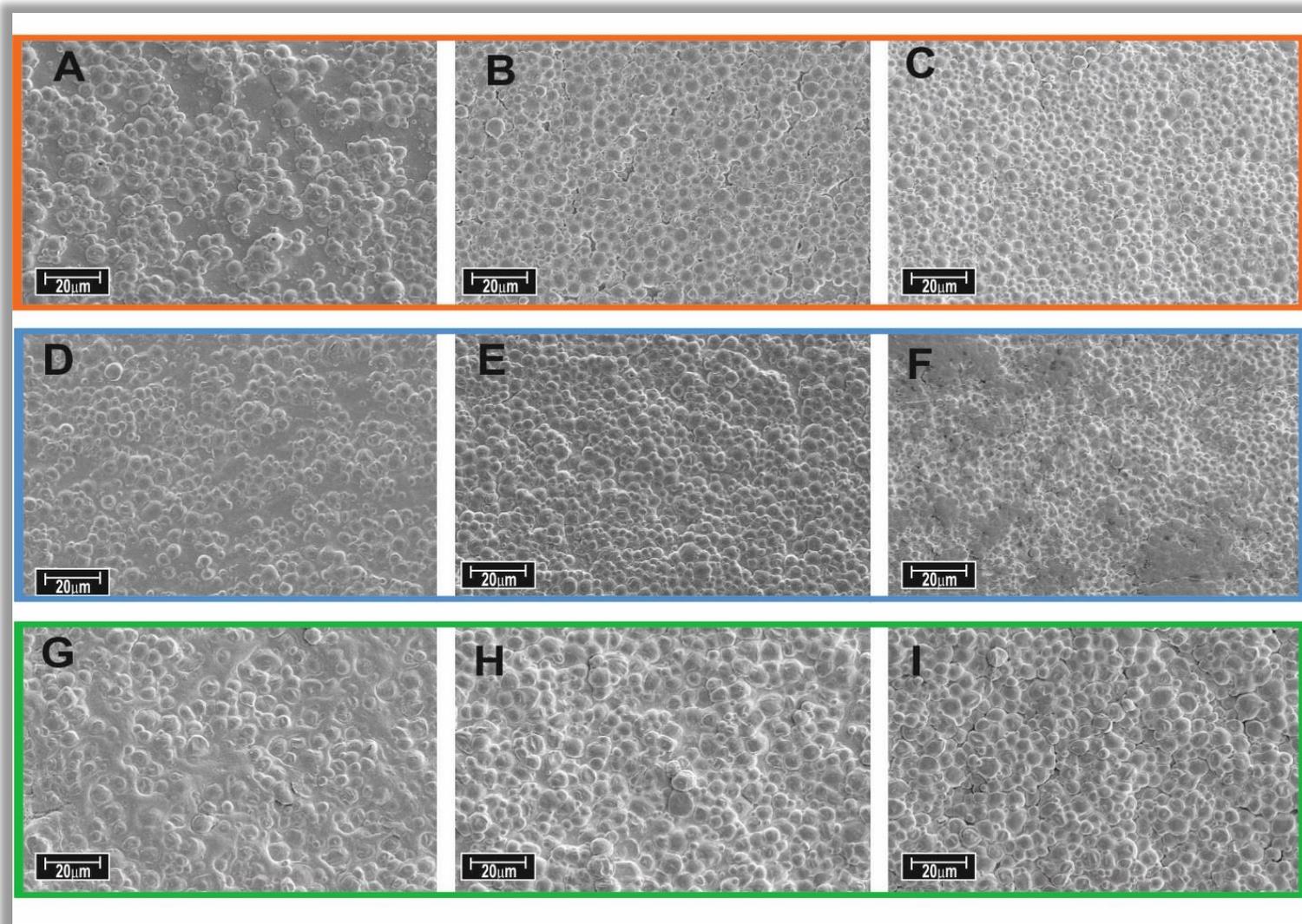


**Figura 4.7.** Fotografías SEM de las películas control elaboradas con 2% m/m de pectina. **A.** Superficie superior. **B.** Superficie inferior. **C.** Transversal.

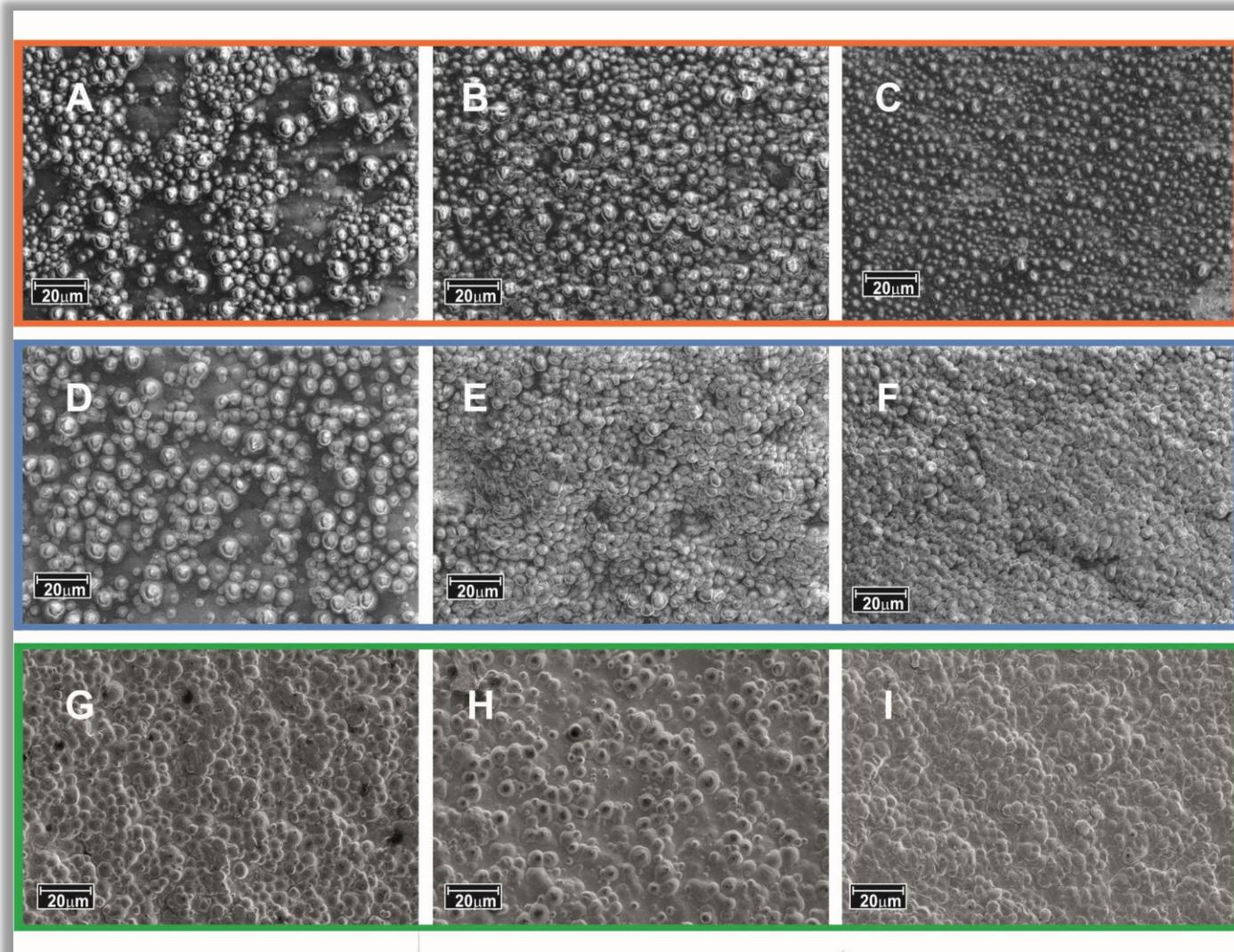
Las fotografías tomadas de la superficie superior de las películas P1 y P2 se muestran en la Figura 4.8 y 4.9, respectivamente. Las imágenes revelaron una superficie irregular, con la presencia de ceras en forma de pequeñas masas esféricas. En las películas con el porcentaje más bajo de pectina, se observan algunos espacios libres de ceras que corresponden a la matriz de soporte o pectina, mientras que a medida que el contenido de pectina aumentó y con éste la proporción de ceras, se

observa la formación de cúmulos de ceras sin la presencia de espacios libres en la superficie superior.

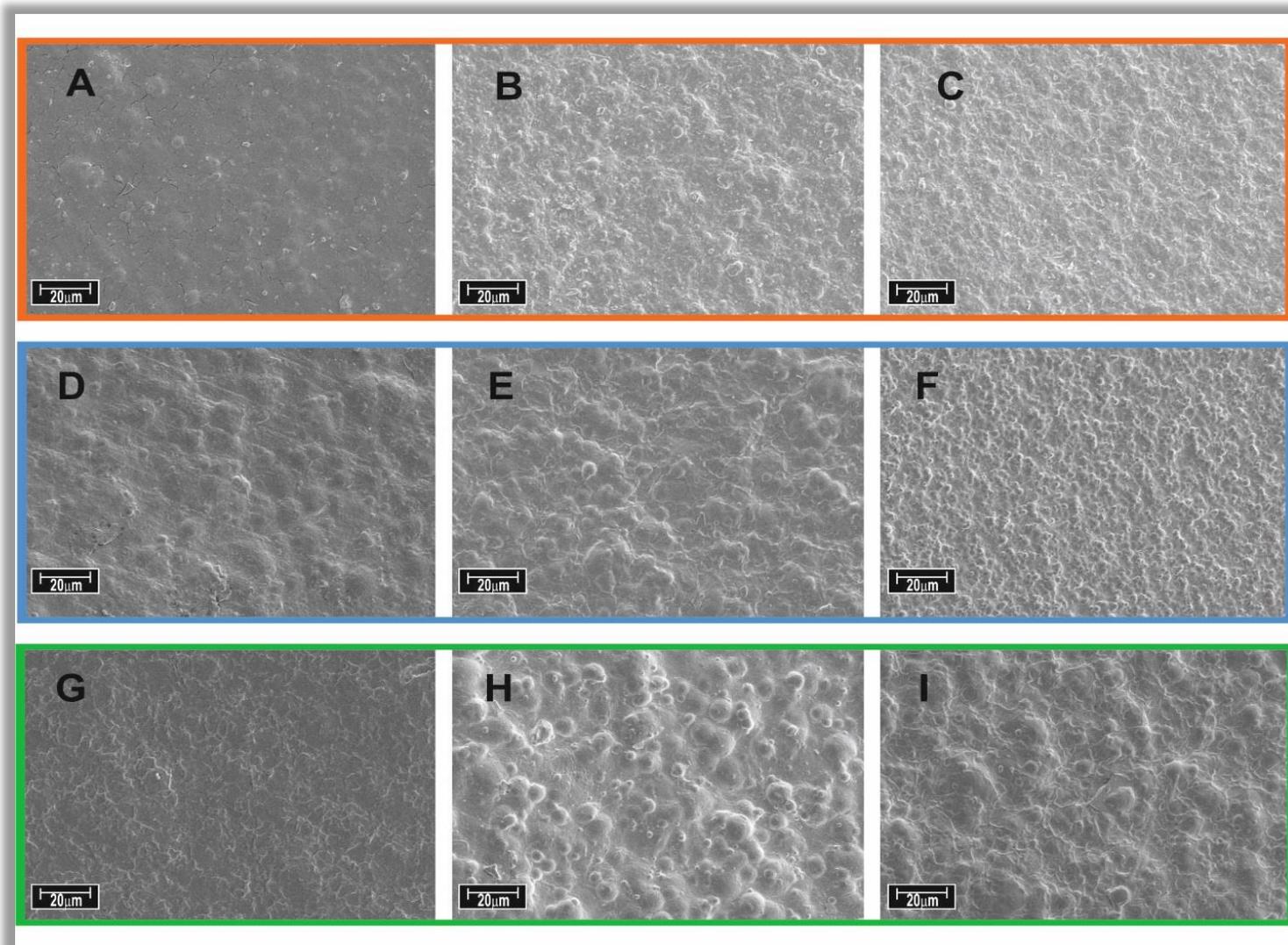
En las Figuras 4.10 y 4.11 se muestran las fotografías de la superficie inferior de las películas P1 y P2. Esta superficie se mostró menos irregular pero también con la presencia más notoria de ceras en forma de masas esféricas a medida que su contenido aumentó. En las Figuras 4.12 y 4.13 se presentan las imágenes SEM de los cortes transversales de las películas P1 y P2, observándose en general la presencia de ceras depositadas hacia la superficie superior. Además, al aumentar el contenido de las mismas, se puede observar que se distribuyeron y dispersaron en las zonas del medio e inferior de las películas. Estas observaciones contrastan con la Figura 4.7 C dado que se evidencian irregularidades por el contenido de ceras de girasol que ocupan espacios y favorecen el aumento en el espesor de las películas



