

Evaluación del color y propiedades antioxidantes de películas comestibles de gelatina incorporadas con aceite rico en licopeno y β -caroteno

C. U. López-Palestina¹, C. L. Aguirre-Mancilla¹, J. G. Ramirez-Pimentel¹, J. C. Raya-Pérez¹;
R. Jiménez-Alvarado²; A. D. Hernández-Fuentes^{2*}

1 Tecnológico Nacional de México-Instituto Tecnológico de Roque, km. 8 Carretera Celaya-Juventino Rosas, C.P. 38110. Celaya, Guanajuato. **2** Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Av. Universidad km. 1, Rancho Universitario, C.P. 43600, Tulancingo, Hidalgo. *hfad@hotmail.com

RESUMEN:

A pesar del potencial que tiene el licopeno y β -caroteno como sustancias antioxidantes poco se ha utilizado en la elaboración de películas comestibles. El objetivo del presente trabajo fue producir películas comestibles a base de gelatina incorporando aceite rico en licopeno y β -caroteno y la evaluación de color y propiedades antioxidantes. Se prepararon películas comestibles a base de gelatina adicionadas con aceite rico en licopeno y β -caroteno al 5, 10 y 15% v/v, respecto a la solución formadora de película. Se evaluaron las propiedades de color, el contenido de licopeno y β -caroteno y se determinó la actividad antioxidante mediante los ensayos de DPPH y ABTS. La concentración de aceite afectó fuertemente los parámetros de color. Las películas con 15% de aceite fueron las más rojizas de acuerdo al $^{\circ}h$ (67.47) y de mayor cromaticidad (46.91). Los tratamientos a 10 y 15% de aceite en la formulación de las películas no presentaron diferencias significativas en el contenido de β -caroteno y actividad antioxidante frente a los radicales DPPH y ABTS^{•+}. La película con 10% de aceite fue la más viable para el desarrollo de una película comestible con actividad antioxidante.

Palabras clave: película comestible, licopeno, β -caroteno, actividad antioxidante.

ABSTRACT:

Despite the potential of lycopene and β -carotene as antioxidant substances, these components have not been widely used in the production of edible films. The aim of this work was to produce edible films based of gelatin incorporating oil rich in lycopene and β -carotene, and the evaluation of color and antioxidant properties. Gelatine-based edible films with β -carotene and lycopene rich oil, containing 5, 10 and 15% v/v, relative to the film-forming solution were prepared. Color properties, lycopene and β -carotene content were evaluated and the antioxidant activity was determined by the DPPH and ABTS assays. The oil concentration strongly affected the color parameters. The films with 15% oil were the most reddish according to $^{\circ}h$ (67.47) and higher chromaticity (46.91). The treatments at 10 and 15% oil in the formulation of the films did not present significant differences in the content of β -carotene and antioxidant activity against the radicals DPPH and ABTS^{•+}. The film containing 10% oil was the most viable for the development of an edible film with antioxidant activity.

Keywords: Edible film, lycopene, β -carotene, antioxidant activity.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han desarrollado diferentes e innovadoras estrategias que prolongan la vida útil de los alimentos o incluso aumentan la calidad o seguridad de los mismos con una mayor eficacia que las tecnologías tradicionales, dado que la población actual está interesada en consumir alimentos libres de patógenos, con la menor cantidad de aditivos químicos, que sean sensorialmente aceptables, con un valor nutricional elevado y que representen una alternativa en la prevención de enfermedades (Leitsner y Gould, 2002; De la Fuente y Corona, 2010). Entre estas tecnologías, las películas con sustancias bioactivas han cobrado gran importancia en los últimos años, éstas se realizan con materiales comestibles (biopolímeros), a los cuales se les ha añadido agentes activos (antimicrobiano, antioxidante, nutraceuticos, fitoquímicos, colorantes naturales, prebióticos, entre otros), con el objetivo de alargar la vida útil y mantener o incluso aumentar la calidad o seguridad del alimento (Falguera y col., 2011; Jung, 2014).