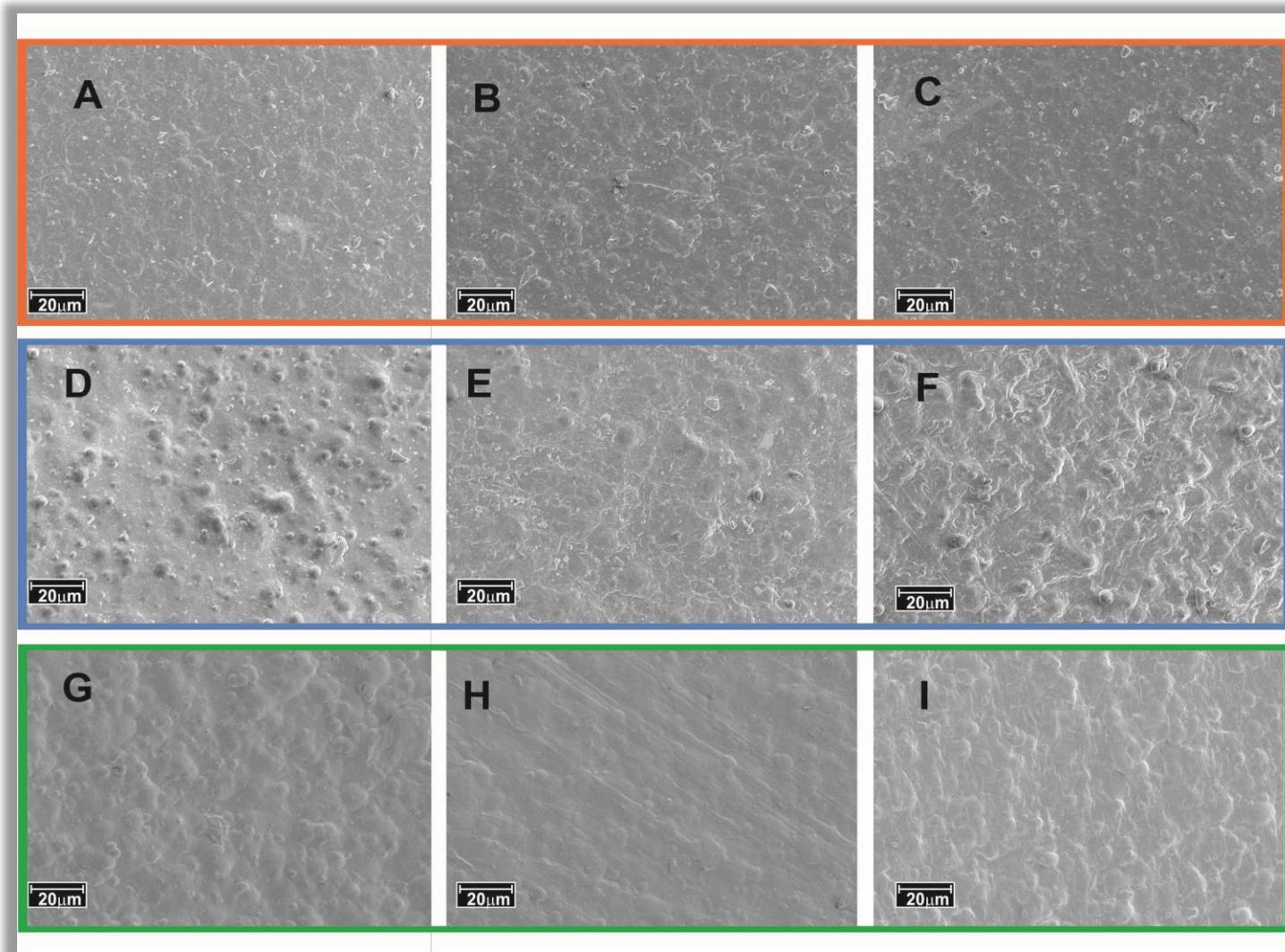
**Figura 4.8.** Fotografías SEM de las películas P1. Superficie superior. % m/m pectina – proporción de ceras **A.** 1 - 0,1; **B.** 1 - 0,2; **C.** 1 - 0,3; **D.** 2 - 0,1; **E.** 2 - 0,2; **F.** 2 - 0,3; **G.** 3 - 0,1; **H.** 3 - 0,2; **I.** 3 - 0,3.



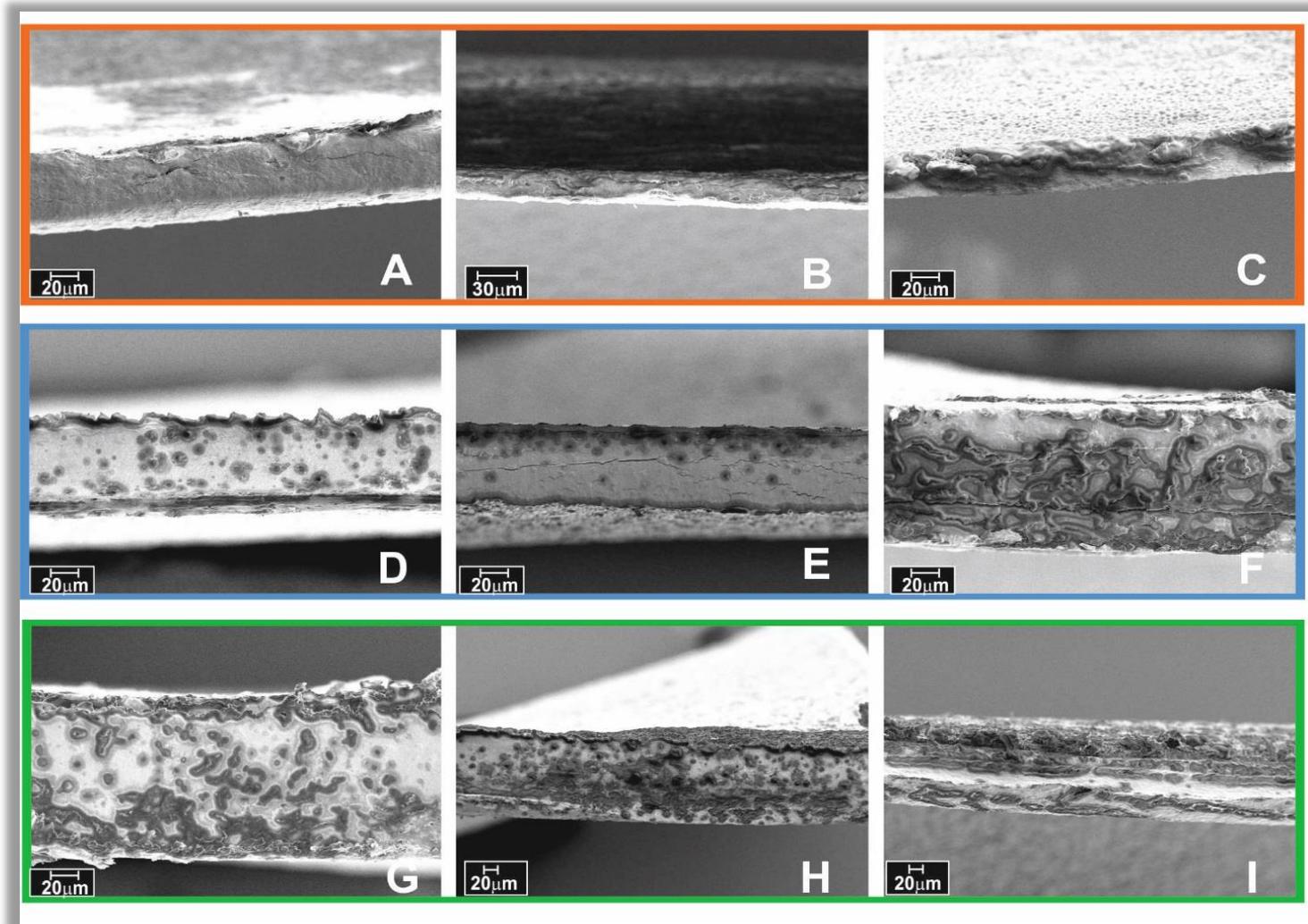
**Figura 4.9.** Fotografías SEM de las películas P2. Superficie superior. % m/m pectina – proporción de ceras **A.** 1 - 0,1; **B.** 1 - 0,2; **C.** 1 - 0,3; **D.** 2 - 0,1; **E.** 2 - 0,2; **F.** 2 - 0,3; **G.** 3 - 0,1; **H.** 3 - 0,2; **I.** 3 - 0,3.



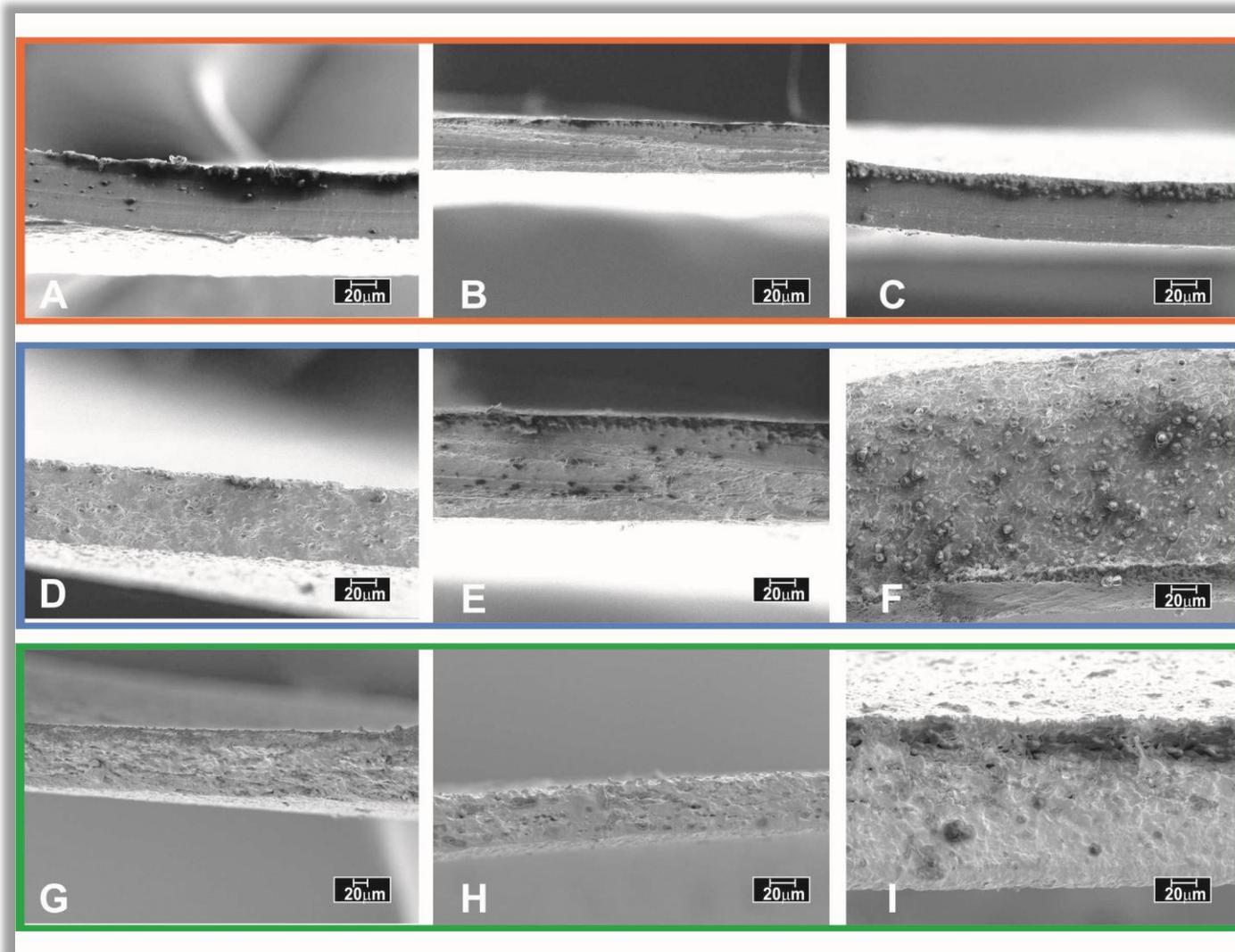
**Figura 4.10.** Fotografías SEM de las películas P1. Superficie inferior. % m/m pectina – proporción de ceras **A.** 1 - 0,1; **B.** 1 - 0,2; **C.** 1 - 0,3; **D.** 2 - 0,1; **E.** 2 - 0,2; **F.** 2 - 0,3; **G.** 3 - 0,1; **H.** 3 - 0,2; **I.** 3 - 0,3.