Los agentes con propiedades bioactivas se incorporan a la formulación de películas comestibles de tal forma que la liberación de éstos se realice por contacto directo entre la película y el alimento. Entre las sustancias bioactivas que se incorporan a las películas se encuentran los antioxidantes, y al ser incorporados a las películas comestibles permiten aumentar la estabilidad de los componentes de los alimentos al inhibir o retrasar la oxidación de lípidos u otros compuestos (proteínas, vitaminas, etc.), manteniendo su valor nutricional, sabor y color al prevenir la rancidez oxidativa, degradación y decoloración, además se menciona que al ingerirse los antioxidantes contenidos en las películas comestibles pueden ejercer una acción protectora frente a los efectos perjudiciales producidos por los radicales libres en el organismo del consumidor o retrasar el progreso de muchas enfermedades crónicas (Bonilla y col., 2012; Gulcin, 2012; Ramos y col., 2014).

Una fuente de antioxidantes y colorantes naturales más reconocidos se encuentra en el jitomate (*Solanum lycopersicum*), y en la última década ha aumentado su atención por su alto contenido de carotenoides principalmente licopeno y β -caroteno (Thompson y col., 2000; Hyman y col., 2004). Estos carotenoides son excelentes antioxidantes principalmente por su capacidad de inhibir la oxidación de lípidos, la acción del oxígeno singulete y la capacidad de atrapar radicales peroxilo (Ilahy y col., 2011; Oroian y Escriche, 2015). Su consumo regular se ha correlacionado con la disminución de manifestar varios tipos de cáncer y enfermedades cardiovasculares (Naranjo y col., 2016).

A pesar del potencial que tiene el licopeno y β -caroteno como sustancias bioactivas, poco se ha utilizado como aditivo antioxidante en recubrimientos o películas comestibles. En la literatura existen trabajos donde se han incorporado carotenoides provenientes de tomate y cefalotórax de camarón a películas comestibles (Januario y col., 2009; Gómez-Estaca y col., 2015). En dichos trabajos se menciona que la incorporación de carotenoides como el licopeno, β -caroteno y astaxantina mejoran las propiedades de barrera a la luz UV/visible y color y una elevada permeabilidad al vapor de agua, además que proveen capacidad antioxidante. Sin embargo, no existe información suficiente sobre la capacidad antioxidante que pudieran brindar el licopeno y β -caroteno a las películas comestibles. Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue elaborar películas comestibles a base de gelatina incorporando aceite rico en licopeno y β -caroteno y la evaluación de color y propiedades antioxidantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales. Geletina de cerdo de la marca Fermont (Productos químicos Monterrey S.A. de C.V., Monterrey, Nuevo León, México). Glicerol, hexano y persulfato de potasio de J.T. Baker S.A. de C.V. (Xaloxtoc, Edo de México, México). Tween 80, 2,6-diclorofenol-indofenol, 2,2'-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,8-tetrametilcromano-2-carboxílico), 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS), adquiridos de Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich Química S.A. de C.V, Toluca, Estado de México, México). Aceite rico en licopeno y β -caroteno proporcionado por el Laboratorio Poscosecha del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Formación de las películas comestibles. Se realizó de acuerdo a Gómez-Estaca y col. (2015) con ligeras modificaciones. Las soluciones formadoras de película (SFP) se prepararon a una concentración de gelatina de 5 g/100 mL. Se utilizó glicerol como plastificante (25 g/100 g de gelatina) y como emulsificante tween 80 (2.3 g/100g de gelatina). A la SFP se añadió aceite rico en licopeno y β -caroteno cuya concentración de acuerdo al proveedor fue de 8.94 y 1.17 mg/100 mL respectivamente. El volumen del aceite añadido fue de 0, 5, 10 y 15% del volumen final de SFP. La SFP fue homogenizada en un Ultra Turrax (IKA T25, DS1, Alemania) aumentando progresivamente la velocidad de homogeneización bajo las siguientes condiciones: 8000 rpm durante 2 min, 1400 rpm durante 2 min y 17500 rpm durante 1 min. Las películas se obtuvieron por fundición colocando 10 mL de la SFP en cajas Petri de 9 cm de diámetro. El secado fue a temperatura ambiente durante 48 h a una humedad relativa (HR) de 57 ± 5 %. Posteriormente las películas fueron acondicionadas en una solución saturada de NaCl (75% de humedad relativa) a 25 °C, antes de realizar las evaluaciones correspondientes.