**Figura 4.11.** Fotografías SEM de las películas P2. Superficie inferior. % m/m pectina – proporción de ceras **A.** 1 - 0,1; **B.** 1 - 0,2; **C.** 1 - 0,3; **D.** 2 - 0,1; **E.** 2 - 0,2; **F.** 2 - 0,3; **G.** 3 - 0,1; **H.** 3 - 0,2; **I.** 3 - 0,3.



**Figura 4.12.** Fotografías SEM de las películas P1. Transversal. % m/m pectina – proporción de ceras **A.** 1 - 0,1; **B.** 1 - 0,2; **C.** 1 - 0,3; **D.** 2 - 0,1; **E.** 2 - 0,2; **F.** 2 - 0,3; **G.** 3 - 0,1; **H.** 3 - 0,2; **I.** 3 - 0,3.



**Figura 4.13.** Fotografías SEM de las películas P2. Transversal. % m/m pectina – proporción de ceras **A.** 1 - 0,1; **B.** 1 - 0,2; **C.** 1 - 0,3; **D.** 2 - 0,1; **E.** 2 - 0,2; **F.** 2 - 0,3; **G.** 3 - 0,1; **H.** 3 - 0,2; **I.** 3 - 0,3.

Respecto al método de elaboración, y relacionando las fotografías SEM con el análisis de estabilidad de las emulsiones presentado en el Capítulo 3, sección 3.4, primero se observa que en la etapa de secado de las películas el material lipídico tiende a migrar hacia la parte superior (fenómeno de cremado) debido a la diferencia de densidad entre dicho material y la matriz de pectina, formando una capa de interfase no muy definida. A medida que los contenidos de pectina y ceras aumentaron, las ceras se fueron distribuyendo en la zona del medio de las películas formando partículas con mayor tamaño (fenómeno de coalescencia). Sin embargo, en general se observa una buena dispersión del material lipídico en el área transversal de la película, especialmente cuando los contenidos de pectina y de ceras fueron mayores, lo cual limitaría la migración de agua a través la matriz hidrofílica continua y cuya “tortuosidad aparente”, originada por la fase lipídica dispersa en dicha matriz, influiría en las propiedades de barrera y resistencia al agua de las películas (Morillon et al., 2002).

#### **4.4.3 Resistencia al agua**

##### **4.4.3.1 Índice de Swelling (IS)**

Los valores de índice de swelling (IS%) de las películas se muestran en la Tabla 4.4. El tiempo de medición del IS (2 minutos) fue suficiente para inducir el swelling o hinchamiento en todas las películas. No se encontraron diferencias significativas entre los valores de IS de las películas control (1, 2 y 3% m/m de pectina), pero estos valores sí fueron estadísticamente menores a los valores de IS observados en las películas P1 con proporción de ceras de 0,1 y mayores a P2 en todas las proporciones de ceras, siguiendo luego una tendencia de disminución con el agregado de ceras. En todas las

películas se observaron interacciones entre los factores ( $p \ll 0,01$ ), por lo cual el análisis fue particionado, encontrando diferencias significativas con el contenido de pectina y el contenido de ceras. El incremento en el contenido de pectina resultó en valores menores de IS. La pectina es una sustancia hidrófila y, como se describió en la sección 4.2.3.1 del presente capítulo, la formación del gel para pectina de bajo metoxilo implica la interacción electrostática con iones  $\text{Ca}^{+2}$  (generación de sitios de entrecruzamiento o reticulación), quedando algunos grupos  $\text{OH}^-$  libres para formar puentes hidrógeno con el agua y generar su retención (Baümler et al., 2014). Según lo analizado por Sriamornsak y Kennedy (2008), la reducción en el grado de reticulación en la formación del gel conduce a una menor fuerza de retracción, permitiendo absorber más agua y, por tanto, lograr un mayor hinchamiento de las películas de pectina. Partiendo de este análisis, con el aumento en la cantidad de pectina entrecruzada con  $\text{Ca}^{+2}$  se logra tener más sitios de reticulación y, por tanto disminuir los valores de IS. Así mismo, las ceras de girasol pueden interactuar con la red de pectinato confiriendo su carácter hidrofóbico y resultando en una menor interacción entre las moléculas de agua y la matriz polimérica y una disminución en el volumen de las mismas.

**Tabla 4.4.** Índice de swelling (%) de las películas P1, P2 y películas control.

Pectina (% m/m)	Proporción de ceras de girasol (g ceras/g pectina)			
	Películas control	0,1	0,2	0,3
1	103,36 ± 7,20 <sup>a, A</sup>	130,62 ± 12,50 <sup>b, B</sup>	112,84 ± 5,86 <sup>a, B</sup>	112,55 ± 8,51 <sup>a, B</sup>
2	95,17 ± 9,70 <sup>a, A</sup>	<b>P1</b> 115,93 ± 10,00 <sup>b, B</sup>	91,88 ± 13,34 <sup>a, A</sup>	81,51 ± 2,20 <sup>a, A</sup>
3	87,77 ± 7,23 <sup>b, A</sup>	89,80 ± 3,26 <sup>b, A</sup>	83,01 ± 2,80 <sup>ab, A</sup>	75,54 ± 2,46 <sup>a, A</sup>
1	103,36 ± 7,20 <sup>d, A</sup>	93,61 ± 4,98 <sup>c, B</sup>	82,23 ± 1,95 <sup>b, B</sup>	53,94 ± 4,31 <sup>a, B</sup>
2	95,17 ± 9,70 <sup>c, A</sup>	<b>P2</b> 77,78 ± 5,14 <sup>b, AB</sup>	54,84 ± 3,93 <sup>a, A</sup>	46,13 ± 7,05 <sup>a, B</sup>
3	87,77 ± 7,23 <sup>c, A</sup>	71,76 ± 11,85 <sup>b, A</sup>	61,96 ± 7,67 <sup>b, A</sup>	29,45 ± 3,57 <sup>a, A</sup>

Valores medios ± desviación estándar, n = 3. Valores en la misma fila seguidas por diferentes letras en minúscula (efecto adición de ceras) son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). Valores en la misma columna seguidas por diferentes letras en mayúscula (efecto adición de pectina) son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

#### 4.4.3.2 Absorción de agua (AG)

Los valores de AG (%) obtenidos para las películas se muestran en la Tabla 4.5. Los mismos estuvieron en un rango de 17,77 y 35,27 % para P1, 13,22 y 27,66 % para P2 y 19,81 y 29,93% para las películas control. El análisis estadístico reveló interacción entre los factores ( $p < 0,01$ ), debido a esto el análisis fue particionado, observándose en todas las películas, diferencias significativas entre el contenido de pectina y el contenido de ceras. Los valores de AG encontrados para las películas control fueron menores a medida que el contenido de pectina aumentó, obteniéndose diferencias significativas cuando el contenido de pectina fue de 3%. De la misma manera, en las tres proporciones de ceras agregadas, tanto para P1 como para P2, el incremento en el contenido de pectina resultó en valores más bajos de AG, siendo resultados consistentes con lo

obtenido en la medición de índice de swelling (Tabla 4.4) e indicando que a mayor grado de reticulación, cuando aumenta la cantidad de pectina, la absorción de agua disminuye (Sriamornsak y Kennedy, 2008).

**Tabla 4.5.** Absorción de agua (%) de las películas P1, P2 y películas control.

Pectina (% m/m)	Proporción de ceras de girasol (g ceras/g pectina)			
	Películas control	0,1	0,2	0,3
<b>1</b>	29,93 ± 2,06 <sup>a, B</sup>	35,27 ± 3,70 <sup>a, B</sup>	32,21 ± 3,72 <sup>a, A</sup>	34,10 ± 1,71 <sup>a, C</sup>
<b>2</b>	26,29 ± 2,02 <sup>a, B</sup>	<b>P1</b> 32,91 ± 1,47 <sup>b, B</sup>	25,98 ± 4,69 <sup>a, A</sup>	25,36 ± 2,02 <sup>a, B</sup>
<b>3</b>	19,81 ± 3,07 <sup>a, A</sup>	19,20 ± 0,94 <sup>a, A</sup>	25,64 ± 1,68 <sup>b, A</sup>	17,77 ± 3,29 <sup>a, A</sup>
<b>1</b>	29,93 ± 26,29 <sup>b, B</sup>	26,41 ± 3,94 <sup>b, B</sup>	27,66 ± 1,57 <sup>b, C</sup>	20,29 ± 0,85 <sup>a, A</sup>
<b>2</b>	26,29 ± 2,02 <sup>b, B</sup>	<b>P2</b> 25,64 ± 1,79 <sup>b, B</sup>	22,49 ± 3,10 <sup>ab, B</sup>	20,49 ± 1,28 <sup>a, A</sup>
<b>3</b>	19,81 ± 3,07 <sup>b, A</sup>	13,22 ± 0,80 <sup>a, A</sup>	17,96 ± 1,50 <sup>b, A</sup>	18,70 ± 3,18 <sup>b, A</sup>

Valores medios ± desviación estándar, n = 3. Valores en la misma fila seguidas por diferentes letras en minúscula (efecto adición de ceras) son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). Valores en la misma columna seguidas por diferentes letras en mayúscula (efecto adición de pectina) son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

El efecto del agregado de ceras de girasol en la capacidad de absorción de agua de las películas no fue significativo en películas P1 elaboradas con 1% m/m de pectina, donde a pesar que el valor promedio de AG en la película control fue menor, éste no difiere estadísticamente de los valores obtenidos cuando la cantidad de ceras de girasol aumentó. Respecto a las películas P1 elaboradas con 2 y 3% m/m de pectina, se observan valores significativamente diferentes y mayores al control en las proporciones de 0,1 y 0,2 de ceras respectivamente ( $p < 0,05$ ). Los valores de AG en las películas

control fueron mayores a los encontrados en P2 con 1 y 2% m/m de pectina. Las películas P2 con 3% m/m de pectina se comportaron de manera diferente, el agregado de ceras en una proporción de 0,1 produjo una reducción de AG para luego nuevamente igualar al control en el sucesivo agregado de ceras.

#### **4.4.3.3 Velocidad de transmisión de vapor de agua (VTVA) y Permeabilidad al vapor de agua (PVA)**

Los valores de velocidad de transmisión de vapor de agua (VTVA) y permeabilidad al vapor de agua (PVA) se muestran en la Tabla 4.6.

Respecto a VTVA, el análisis estadístico de los datos en las películas P1 y P2 reveló interacción entre los factores, por lo cual el análisis fue particionado. Se observaron diferencias significativas entre el contenido de pectina y el contenido de ceras ( $p \ll 0,01$ ). El aumento de la cantidad de pectina en las películas control no tuvo un efecto significativo en los valores de VTVA ( $p > 0,05$ ), en contraste a lo observado para las películas P1 y P2, en las cuales el incremento en el contenido de pectina resultó en menores valores de VTVA ( $p < 0,01$ ).

**Tabla 4.6.** Velocidad de transmisión de vapor de agua (VTVAx10<sup>2</sup> g/día cm<sup>2</sup>) y permeabilidad al vapor de agua (PVAx10<sup>3</sup> g mm/kPa día cm<sup>2</sup>) de las películas P1, P2 y películas control.

Pectina (% m/m)	Proporción de ceras de girasol (g ceras/g pectina)			
	Películas control	0,1	0,2	0,3
<b>VTVA</b>				
1	8,64 ± 0,15 <sup>a, A</sup>	11,08 ± 1,27 <sup>b, B</sup>	8,77 ± 0,11 <sup>a, C</sup>	8,07 ± 0,00 <sup>a, B</sup>
2	8,73 ± 0,24 <sup>c, A</sup>	<b>P1</b> 6,92 ± 0,52 <sup>b, A</sup>	6,43 ± 0,04 <sup>b, B</sup>	5,71 ± 0,16 <sup>a, A</sup>
3	8,85 ± 0,15 <sup>b, A</sup>	5,69 ± 0,30 <sup>a, A</sup>	5,42 ± 0,05 <sup>a, A</sup>	5,30 ± 0,14 <sup>a, A</sup>
1	8,64 ± 0,15 <sup>a, A</sup>	8,67 ± 0,24 <sup>a, B</sup>	8,78 ± 0,03 <sup>a, B</sup>	8,75 ± 0,58 <sup>a, B</sup>
2	8,73 ± 0,24 <sup>b, A</sup>	<b>P2</b> 8,80 ± 1,43 <sup>b, B</sup>	8,39 ± 0,33 <sup>ab, B</sup>	8,08 ± 0,15 <sup>a, B</sup>
3	8,85 ± 0,15 <sup>d, A</sup>	7,34 ± 0,43 <sup>c, A</sup>	6,63 ± 0,03 <sup>b, A</sup>	5,59 ± 0,15 <sup>a, A</sup>
<b>PVA</b>				
1	1,96 ± 0,03 <sup>ab, A</sup>	2,42 ± 0,05 <sup>c, A</sup>	2,22 ± 0,22 <sup>bc, A</sup>	1,84 ± 0,09 <sup>a, A</sup>
2	6,98 ± 0,19 <sup>b, B</sup>	<b>P1</b> 3,20 ± 0,06 <sup>a, A</sup>	2,67 ± 0,86 <sup>a, A</sup>	2,48 ± 0,29 <sup>a, A</sup>
3	7,53 ± 0,12 <sup>b, C</sup>	3,61 ± 0,17 <sup>a, A</sup>	5,64 ± 0,23 <sup>b, B</sup>	5,64 ± 0,94 <sup>b, B</sup>
1	1,96 ± 0,03 <sup>a, A</sup>	1,78 ± 0,05 <sup>a, A</sup>	1,83 ± 0,00 <sup>a, A</sup>	2,53 ± 0,39 <sup>b, A</sup>
2	6,98 ± 0,19 <sup>c, B</sup>	<b>P2</b> 3,30 ± 0,03 <sup>a, AB</sup>	4,07 ± 0,48 <sup>b, B</sup>	4,63 ± 0,06 <sup>b, B</sup>
3	7,53 ± 0,12 <sup>a, C</sup>	6,03 ± 2,23 <sup>a, B</sup>	6,55 ± 0,12 <sup>a, C</sup>	6,91 ± 0,03 <sup>a, C</sup>

Valores medios ± desviación estándar, n = 2. Valores en la misma fila seguidas por diferentes letras en minúscula (efecto adición de ceras) son significativamente diferentes (p<0,05). Valores en la misma columna seguidas por diferentes letras en mayúscula (efecto adición de pectina) son significativamente diferentes (p<0,05).

Las películas control elaboradas con 2 y 3% m/m de pectina, presentaron mayores velocidades de transferencia de vapor de agua a las encontradas para P1 y P2 especialmente cuando la proporción de ceras se incrementó, observándose una tendencia de disminución de los valores medios con dicho incremento ( $p < 0,05$ ). Por el contrario, en películas con 1% m/m de pectina el efecto de la adición de ceras no fue significativo ( $p = 0,9356$ ), exceptuando el comportamiento de la película P1 y proporción 0,1 donde la velocidad de migración de vapor de agua fue mayor. Estos resultados de VTVA en las películas de pectina y ceras de girasol están relacionados con la estructura observada por SEM. En la Figura 4.8 A se observa que en la película P1 elaborada con 1% m/m de pectina y proporción 0,1 de ceras aparecen zonas libres de ceras en la parte superior, lo cual contribuye a incrementar la migración de vapor de agua hacia el entorno. En las películas restantes, las buenas distribuciones y dispersiones del material lipídico observadas en las Figuras 4.12 y 4.13 influyen en la disminución de la velocidad de migración a medida que el contenido de pectina y de ceras se incrementó, lo que confirma la “tortuosidad” en el camino que deben recorrer las moléculas de agua a la hora de atravesar la película y que es originada por el material lipídico presente.

El rango de valores encontrados para PVA estuvo entre  $1,84 \times 10^{-3}$  y  $5,64 \times 10^{-3}$  g mm/kPa día cm<sup>2</sup> para P1 y entre  $1,78 \times 10^{-3}$  y  $6,91 \times 10^{-3}$  g mm/kPa día cm<sup>2</sup> para P2. El análisis estadístico de los datos encontró interacción entre los factores ( $p \ll 0,01$ ), por lo cual dicho análisis fue particionado. En todas las películas el aumento en el contenido de pectina significó un incremento en los valores de PVA ( $p \ll 0,01$ ), a

excepción de lo encontrado en P1 con proporción 0,1 de ceras donde el efecto del aumento en el contenido de pectina no fue significativo ( $p = 0,4902$ ).

En los niveles de pectina de 2 y 3 % m/m, la permeabilidad al vapor de agua en las películas control fue mayor en comparación a lo hallado con el agregado de ceras, exceptuando el caso de películas P1 con 1% m/m de pectina, las cuales exhiben el mismo comportamiento descrito en el análisis de VTVA. Los valores medios de permeabilidad de P1 con 1 y 2 % m/m de pectina disminuyeron el aumento en la proporción de ceras, aunque este efecto fue significativo estadísticamente sólo en las películas con 1% m/m de pectina ( $p < 0,05$ ), resultados similares a los reportados por Baumler et al. (2014). En P1 con 3% m/m de pectina y en P2 con 1 y 2% m/m de pectina, se aprecia un aumento estadísticamente significativo en la permeabilidad con la adición de ceras, en cuyo caso podría atribuirse a la representativa influencia del aumento del espesor en estas muestras (Tabla 4.3), independientemente de los valores de VTVA.

El análisis anterior conlleva a evaluar los factores que pueden afectar las propiedades de barrera en películas comestibles y de acuerdo a las revisiones realizadas por Morillon et al. (2002), estos factores pueden ser categorizados en dos grupos: uno relacionado con la composición y otro con la estructura de las películas. Dentro del primer grupo se encuentran la concentración y naturaleza química de los componentes; y dentro del segundo se encuentra el espesor de las películas. En el análisis de los resultados de permeabilidad de las películas elaboradas en el presente Capítulo son los factores más relevantes que tendremos en consideración.

Respecto a la naturaleza química del material lipídico, las ceras son consideradas las sustancias más eficientes en la reducción de la permeabilidad al vapor de agua por su alta hidrofobicidad causada por su composición (Morillon et al., 2002). La interacción de las ceras con las moléculas de agua es muy baja, la estructura polar (hidrofílica) presente en los ésteres de cera, representada por el grupo carboxilo (COOH) de los ácidos grasos que los componen, se encuentra enterrada dentro de la molécula y enmascarada por largas cadenas de hidrocarburos (hidrofóbica), lo que contribuye a la alta hidrofobicidad de las ceras. Dichas interacciones casi despreciables de estas moléculas con el agua son las responsables de que los ésteres de alcoholes y ácidos grasos no se extiendan en la superficie del agua (Kester y Fennema, 1989).

En los componentes lipídicos que forman parte de las películas comestibles, la longitud de su cadena modifica las propiedades de barrera de las mismas. La diferencia de los valores de velocidad de transferencia de vapor de agua (VTVA) entre las películas P1 y P2 se puede atribuir a la divergencia en la composición de ácidos grasos entre las ceras de girasol CP1 y CP2 reportadas en el Capítulo 2, sección 2.4.3 (Tabla 2.13). Muchos autores han mostrado que los ácidos grasos insaturados son menos eficientes en el control de la migración de vapor de agua debido a su naturaleza más polar comparada con los ácidos grasos saturados como el ácido palmítico (C16:0) y esteárico (C18:0) (Hagenmaier y Baker, 1997; Kamper y Fennema, 1984; Park et al., 1994; Srinivasa et al., 2007). Teniendo en cuenta este análisis, la velocidad de transferencia de vapor de agua en películas P2 con 2 y 3% m/m de pectina fueron mayores a las encontradas en P1 con el mismo contenido de pectina, lo cual puede atribuirse a que las

ceras CP2 (que conforman las películas P2) poseen mayor contenido de ácidos grasos insaturados, especialmente ácido oleico (C18:1) comparado a CP1, las cuales por su parte poseen mayor contenido de ácido palmítico (C16:0).

La concentración del componente hidrofóbico en la película es un factor clave en la eficiencia de las propiedades de barrera. Estudios realizados por Hagenmaier y Baker (1994) indicaron que el incremento de la cantidad de cera de carnauba aumenta la eficiencia de barrera contra la transferencia de vapor de agua. Sin embargo es necesario que este componente se encuentre distribuido de manera homogénea en la matriz con el fin de disminuir los espacios y evitar grietas que permitan la difusión de las moléculas de agua (Baümler et al., 2014).

Respecto al espesor de las películas, en la Ecuación 4.4, el término PVA es directamente proporcional al espesor, es decir que si éste aumenta por la presencia de zonas discontinuas, la permeabilidad de vapor de agua se ve afectada. Lo anterior se puede observar en la Tabla 4.6, en donde los valores de PVA encontrados para películas P1 con 3% m/m de pectina y en todos los niveles de pectina de P2 incrementaron significativamente debido al aumento considerable de su espesor. Comportamientos similares fueron reportados por Martin-Polo et al. (1992), quienes observaron que la velocidad de transferencia de vapor de agua de películas de celofán cubiertas con parafina o aceite disminuía con el espesor pero los valores de permeabilidad aumentaron.

#### 4.4.4 Propiedades Mecánicas

En las Tablas 4.7 y 4.8 se muestran los resultados obtenidos de los análisis de propiedades mecánicas de las películas P1, P2 y películas control.