Color. Los atributos de color (valores de L^* , a^* y b^*), se midieron con un colorímetro HunterLab (Minolta, CM508d, Minolta Camera. Co., Ltd, Osaka, Japón). Los valores de a^* (rojo-verde) y b^* (amarillo-azul) fueron utilizados para calcular los valores de croma (C^*) y el ángulo hue ($^{\circ}h$).

Licopeno y β -caroteno. Se determinó espectrofotométricamente de acuerdo a Goula y Adamopoulos (2005) con modificaciones. Se pesaron 0.1 g de las películas y se disolvieron con 10 mL de hexano, posteriormente se homogenizaron en un vortex durante 5 min. Las muestras se sometieron a un baño ultrasónico (Ultrasonic Cleaner, Mod. 32V118A, Illinois, U.S.A.), durante 40 min a intervalos de 10 min con 5 min de reposo y a una frecuencia de 40 kHz. Posteriormente se centrifugaron a 15000 xg durante 10 min (centrifuga Thermo Scientific, Mod. ST 16R, Alemania). La cuantificación del licopeno y β -caroteno se determinó usando curvas estándar para cada uno de los carotenoides a una longitud de onda de 503 y 478 nm (Espectrofotómetro modelo 6715 UV/Vis, Jenway, Techne Inc. EE.UU.) respectivamente.

Actividad antioxidante. La actividad antioxidante se determinó mediante el método del efecto detoxificador de radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), desarrollado por Brand-Williams y col., (1995), y el método de la capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC, por sus siglas en inglés), descrito por Re y col., (1999). Se pesaron 0.1g de muestra y se disolvieron con 10 mL de etanol, posteriormente se homogenizaron en un vortex durante 5 min. Después las muestras se centrifugaron a 10000 xg durante 10 min. La decoloración del radical DPPH fue determinada espectrofotométricamente a 515 nm después de 60 min de reaccionar con la muestra a 4°C.

Para el método TEAC, se obtuvo el radical ABTS⁺ mediante la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato potásico (2,45 mM) incubados a temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) y en la oscuridad durante 16 h. Una vez formado el radical ABTS⁺ se diluyó con etanol hasta obtener un valor de absorbancia de 0.700 (± 0.1) a 734 nm. Las muestras se pusieron a reaccionar con el ABTS⁺ diluido durante 6 min e inmediatamente se midió su absorbancia a 734 nm. Los resultados fueron expresados en μM equivalentes de Trolox por gramo de peso seco para ambos métodos.

Análisis estadístico. Los datos obtenidos de todos los análisis fueron expresados como la media \pm la desviación estándar ($n=3$), además se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparaciones múltiples de medias de Tukey con una $p \leq 0.05$. Para todos los análisis se utilizó el programa SAS System for Windows versión 9.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Color. Las propiedades de color de las películas con aceite rico en licopeno y β -caroteno se muestran en la Tabla 1. Se presentaron diferencias significativas en los diferentes parámetros de color. El color de las películas fue fuertemente afectado por la concentración de aceite rico en licopeno y β -caroteno. Se observó que a medida que se aumentó la concentración de aceite en la SFP, se presentó una reducción en la luminosidad (L^*), pero se

incrementó el color rojo (a^*) y el amarillo (b^*). De acuerdo al $^{\circ}hue$ la película testigo (0%) mostró una tonalidad más amarillenta y de muy baja cromaticidad (incolora a simple vista). Mientras que la película con mayor contenido de aceite (15%) se mostró más rojiza y con una mayor cromaticidad. El comportamiento de color en este estudio es similar a los reportados en otros estudios (Januario y col., 2009; Gómez-Estaca y col., 2015). Se puede inferir que la intensidad de color más rojiza en las películas con mayor contenido de aceite, se debe a la presencia de licopeno. Gómez-Estaca y col. (2015), señalan que en películas a base de proteína de camarón con extractos de carotenoides con una coloración más amarillenta se debe a la presencia del β -caroteno, mientras que aquellas con coloración más naranja-rojizas se debe a la concentración del licopeno y la astaxantina.