**Tabla 4.7.** Propiedades mecánicas de películas control y P1.

Pectina (% m/m)	Proporción de ceras de girasol (g ceras/g pectina)			
	Películas Control	0,1	0,2	0,3
<b>%E</b>				
1	3,78 ± 0,56 <sup>a, A</sup>	7,89 ± 0,90 <sup>b, A</sup>	7,19 ± 2,26 <sup>ab, A</sup>	6,71 ± 0,76 <sup>ab, A</sup>
2	5,13 ± 0,87 <sup>a, A</sup>	37,75 ± 1,61 <sup>b, B</sup>	34,87 ± 6,48 <sup>b, B</sup>	36,34 ± 5,82 <sup>b, C</sup>
3	14,18 ± 2,54 <sup>a, B</sup>	30,58 ± 4,37 <sup>c, B</sup>	25,80 ± 3,00 <sup>bc, B</sup>	21,26 ± 0,66 <sup>ab, B</sup>
<b>TS (MPa)</b>				
1	15,32 ± 0,97 <sup>a, B</sup>	9,88 ± 3,35 <sup>a, B</sup>	16,14 ± 1,73 <sup>a, B</sup>	15,79 ± 3,32 <sup>a, B</sup>
2	3,82 ± 0,38 <sup>a, A</sup>	3,31 ± 0,37 <sup>a, A</sup>	3,19 ± 0,20 <sup>a, A</sup>	4,94 ± 0,14 <sup>b, A</sup>
3	3,84 ± 1,02 <sup>a, A</sup>	2,63 ± 0,38 <sup>a, A</sup>	2,46 ± 0,61 <sup>a, A</sup>	3,87 ± 0,74 <sup>a, A</sup>
<b>Y (Mpa)</b>				
1	331,43 ± 48,05 <sup>b, B</sup>	104,06 ± 0,71 <sup>a, C</sup>	251,82 ± 49,29 <sup>b, B</sup>	280,93 ± 21,31 <sup>b, C</sup>
2	112,70 ± 10,95 <sup>c, A</sup>	11,81 ± 1,33 <sup>a, A</sup>	15,27 ± 1,42 <sup>a, A</sup>	31,43 ± 0,65 <sup>b, A</sup>
3	73,86 ± 9,98 <sup>c, A</sup>	18,09 ± 1,02 <sup>a, B</sup>	52,95 ± 5,47 <sup>b, A</sup>	74,45 ± 1,15 <sup>c, B</sup>

%E = Porcentaje de elongación, TS = Tensión de rotura, Y = Módulo elástico.

Valores medios ± desviación estándar, n = 2. Valores en la misma fila seguidas por diferentes letras en minúscula (efecto adición de ceras) son significativamente diferentes (p<0,05). Valores en la misma columna seguidas por diferentes letras en mayúscula (efecto adición de pectina) son significativamente diferentes (p<0,05).

Tabla 4.8. Propiedades mecánicas de películas control y P2.

Pectina (% m/m)	Proporción de ceras de girasol (g ceras/g pectina)			
	Películas Control	0,1	0,2	0,3
<b>%E</b>				
1	3,78 ± 0,56 <sup>a, A</sup>	6,24 ± 1,17 <sup>a, A</sup>	7,78 ± 3,48 <sup>a, A</sup>	6,79 ± 0,18 <sup>a, A</sup>
2	5,13 ± 0,87 <sup>a, A</sup>	39,22 ± 3,90 <sup>b, B</sup>	44,20 ± 0,21 <sup>b, B</sup>	44,34 ± 2,20 <sup>b, C</sup>
3	14,18 ± 2,54 <sup>a, B</sup>	44,34 ± 5,03 <sup>b, B</sup>	37,84 ± 5,73 <sup>b, B</sup>	35,95 ± 3,20 <sup>b, B</sup>
<b>TS (MPa)</b>				
1	15,32 ± 0,97 <sup>c, B</sup>	5,86 ± 2,31 <sup>a, B</sup>	10,02 ± 0,69 <sup>b, C</sup>	17,34 ± 1,25 <sup>c, B</sup>
2	3,82 ± 0,38 <sup>c, A</sup>	1,39 ± 0,23 <sup>a, A</sup>	1,19 ± 0,13 <sup>a, A</sup>	2,29 ± 0,39 <sup>b, A</sup>
3	3,84 ± 1,02 <sup>a, A</sup>	2,61 ± 0,69 <sup>a, AB</sup>	3,09 ± 0,41 <sup>a, B</sup>	3,18 ± 0,84 <sup>a, A</sup>
<b>Y (Mpa)</b>				
1	331,43 ± 48,05 <sup>b, B</sup>	118,62 ± 38,55 <sup>a, B</sup>	261,58 ± 38,60 <sup>b, B</sup>	291,38 ± 17,66 <sup>b, B</sup>
2	112,70 ± 10,95 <sup>c, A</sup>	9,66 ± 1,27 <sup>a, A</sup>	10,95 ± 2,36 <sup>a, A</sup>	28,88 ± 4,23 <sup>b, A</sup>
3	73,86 ± 9,98 <sup>b, A</sup>	33,37 ± 5,11 <sup>a, A</sup>	46,61 ± 5,75 <sup>a, A</sup>	32,53 ± 8,74 <sup>a, A</sup>

%E = Porcentaje de elongación, TS = Tensión de rotura, Y = Módulo elástico

Valores medios ± desviación estándar, n = 2. Valores en la misma fila seguidas por diferentes letras en minúscula (efecto adición de ceras) son significativamente diferentes (p<0,05). Valores en la misma columna seguidas por diferentes letras en mayúscula (efecto adición de pectina) son significativamente diferentes (p<0,05).

Los valores de porcentaje de elongación (%E) encontrados en las películas control fueron generalmente menores a los hallados en P1 y P2 en las tres proporciones de cera estudiadas. Dichos valores control evidenciaron un aumento significativo cuando el contenido de pectina se incrementó (3% m/m), obteniéndose un comportamiento similar

en P1 y P2. Teniendo como referencia los datos de %E de las películas control, la adición de ceras en la proporción de 0,1 reveló un incremento significativo en la elongación de las películas, sin embargo la adición de mayores cantidades de ceras (0,2 y 0,3) no causó una variación representativa con respecto a la lograda con proporción 0,1 de ceras.

Los valores de tensión de rotura (TS) en las películas control disminuyeron significativamente con el aumento en el contenido de pectina, encontrándose un valor más alto cuando el porcentaje de pectina fue del 1% m/m. Un comportamiento similar se observó en películas P1 y P2 en cada proporción de cera, donde los valores de tensión a la rotura fueron más altos en el nivel más bajo de pectina (1% m/m).

El efecto de la adición de ceras no fue significativo en películas P1 con 1 y 3% m/m de pectina, sin embargo se obtuvo un aumento de TS en películas con 2% m/m de pectina y proporción 0,3. En P2 con 1 y 2% m/m de pectina los valores de TS decrecieron significativamente en proporciones 0,1 y 0,2 de cera, obteniéndose un valor mayor cuando la proporción fue de 0,3. Al igual que P1, las películas P2 elaboradas con 3% m/m de pectina no mostraron valores de TS significativamente diferentes con el agregado de ceras de girasol.

En general las películas P1 y P2 presentaron comportamientos similares, encontrándose una relación inversa entre TS y %E. Las películas elaboradas con 1% m/m de pectina presentaron mayor esfuerzo o tensión a la rotura (TS) y pequeña deformación o elongación (%E), pudiéndose considerar más duras, fuertes y resistentes, cuyo

comportamiento no fue modificado en gran manera por el agregado de ceras. Por el contrario, las películas con 2 y 3% m/m de pectina presentaron un TS más bajo, distanciándose estos valores en mayor medida a la película control dado que %E aumenta al adicionarse ceras de girasol, es decir, la película se torna más flexible y menos resistente. Por lo tanto, en este caso el comportamiento de TS fue inversamente proporcional a %E, siendo esta relación inversa reportada por autores como Kang et al. (2005) quienes trabajaron con películas biodegradables a base de pectina y por Lee et al. (2004) en su estudio relacionado con películas compuestas de gellan y gelatina.

Las películas elaboradas con 1% m/m de pectina tienen un espesor más pequeño (Tabla 4.3) y de acuerdo a lo reportado por Cuq et al. (1996), la tensión a la rotura tiende a incrementarse con la disminución de su espesor, pero por lo general, las propiedades mecánicas se asocian con la naturaleza y la estructura química de los materiales que forman la película (Phan The et al., 2009) y de acuerdo con Kester y Fennema (1986) el incremento en la cohesión estructural resulta en una reducción de la flexibilidad de la película y por lo tanto del %E. En este sentido, la estructura molecular formada por uniones electrostáticas con iones  $\text{Ca}^{+2}$  en películas elaboradas con 1% m/m de pectina logró ser más densa y resistente que en las formuladas con 2 y 3 % m/m, siendo estas últimas más flexibles y con una menor cohesión estructural.

Por su parte los valores del módulo elástico ( $Y$ ) de las películas control disminuyeron con el incremento en el contenido de pectina. En P1 y P2, respecto a los valores de  $Y$  con 1% m/m de pectina, se observa una disminución significativa de dichos

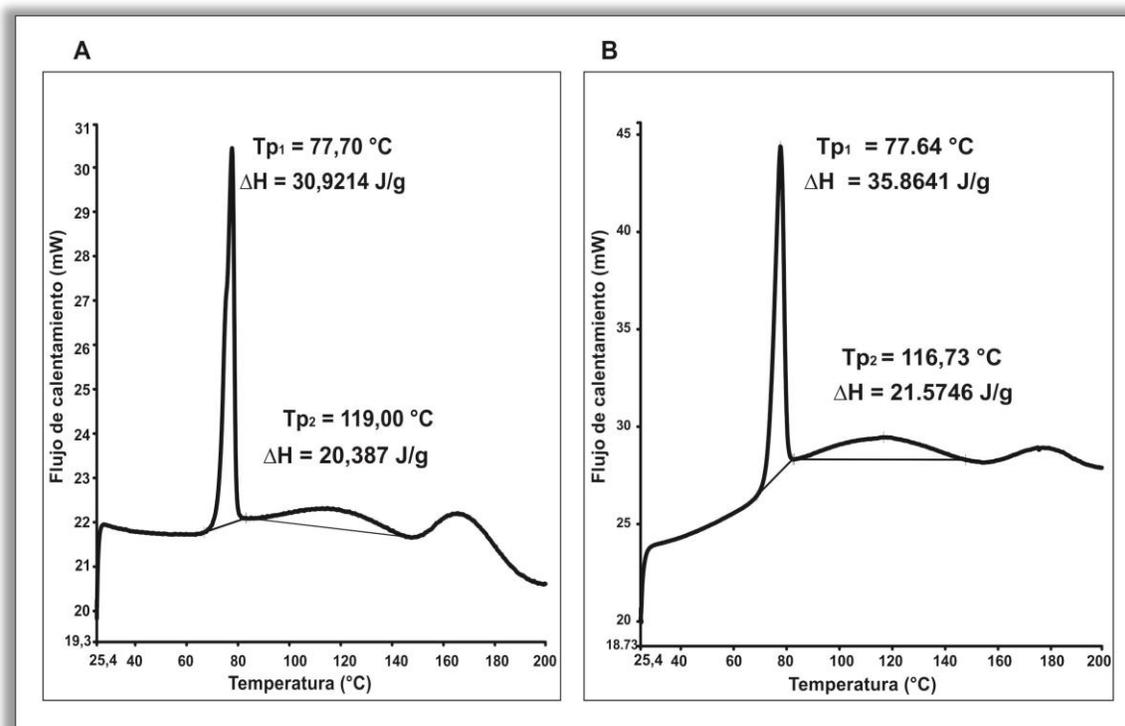
valores cuando los niveles de pectina fueron de 2 y 3% m/m ( $p \ll 0,01$ ). Partiendo de los valores de Y hallados en las películas control, el efecto de la adición de ceras en películas P1 y P2 resultó generalmente en una disminución de Y. En las formulaciones con 1 y 3% m/m de pectina en P1 y 1% en P2, los valores encontrados con el máximo agregado de ceras (proporción 0,3) no difieren de la película control. Por el contrario en películas P1 y P2 con 2% m/m de pectina y P2 con 3%, los valores de Y se redujeron drásticamente con la adición de ceras sin obtener un aumento significativo en proporciones altas. Estos resultados sugieren que las películas elaboradas con 1% m/m de pectina fueron más rígidas y que el agregado de ceras en todos los niveles de pectina disminuye dicha cualidad.

La pectina (material hidrófilo) es sensible a los cambios de temperatura y humedad del ambiente (Debeaufort et al., 1998), por lo que algunas de las variaciones observadas en los resultados de %E, TS e Y pueden deberse a cambios en la humedad y temperatura del laboratorio donde fueron realizados los ensayos. Dichas desviaciones afectaron el test de comparación en el análisis estadístico de las variables dado que las diferencias mínimas significativas arrojadas tuvieron altos valores.

#### **4.4.5 Comportamiento térmico**

En la Figura 4.14 se muestra una curva calorimétrica representativa de las películas de pectina y ceras de girasol. En las películas P1 se observó un pico de fusión de las ceras a aproximadamente 74,9 – 79,3 °C y un cambio entálpico asociado a dicha fusión entre 12,334 y 56,235 J/g. Así mismo en P2 el pico de fusión se encontró entre

75,3 – 80,3 °C y un cambio entálpico entre 18,871 y 45,088 J/g. Además, a temperaturas superiores al punto de fusión de las ceras (CP1: 76,7 °C; CP2: 80,53 °C), se observa un segundo pico endotérmico a aproximadamente 116 - 119 °C probablemente asociado a la evaporación del agua. Resultados similares fueron reportados por Bäumlner et al. (2014). Los valores de entalpía de fusión encontrados en las películas P1 y P2 fueron casi diez veces menores a los hallados para las ceras purificadas (Capítulo 2, sección 2.4.3), indicando que parte de la energía necesaria para fundir las ceras purificadas es absorbida por los otros componentes de las películas como son la pectina y glicerol.



**Figura 4.14.** Curva calorimétrica representativa de las películas de pectina y ceras de girasol. **A.** P1 **B.** P2.

Los resultados no brindaron información acerca de una temperatura de transición vítrea de la pectina o una temperatura de fusión en el rango analizado. Análisis realizados por Iijima et al. (2000) revelaron que la pectina es un polímero cristalino pero una vez que la muestra cristalina es fundida, ésta forma una estructura amorfa que es estable, es decir, no cristaliza por enfriamiento lento. Además, no observaron cristalización cuando analizaron la posible inducción de esta característica por la presencia de agua.

#### **4.5 CONCLUSIONES**

Fue posible obtener películas a partir de emulsiones de pectina y ceras de girasol. En todas las películas P1 y P2 la facilidad de manipulación de las mismas disminuyó con el aumento en los porcentajes de pectina y la proporción de ceras. La superficie de las películas con 1% m/m de pectina en general tuvo un aspecto más uniforme luego de su conservación en desecador en condiciones de humedad y temperatura controlada, mientras que las películas con mayor porcentaje de pectina (3% m/m) fueron más difíciles de manipular. El espesor de las películas P1 y P2 aumentó significativamente con el incremento en el contenido de pectina y el efecto de la inclusión de las ceras en esta variable fue significativo en las películas elaboradas con la mayor proporción de ceras (0,3).

Las imágenes de la microestructura de las películas mostraron una superficie superior irregular con la presencia de ceras que migraron hacia la parte superior de las películas en la etapa de secado de las mismas debido a la diferencia de densidad entre los componentes hidrófobos y la matriz polimérica; pero también una buena distribución y dispersión de estos componentes en el área transversal de la película a medida que la cantidad de ceras aumentó. Este comportamiento contribuyó a la disminución de la velocidad de transferencia de agua a través de las películas, debido a la poca afinidad del material lipídico con las moléculas de agua.

La resistencia al agua por parte de las películas fue influenciada tanto por el contenido de pectina como por el de ceras de girasol. El aumento en los sitios de reticulación en la estructura de las películas produjo una disminución de la capacidad de absorción de agua de las mismas. Además, la hidrofobicidad de las ceras de girasol afectó la interacción entre la matriz polimérica y el agua, observándose una tendencia de disminución de los valores de IS y AG a medida que el contenido de ceras en las películas aumentó.

La velocidad de transmisión de vapor de agua en las películas estuvo relacionada con la disposición y distribución de las ceras de girasol en su estructura, presentando mayor migración en aquellas cuya superficie superior presentó espacios libres de ceras y menores valores de transferencia a medida que el contenido de ceras aumentó. A su vez, la eficiencia en el control de la migración de vapor de agua se vio influenciada por la composición en ácidos grasos del material lipídico, observándose menor transferencia en películas elaboradas con ceras de girasol cuyo contenido en ácidos grasos insaturados y en ácido palmítico fue menor y mayor, respectivamente. Los valores de permeabilidad (PVA) encontrados en las películas se vieron afectados significativamente por el aumento en el espesor de las películas dada su proporcionalidad en el cálculo. Los resultados encontrados evidenciaron la importante contribución de las ceras de girasol en las propiedades de barrera al vapor de agua de las películas.

El análisis de las propiedades mecánicas de las películas presentó una relación inversa entre la tensión a la rotura (TS) y el porcentaje de elongación (%E). La estructura

molecular de la pectina con el agente entrecruzante ( $\text{Ca}^{+2}$ ) de las películas con menor porcentaje de pectina resultó ser más resistente a la rotura y con mayores rigidez o con valores superiores del módulo elástico ( $Y$ ). Las formulaciones con mayor cantidad de pectina (2 y 3% m/m) fueron más flexibles y menos resistentes. Las mediciones de las propiedades mecánicas fueron influenciadas por la alta sensibilidad del material hidrófilo a las condiciones de humedad y temperatura en el ambiente de ensayo, lo cual intervino en la variabilidad de los datos.

El comportamiento térmico de las películas mostró que el punto de fusión de las ceras CP1 y CP2 no tuvo una amplia variación, apreciándose también un segundo pico endotérmico asociado a la evaporación del agua presente. La energía necesaria ( $\Delta H$ ) para lograr la fusión de las ceras fue mucho menor, sugiriendo que parte de dicha energía fue absorbida por los otros componentes de las películas.

La caracterización física, química y funcional de las películas obtenidas permitió evaluar sus propiedades antes de su empleo en alimentos. Los análisis realizados mostraron películas con propiedades satisfactorias para ser aprovechadas en la industria alimenticia como refuerzo a la protección brindada por los materiales de empaque y envase convencionales. Dichos estudios brindan datos de valor que forman parte de un campo de investigación cada vez más amplio y con mayor aplicabilidad.

#### 4.6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASTM (1995), Standard test methods for water vapor transmission of materials (E-96-95), *Annual book of ASTM standards Vol. 4.06*, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, USA.

ASTM (2010), Standard Test Methods for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting (D-882-02), *Annual book of ASTM standards*, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, USA.

Balasubramaniam V., Chinnan M., Mallikarjunan P. y Phillips R. (1997), The effect of edible film on oil uptake and moisture retention of a deep-fat fried poultry product, *Journal of Food Process Engineering*, 20(1), 17-29.

Baldwin E. y Hagenmaier R. (2011), Introduction, in *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*, editado por Baldwin E., Hagenmaier R. and Bai J., pp. 1-12, CRC Press, Boca Raton, USA.

Baldwin E., Nisperos M., Hagenmaier R. y Baker R. (1997), Use of lipids in coatings for food products, *Food Technology* 51(6), 56-62.

Bäumler E.R., Carelli A.A. y Martini S. (2013), Physical properties of aqueous solutions of pectin containing sunflower wax, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90(6), 791-802.

Bäumler E.R., Carelli A.A. y Martini S. (2014), Preparation and physical properties of calcium pectinate films modified with sunflower wax, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116(11), 1534-1545.

Bigi A., Panzavolta S. y Rubini K. (2004), Relationship between triple-helix content and mechanical properties of gelatin films, *Biomaterials*, 25(25), 5675-5680.

Bourtoom T. (2008), Edible films and coatings: characteristics and properties, *International Food Research Journal*, 15(3), 237-248.

Braccini I. y Pérez S. (2001), Molecular basis of Ca<sup>2+</sup> induced gelation in alginates and pectins: the egg-box model revisited, *Biomacromolecules*, 2(4), 1089-1096.

Budi Santosa F. y Padua G.W. (1999), Tensile properties and water absorption of zein sheets plasticized with oleic and linoleic acids, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(5), 2070-2074.

CAA (2013a), Código Alimentario Argentino, *Capítulo IV. Utensilios, Recipientes, Envases, Aparatos y Accesorios. Artículos 184 al 219*, disponible en: [http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/Capitulo\\_IV.pdf](http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/Capitulo_IV.pdf).

CAA (2013b), Código Alimentario Argentino, *Capítulo XI. Alimentos Vegetales. Artículos 819 al 981*, disponible en: [http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/Capitulo\\_XI.pdf](http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/Capitulo_XI.pdf).

CAA (2013c), Código Alimentario Argentino, *Capítulo VII. Alimentos Grasos Aceites Alimenticios. Artículos 520 al 552*, disponible en: [http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO\\_VII.pdf](http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO_VII.pdf).

CAA (2013d), Código Alimentario Argentino, *Capítulo XVIII. Aditivos Alimentarios. Artículos 1339 al 1406*, disponible en: [http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO\\_XVIII.pdf](http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO_XVIII.pdf).

Cerqueira M.A., Souza B.W., Teixeira J.A. y Vicente A.A. (2012), Effect of glycerol and corn oil on physicochemical properties of polysaccharide films—A comparative study, *Food Hydrocolloids*, 27(1), 175-184.

Cuq B., Gontard N., Cuq J.-L. y Guilbert S. (1996), Functional properties of myofibrillar protein-based biopackaging as affected by film thickness, *Journal of Food Science*, 61(3), 580-584.

Dabrowska R. y Lenart A. (2001), Influence of edible coatings on osmotic treatment of apples, in *Osmotic Dehydration and Vacuum Impregnation. Applications in Food Industry* editado por Fito P., Chiralt A., Barat J.M., Spiess W. and Behsnilian D., p. 43, Technomic Publ. Co., Lancaster, USA.

Debeaufort F. y Voilley A. (1995), Effect of surfactants and drying rate on barrier properties of emulsified edible films, *International Journal of Food Science & Technology*, 30(2), 183-190.

Debeaufort F. y Voilley A. (2009), Lipid-based edible films and coatings, in *Edible Films and Coatings for Food Applications*, editado por Embuscado M.E. and Huber K.C., pp. 135-168, Springer, New York, USA.

Debeaufort F., Martin-Polo M. y Voilley A. (1993), Polarity homogeneity and structure affect water vapor permeability of model edible films, *Journal of Food Science*, 58(2), 426-429.

Debeaufort F., Quezada-Gallo J.-A. y Voilley A. (1998), Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review, *Critical Reviews in Food Science*, 38(4), 299-313.

Di Rienzo J., Casanoves F., Balzarini M., Gonzalez L., Tablada M. y Robledo y.C. (2011), InfoStat versión 2011, *Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina*. URL <http://www.infostat.com.ar>, 8, 195-199.

Díaz-Rojas E., Pacheco-Aguilar R., Lizardi J., Argüelles-Monal W., Valdez M., Rinaudo M. y Goycoolea F. (2004), Linseed pectin: gelling properties and performance as an encapsulation matrix for shark liver oil, *Food Hydrocolloids*, 18(2), 293-304.

Dragich A.M. y Krochta J.M. (2010), Whey protein solution coating for fat-uptake reduction in deep-fried chicken breast strips, *Journal of Food Science*, 75(1), S43-S47.

Du W., Olsen C., Avena-Bustillos R., Friedman M. y McHugh T. (2011), Physical and antibacterial properties of edible films formulated with apple skin polyphenols, *Journal of Food Science*, 76(2), M149-M155.

Elsabee M.Z. y Abdou E.S. (2013), Chitosan based edible films and coatings: a review, *Materials Science and Engineering: C*, 33(4), 1819-1841.

Erbil H.Y. y Muftugil N. (1986), Lengthening the postharvest life of peaches by coating with hydrophobic emulsions, *Journal of Food Processing and Preservation*, 10(4), 269-279.

Espitia P.J.P., Du W.-X., de Jesús Avena-Bustillos R., Soares N.d.F.F. y McHugh T.H. (2014), Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties-A review, *Food Hydrocolloids*, 35, 287-296.