Tabla 1. Propiedades de color de las películas de gelatina con diferente proporción de aceite rico en licopeno y β -caroteno.

Tratamientos	L^*	a^*	b^*	Croma	$^{\circ}hue$
0%	87.55 \pm 0.52 ^a	-1.26 \pm 0.11 ^a	5.62 \pm 0.20 ^a	5.76 \pm 0.17 ^d	102.63 \pm 1.48 ^d
5%	77.35 \pm 0.70 ^b	5.71 \pm 0.30 ^b	21.44 \pm 0.94 ^b	22.19 \pm 0.99 ^c	75.08 \pm 0.13 ^a
10%	72.90 \pm 0.94 ^c	11.68 \pm 1.26 ^c	32.97 \pm 1.72 ^c	34.98 \pm 2.04 ^b	70.54 \pm 1.00 ^b
15%	69.80 \pm 0.42 ^d	17.97 \pm 0.10 ^d	43.33 \pm 0.24 ^d	46.91 \pm 0.23 ^a	67.47 \pm 0.15 ^c

Los datos expresan valores promedio \pm la desviación estándar (n=3). Valores con la misma letra dentro de cada columna no presentan diferencia significativa de acuerdo con la prueba de Tukey a una $p \leq 0.05$

Licopeno y β -caroteno. La concentración del licopeno y β -caroteno se muestran en la Tabla 2. La concentración de licopeno fue significativamente mayor en las películas con mayor contenido de aceite. En cuanto al contenido de β -caroteno no se presentaron diferencias significativas en los tratamientos con 10 y 15% de aceite. El contenido de licopeno en las películas del presente estudio se encuentra por debajo de lo reportado por Gómez-Estaca y col. (2015), para películas enriquecidas con extracto de tomate. Este comportamiento se puede deber al solvente de extracción de licopeno, dado que en el presente estudio se utilizó aceite mineral, el rendimiento de extracción fue menor en comparación con solventes orgánicos como hexano o éter de petróleo. Por otra parte, se puede señalar que el contenido de licopeno y β -caroteno por cada 100 mg de películas es similar a la concentración de estos carotenoides en tomates frescos (Hanson y col., 2004; Vinha y col., 2014). Por lo que el consumo de este tipo de películas con carotenoides puede contribuir a la ingesta de licopeno y β -caroteno. El consumo de este tipo de carotenoides puede disminuir el riesgo de contraer cáncer y padecer enfermedades cardiovasculares.

Actividad antioxidante. El aceite rico en licopeno y β -caroteno se utilizó en las películas a base de gelatina de cerdo para ejercer actividad antioxidante. La inhibición que ejercen las películas del presente estudio sobre los radicales libres DPPH y ABTS⁺ se presentan en la tabla 2. Como se observa al incrementar la concentración de licopeno y β -caroteno en las películas aumenta la actividad antioxidante. Sin embargo, en las películas con 10 y 15% de aceite no se presentaron diferencias significativas. El aumento de la capacidad antioxidante en las películas se debe a la capacidad del licopeno y β -caroteno de inhibir o retardar procesos de oxidación, dado que estos compuestos interactúan de forma segura con los radicales libres y ponen fin a la reacción en cadena, específicamente inhiben la acción del oxígeno singlete [$O_2(a^1\Delta g)$], la oxidación de lípidos y tienen la capacidad de atrapar radicales peroxilo (ROO \bullet), (Ilahy y col., 2011; Cardona y col., 2013; Oroian y Escriche, 2015). El valor de la actividad antioxidante de las películas de este estudio es similar a lo reportado en la literatura donde se han incorporado otras sustancias con actividad antioxidante en películas comestibles (Tongnuanchan y col., 2012; Ruiz-Navajas y col., 2013). La presencia del licopeno, β -caroteno y por lo tanto la actividad antioxidante en las películas comestibles es favorable debido a que hacen de éstas una fuente importante de antioxidantes.