Falguera V., Quintero J.P., Jiménez A., Muñoz J.A. y Ibarz A. (2011), Edible films and coatings: structures, active functions and trends in their use, *Trends in Food Science & Technology*, 22(6), 292-303.

FDA (2016a), Part 184 - Direct Food Substances Affirmed As Generally Recognized As Safe, *Subpart B - Listing of Specific Substances Affirmed as GRAS*. 184.1588-pectin, 184.1973-Besswax, 184.197-Candelilla wax, 184.1978-Carnauba wax, último acceso: 28-11-2016, disponible en: <http://www.ecfr.gov/cgi-bin/text->

[idx?SID=e956d645a8b4e6b3e34e4e5d1b690209&mc=true&node=pt21.3.184&rgn=div5](http://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=e956d645a8b4e6b3e34e4e5d1b690209&mc=true&node=pt21.3.184&rgn=div5)

[# top.](#)

FDA (2016b), Part 182 - Substances Generally Recognized as Safe *Subpart B - Multiple Purpose GRAS Food Substances, 182.1320-gliceryn*, último acceso: noviembre 2016, disponible en: [http://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=018162a49d8118ff7d640e3831299165&mc=true&node=se21.3.182\\_11320&rgn=div8](http://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=018162a49d8118ff7d640e3831299165&mc=true&node=se21.3.182_11320&rgn=div8).

Fraeye I., Duvetter T., Doungla E., Van Loey A. y Hendrickx M. (2010), Fine-tuning the properties of pectin–calcium gels by control of pectin fine structure, gel composition and environmental conditions, *Trends in Food Science & Technology*, 21(5), 219-228.

Galanakis C.M. (2012), Recovery of high added-value components from food wastes: conventional, emerging technologies and commercialized applications, *Trends in Food Science & Technology*, 26(2), 68-87.

Garcia M., Martino M. y Zaritzky N. (2000), Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coatings, *Journal of Food Science*, 65(6), 941-944.

Gennadios A. (2004), Edible films and coatings from proteins, in *Proteins in Food Processing*, editado por Yada R., pp. 442-467, Woodhead Publishing Limited. CRC Press, Cambridge, England.

Guilbert S. y Gontard N. (2005), Agro-polymers for edible and biodegradable films-16: Review of agricultural polymeric materials, physical and mechanical characteristics, in *Innovations of Food Packaging* editado por Han J.H., pp. 263-276, Elsevier Science & Technology Books, Amsterdam, Holland.

Guilbert S., Gontard N. y Cuq B. (1995), Technology and applications of edible protective films, *Packaging Technology and Science*, 8(6), 339-346.

Hagenmaier R.D. (2011), Gas-exchange properties of edible films and coatings, in *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*, editado por Baldwin E.A., Hagenmaier R. and Bai J., pp. 137-153, Taylor and Francis Group CRC Press, New York, USA.

Hagenmaier R.D. y Baker R.A. (1994), Wax microemulsions and emulsions as citrus coatings, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(4), 899-902.

Hagenmaier R.D. y Baker R.A. (1997), Edible coatings from morpholine-free wax microemulsions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(2), 349-352.

Han J.H. y Gennadios A. (2005), Edible films and coatings: a review, in *Innovations in Food Packaging*, editado por Han J.H., pp. 239-262, Elsevier Science & Technology Books, Amsterdam, Holland.

Hansen N.M. y Plackett D. (2008), Sustainable films and coatings from hemicelluloses: a review, *Biomacromolecules*, 9(6), 1493-1505.

Hardenburg R.E. (1967), Wax and related coatings for horticultural products; a bibliography, *Agricultural Research Service Bulletin*, 51-55.

Hernandez E. (1994), Edible coatings from lipids and resins, in *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*, editado por Krochta J.M., Baldwin E.A. and Nisperos-Carriedo M.O., pp. 279-303, Technomic Pub. Co, Lancaster, USA.

Iijima M., Nakamura K., Hatakeyama T. y Hatakeyama H. (2000), Phase transition of pectin with sorbed water, *Carbohydrate Polymers*, 41(1), 101-106.

Janjarasskul T. y Krochta J.M. (2010), Edible packaging materials, *Annual Review of Food Science and Technology*, 1, 415-448.

Jiménez A., Fabra M.J., Talens P. y Chiralt A. (2012), Edible and biodegradable starch films: a review, *Food and Bioprocess Technology*, 5(6), 2058-2076.

Kamper S. y Fennema O. (1984), Water vapor permeability of an edible, fatty acid, bilayer film, *Journal of Food Science*, 49(6), 1482-1485.

Kang H.J., Jo C., Lee N.Y., Kwon J.H. y Byun M.W. (2005), A combination of gamma irradiation and CaCl<sub>2</sub> immersion for a pectin-based biodegradable film, *Carbohydrate Polymers*, 60(4), 547-551.

Kester J. y Fennema O. (1986), Edible films and coatings: a review, *Food Technology (USA)*, 48, 47.

Kester J. y Fennema O. (1989), Resistance of lipid films to water vapor transmission, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 66(8), 1139-1146.

Krochta J.M. (1997), Edible protein films and coatings, in *Food Proteins and Their Applications*, editado por Damodaran S. and Paraf A., pp. 529-549, Marcel Dekker, New York, USA.

Labuza T. y Contreras-Medellin R. (1981), Prediction of moisture protection requirements for foods, *Cereal Foods World* 26, 335-340.

Laurent M. y Boulenguer P. (2003), Stabilization mechanism of acid dairy drinks (ADD) induced by pectin, *Food Hydrocolloids*, 17(4), 445-454.

Lee K.Y., Shim J. y Lee H.G. (2004), Mechanical properties of gellan and gelatin composite films, *Carbohydrate Polymers*, 56(2), 251-254.

Leroux J., Langendorff V., Schick G., Vaishnav V. y Mazoyer J. (2003), Emulsion stabilizing properties of pectin, *Food Hydrocolloids*, 17(4), 455-462.

Liu L., Liu C.-K., Fishman M.L. y Hicks K.B. (2007), Composite films from pectin and fish skin gelatin or soybean flour protein, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(6), 2349-2355.

Maftoonazad N., Ramaswamy H.S. y Marcotte M. (2007), Evaluation of factors affecting barrier, mechanical and optical properties of pectin - based films using response surface methodology, *Journal of Food Process Engineering*, 30(5), 539-563.

Mahalik N.P. y Nambiar A.N. (2010), Trends in food packaging and manufacturing systems and technology, *Trends in Food Science & Technology*, 21(3), 117-128.

Mallikarjunan P., Chinnan M., Balasubramaniam V. y Phillips R. (1997), Edible coatings for deep-fat frying of starchy products, *LWT-Food Science and Technology*, 30(7), 709-714.

Martin-Polo M., Mauguin C. y Voilley A. (1992), Hydrophobic films and their efficiency against moisture transfer. 1. Influence of the film preparation technique, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(3), 407-412.

May C. (1997), Pectins, in *Thickening and Gelling Agents for Food*, editado por Imeson A., pp. 230-261, Springer, United Kingdom.

McHugh T. (2000), Protein-lipid interactions in edible films and coatings, *Nahrung*, 44(3), 148-151.

Mellinas C., Valdés A., Ramos M., Burgos N., Garrigós M.d.C. y Jiménez A. (2016), Active edible films: current state and future trends, *Journal of Applied Polymer Science*, 133(2), 1-15.

Morillon V., Debeaufort F., Blond G., Capelle M. y Voilley A. (2002), Factors affecting the moisture permeability of lipid-based edible films: a review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42(1), 67-89.

Nguyen Q., Germain Y., Clement R. y Hirata Y. (2001), Pervaporation, a novel technique for the measurement of vapor transmission rate of highly permeable films, *Polymer Testing*, 20(8), 901-911.

Nieto M.B. (2009), Structure and function of polysaccharide gum-based edible films and coatings, in *Edible Films and Coatings for Food Applications*, editado por Embuscado M.E. and Huber K.C., pp. 57-112, Springer, New York, USA.

Park H.J. (1999), Development of advanced edible coatings for fruits, *Trends in Food Science & Technology*, 10(8), 254-260.

Park J., Testin R., Park H., Vergano P. y Weller C. (1994), Fatty acid concentration effect on tensile strength, elongation, and water vapor permeability of laminated edible films, *Journal of Food Science*, 59(4), 916-919.

Pavlath A.E. y Orts W. (2009), Edible films and coatings: why, what, and how?, in *Edible Films and Coatings for Food Applications*, editado por Embuscado M.E. and Huber K.C., pp. 1-23, Springer, New York, USA.

Pérez-Gago M. y Krochta J. (2001), Lipid particle size effect on water vapor permeability and mechanical properties of whey protein/beeswax emulsion films, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(2), 996-1002.

Pérez-Gago M. y Krochta J. (2005), Emulsion and bi-layer edible films, in *Innovations in Food Packaging*, editado por Han J.H., pp. 384-402, Elsevier Science & Technology Books, Amsterdam, Holland.

Phan The D., Debeaufort F., Voilley A. y Luu D. (2009), Biopolymer interactions affect the functional properties of edible films based on agar, cassava starch and arabinoxylan blends, *Journal of Food Engineering*, 90(4), 548-558.

Quezada Gallo J.-A., Debeaufort F., Callegarin F. y Voilley A. (2000), Lipid hydrophobicity, physical state and distribution effects on the properties of emulsion-based edible films, *Journal of Membrane Science*, 180(1), 37-46.

Razavi S.M.A., Amini A.M. y Zahedi Y. (2015), Characterisation of a new biodegradable edible film based on sage seed gum: Influence of plasticiser type and concentration, *Food Hydrocolloids*, 43, 290-298.

Rhim J.W. y Ng P.K. (2007), Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(4), 411-433.

Sánchez-Ortega I., García-Almendárez B.E., Santos-López E.M., Amaro-Reyes A., Barboza-Corona J.E. y Regalado C. (2014), Antimicrobial edible films and coatings for meat and meat products preservation, *The Scientific World Journal*, 2014, 1-18.

Schieber A., Stintzing F. y Carle R. (2001), By-products of plant food processing as a source of functional compounds—recent developments, *Trends in Food Science & Technology*, 12(11), 401-413.

Schultz T., Miers J., Owens H. y Maclay W. (1949), Permeability of pectinate films to water vapor, *The Journal of Physical Chemistry*, 53(9), 1320-1330.

Siracusa V., Rocculi P., Romani S. y Dalla Rosa M. (2008), Biodegradable polymers for food packaging: a review, *Trends in Food Science & Technology*, 19(12), 634-643.

Soliva-Fortuny R., Rojas Graü M.A. y Martín-Belloso O. (2011), Polysaccharide coatings in *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality. Segunda Edición*, editado

por Baldwin E., Hagenmaier R. and Bai J., pp. 103-136, Taylor and Francis Group. CRC Press, New York, USA.

Sriamornsak P. y Kennedy R.A. (2008), Swelling and diffusion studies of calcium polysaccharide gels intended for film coating, *International Journal of Pharmaceutics*, 358(1), 205-213.

Srinivasa P., Ramesh M. y Tharanathan R. (2007), Effect of plasticizers and fatty acids on mechanical and permeability characteristics of chitosan films, *Food Hydrocolloids*, 21(7), 1113-1122.

Suyatma N.E., Tighzert L., Copinet A. y Coma V. (2005), Effects of hydrophilic plasticizers on mechanical, thermal, and surface properties of chitosan films, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 3950-3957.

Thakur B.R., Singh R.K., Handa A.K. y Rao M. (1997), Chemistry and uses of pectin - a review, *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 37(1), 47-73.

# **CAPÍTULO 5**

## **CONCLUSIONES Y**

### **TRABAJOS FUTUROS**

#### **CONCLUSIONES**

La presente tesis tuvo como objetivo principal el aprovechamiento y revalorización de una de las corrientes secundarias presentes en la industria oleaginosa, proveniente de una de las etapas de refinación como es el descerado o winterizado, abordándose además la recuperación y aplicación industrial de las ceras de girasol, las cuales constituyen un subproducto con alto valor agregado.

La recuperación y caracterización del aceite y las ceras de girasol retenidas en las tortas de filtración es de gran significación desde el punto de vista ambiental y de revalorización de los desechos. El conocimiento profundo de sus composiciones y calidad es esencial para determinar su uso posterior en el mismo proceso o en otras tecnologías, usándolos como materia prima para otros desarrollos en alimentos funcionales u otras matrices alimentarias.

En el desarrollo de la presente tesis se trabajó con desechos suministrados por dos industrias locales, estos desechos (tortas de filtración) estuvieron constituidos por tierras filtrantes con un alto contenido lipídico (mayor al 50%), lo que permitió que fueran un material de partida adecuado para la recuperación del aceite y las ceras retenidas. Las tortas de filtración fueron caracterizadas y fraccionadas en aceite recuperado, ceras purificadas y partículas insolubles o tierra filtrante. El fraccionamiento se realizó mediante lavados con hexano caliente, filtración y posteriormente lavados sucesivos con hexano frío, indicando que un alto contenido de aceite se pierde en el proceso de descerado y es retenido en la torta.

En análisis de la composición en ácidos grasos de los aceites recuperados, arrojó una amplia diferencia entre las muestras, principalmente en la cantidad de ácidos grasos oleico y linoleico. Se concluyó que dicha diferencia se debe al tipo de semilla o híbrido procesado (normal o alto-oleico) y/o a las condiciones ambientales (temperatura) en las que crezca el cultivo de girasol. Este contenido de ácidos grasos afecta en la mayor o menor susceptibilidad del aceite al deterioro termoxidativo.

Los análisis de calidad del aceite recuperado permitieron sugerir que el mismo puede ser reincorporado al proceso de refinación con el fin de reducir las pérdidas. El cuidado de las tortas de filtración antes de su fraccionamiento es muy importante dado que una inadecuada conservación de la misma puede inducir reacciones de deterioro en el material lipídico que se encuentra retenido en la torta.

Las características del cultivo de girasol y el procesamiento de las semillas influyen en el contenido de ceras del aceite de girasol y por lo tanto también en el

material lipídico que es retenido de las tortas de filtración. En el análisis de la composición de las ceras remanentes en los aceites recuperados de las tortas de filtrado y de las ceras purificadas se pudo identificar una alta proporción de ceras cristalizables ( $C > 40$ ), las cuales provienen principalmente de la cáscara de las semillas y son responsables de generar turbidez en el aceite a bajas temperaturas.

Sobre las ceras purificadas fue determinada la composición en alcoholes grasos y ácidos grasos, información que fue de mucha utilidad para establecer que las diferencias observadas en el comportamiento térmico de las dos muestras están asociadas a la longitud de cadena y al grado de insaturación de sus ácidos grasos.

La evaluación de las propiedades físicas de las emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol permitieron determinar su compatibilidad y estabilidad para la posterior elaboración de películas comestibles.

El análisis de estabilidad de las emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol proporcionó datos de interés para identificar los mecanismos de desestabilización presentes en las mismas. El tiempo de ensayo prolongado permitió la visualización, mediante el equipo TURBISCAN, de tres fenómenos principales de desestabilización como son: sedimentación, coalescencia y cremado. Estos fenómenos se evidenciaron después de las 24 horas de elaboradas la emulsiones, lo que indica la buena estabilidad de las mismas para ser utilizadas en la producción de las películas. El mayor contenido de pectina y ceras de girasol causó la disipación del fenómeno de sedimentación, así como también el incremento en las velocidades de desestabilización de los fenómenos de coalescencia y cremado.

Las emulsiones tuvieron un tamaño de partícula entre 3,68 - 6,64  $\mu\text{m}$ , según el origen de la muestra de cera utilizada. Dichos valores fueron afectados por el contenido de ceras y de pectina, siendo menores principalmente cuando el contenido de pectina fue mayor. Esto puede relacionarse con la capacidad estabilizante que posee la pectina sobre las partículas de cera, evitando la formación de agregados y pudiéndose evidenciar, a contenidos de pectina más altos, menor dispersión de las curvas de distribuciones de tamaño.

A partir de la medición de las propiedades reológicas de las emulsiones, fue posible identificar una aproximación de las mismas a fluidos newtonianos. Los valores de esfuerzo de corte y viscosidad aparente incrementaron principalmente con el agregado de pectina y fueron variables con la adición de ceras, lo cual indica una alta dependencia de estas propiedades con las características de la fase continua de las emulsiones, que en este caso fue conformada por pectina.

La visualización, mediante las imágenes confocal, de las ceras de girasol presentes en las emulsiones reveló una buena dispersión de las mismas sin la formación de cúmulos, lo que confirmó la capacidad estabilizante que posee la pectina, siendo de gran importancia la observación de una distribución homogénea del componente lipídico en la matriz para la posterior elaboración de películas a partir de emulsiones.

Se demostró que la incorporación de las ceras de girasol en la elaboración de películas comestibles con pectina de bajo metoxilo como matriz polimérica partiendo

de la formación de emulsiones es una alternativa viable que permite darle un valor agregado importante a este subproducto.

La obtención de emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol relativamente estables permitió la elaboración de películas comestibles, cuya facilidad de manipulación disminuyó a medida que el contenido de pectina y de ceras fue mayor. El espesor promedio de las películas incrementó con el contenido de pectina y de ceras, indicando desviaciones debidas a la presencia de zonas discontinuas en las superficies.

Las imágenes SEM de las películas brindaron información más precisa acerca de la ubicación de las ceras de girasol en la matriz de pectina. En estas imágenes se pudo visualizar una superficie superior irregular, atribuida a la presencia de ceras debido a la migración de las mismas hacia la zona superior de las películas, así como también una buena distribución de éstas en el área transversal a medida que su contenido fue mayor. Dicha información se vio reflejada en la disminución de la velocidad de transferencia de vapor de agua a través de las películas con el agregado de ceras, dado que el camino de difusión del agua es más “tortuoso” debido a la poca afinidad entre ésta y el material hidrofóbico presente en las películas.

Fue posible evaluar las películas respecto a su resistencia al agua, mostrando valores de índice de swelling, absorción de agua y permeabilidad influenciados principalmente por la presencia de ceras de girasol, indicando que el carácter hidrofóbico de las mismas contribuye a una menor interacción entre la matriz polimérica de pectina y el agua. Además de la presencia y el aumento en la

concentración de las ceras de girasol en las películas, los valores de permeabilidad se vieron afectados por el aumento considerable del espesor de las mismas.

Si bien se determinó que las propiedades mecánicas de las películas dependieron de las condiciones de humedad y temperatura ambientales, se pudo encontrar una relación inversa entre la tensión de rotura (TS) y el porcentaje de elongación (%E), indicando que las formulaciones con menor contenido de pectina (1% m/m) fueron más resistentes, con menor capacidad de deformación y con mayor rigidez (evidenciado por el módulo elástico), mientras que las elaboradas con 2 y 3% m/m de pectina fueron más flexibles, menos resistentes a la rotura y con menor rigidez.

El uso de las ceras de girasol, provenientes del material de desecho generado en el proceso de winterizado o descerado del aceite de girasol, en la elaboración de películas comestibles fue interesante y viable, logrando realizar una adecuada caracterización de las mismas. Las propiedades mecánicas y de barrera encontradas en las películas fueron de gran utilidad, mostrando información valiosa para su posterior aplicación como refuerzo a la protección de alimentos.

En general, fue posible realizar un estudio acerca de procesos de recuperación y caracterización de subproductos de la industria oleaginosa, como son las ceras de girasol, mediante la implementación de técnicas analíticas, evaluando también una de sus posibles aplicaciones como es la incorporación de las mismas en películas comestibles en una matriz de pectina de bajo metoxilo a partir de emulsiones acuosas.

La presente Tesis dio lugar a las siguientes publicaciones:

- ⊙ Resúmenes y Trabajos Completos en congresos:
  - ✓ **“Caracterización de ceras de girasol obtenidas de desechos del proceso de winterizado en la elaboración de aceite”**. *XIV Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos IVX CyTAL*. Rosario. Argentina. Octubre 2013. Libro de Resúmenes en CD: **ISBN 978-987-22165-5-9**.
  - ✓ **“Recuperación y caracterización de ceras procedentes de tortas de filtrado del proceso de winterizado de aceite de girasol”**. *XV Congreso Latinoamericano y Exhibición sobre Grasas y Aceites*. Santiago de Chile, Chile. Agosto 2013. Resumen.
  - ✓ **“Caracterización de ceras procedentes de la etapa de descerado del aceite de girasol”**. *III Reunión Interdisciplinaria de Tecnología y Procesos Químicos*. Los Cocos. Córdoba. Argentina. 13 al 16 de abril de 2014. **Modalidad Poster**. Libro de resúmenes extendidos: **ISBN 978-950-33-1112-7**.
  - ✓ **“Caracterización de emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol”**. *Food Innova 2014*. Concordia. Argentina. Octubre de 2014. Trabajos completos Tomo 2: **ISBN 978-950-698-380-2**.
  - ✓ **“Análisis de propiedades físicas de emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol para elaborar recubrimientos comestibles”**. V

*Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. Córdoba. Argentina. Noviembre de 2014. Libro Trabajos Completos: **ISBN 978-987-45738-6-5**.

- ✓ **“Estabilidad, reología y tamaño de partícula de emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol para formar recubrimientos comestibles”**. *World Congress on Oils & Fats and 31<sup>st</sup> ISF Lectureship Series*. Rosario. Argentina. Octubre 31 - Noviembre 4 de 2015. Proceedings: Archivo digital online: **ISBN 978-987-22799-2-9**.
  
- ✓ **“Elaboración y caracterización de películas comestibles elaboradas a partir de emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol”**. *VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 2016*. Córdoba. Argentina. Noviembre 2-4 de 2016. Resumen y trabajo completo en evaluación.

⊙ Publicaciones en revistas internacionales:

- ✓ **“Characterization of waxes and residual oil recovered from sunflower oil winterization waste”**. *EJLST Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2016. **Online ISSN: 1438-9312. DOI: 10.1002/ejlt.201500608**

⊙ Publicaciones en redacción

- ✓ **“Analysis of physical properties of aqueous emulsions of wax and sunflower pectin to produce edible coatings”**.

## **TRABAJOS FUTUROS**

Como futuras líneas de trabajo se propone:

- ⊙ Una vez fraccionadas las tortas de filtración, evaluar la reutilización de las tierras utilizadas como coadyudantes en el proceso de winterizado o descerado del aceite de girasol realizando los análisis correspondientes.
- ⊙ Realizar una caracterización adicional de las ceras de girasol recuperadas mediante difracción de rayos x para evaluar su grado de cristalinidad.
- ⊙ Evaluar con mayor profundidad las interacciones moleculares presentes en las emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol, a fin de conocer las bases moleculares que permiten obtener ciertas propiedades fisicoquímicas y de estabilidad.
- ⊙ Aunque las emulsiones logradas en este trabajo tuvieron una buena estabilidad, se podría evaluar la incorporación de un agente emulsionante que permita mejorarla aún más.
- ⊙ Evaluar el cambio de matriz, analizando posibilidades de incorporar otro polisacárido o proteína que también provenga de desechos de la industria alimentaria y pueda ser recuperado.
- ⊙ Realizar otras determinaciones a las películas comestibles obtenidas a partir de pectina y ceras de girasol respecto a permeabilidad al oxígeno, análisis termogravimétrico (TGA), análisis mecánico dinámico (DMA), tensión superficial, con el fin de obtener una mejor caracterización de las películas.

- ⊙ Estudiar la aplicación de las películas obtenidas en alimentos frescos como frutas o alimentos procesados como quesos, teniendo también la posibilidad de incorporación de aditivos funcionales para elaborar películas activas.
  
- ⊙ Evaluar la viabilidad de uso de otro método de elaboración de películas comestibles como es electrodeposición o electrospraying y compararlo con lo encontrado en el método casting.