Tabla 2. Contenido de licopeno y β -caroteno y actividad antioxidante mediante los ensayos de DPPH y ABTS en películas de gelatina con diferente proporción de aceite rico en licopeno y β -caroteno.

Tratamientos	Licopeno (mg/100g)	β -caroteno (mg/100g)	ABTS (μ M Trolox/g)	DPPH (μ M Trolox/g)
0%	0.00 \pm 0.00 ^d	0.00 \pm 0.00 ^c	0.30 \pm 0.01 ^c	0.10 \pm 0.01 ^c
5%	0.72 \pm 0.03 ^c	0.11 \pm 0.02 ^b	1.79 \pm 0.10 ^b	0.58 \pm 0.02 ^b
10%	1.95 \pm 0.05 ^b	0.29 \pm 0.01 ^a	2.07 \pm 0.07 ^a	0.69 \pm 0.02 ^a
15%	2.08 \pm 0.02 ^a	0.30 \pm 0.01 ^a	2.14 \pm 0.04 ^a	0.74 \pm 0.03 ^a

Los datos expresan valores promedio \pm la desviación estándar (n=3). Valores con la misma letra dentro de cada columna no presentan diferencia significativa de acuerdo con la prueba de Tukey a una $p \leq 0.05$

CONCLUSIONES

El desarrollo de películas comestibles con capacidad antioxidante es viable mediante la incorporación de aceite rico en licopeno y β -caroteno. La película a la cual se le incorporó el 10% de aceite rico en carotenoides es la más prometedora ya que proporciona un buen aporte de licopeno y β -caroteno y una buena capacidad antioxidante frente a los radicales DPPH y ABTS⁺, sin que presente una coloración rojiza.

BIBLIOGRAFÍA

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Cardona, F., Andrés-Lacueva, C., Tulipani, S., Tinahones, F. J., & Queipo-Ortuño, M. I. (2013). Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. *The Journal of nutritional biochemistry*, 24(8), 1415-1422
- Erge, H. S., & Karadeniz, F. (2011). Bioactive compounds and antioxidant activity of tomato cultivars. *International Journal of Food Properties*, 14(5), 968-977.
- Gómez-Estaca, J., Calvo, M. M., Sánchez-Faure, A., Montero, P., & Gómez-Guillén, M. C. (2015). Development, properties, and stability of antioxidant shrimp muscle protein films incorporating carotenoid-containing extracts from food by-products. *LWT-Food Science and Technology*, 64(1), 189-196.
- Goula, A. M., & Adamopoulos, K. G. (2005). Stability of lycopene during spray drying of tomato pulp. *LWT-Food Science and Technology*, 38(5), 479-487.
- Hanson, P. M., Yang, R. Y., Wu, J., Chen, J. T., Ledesma, D., Tsou, S. C., & Lee, T. C. (2004). Variation for antioxidant activity and antioxidants in tomato. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 129(5), 704-711.
- Naranjo, R. D. D. P., Otaiza, S., Saragusti, A. C., Baroni, V., Carranza, A. D. V., Peralta, I. Valle, E.M, Carrari, F., & Asis, R. (2016). Hydrophilic antioxidants from Andean Tomato Landraces assessed by their bioactivities in vitro and in vivo. *Food chemistry*, 206, 146-155.
- Oroian, M., Escriche, I. (2015). Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International*, 74, 10-36.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9), 1231-1237.
- Ruiz-Navajas, Y., Viuda-Martos, M., Sendra, E., Perez-Alvarez, J. A., & Fernández-López, J. (2013). In vitro antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with *Thymus moroderi* or *Thymus piperella* essential oils. *Food Control*, 30(2), 386-392.
- Tongnuanchan, P., Benjakul, S., & Prodpran, T. (2012). Properties and antioxidant activity of fish skin gelatin film incorporated with citrus essential oils. *Food Chemistry*, 134(3), 1571-1579.
- Vinha, A. F., Barreira, S. V., Costa, A. S., Alves, R. C., & Oliveira, M. B. P. (2014). Organic versus conventional tomatoes: Influence on physicochemical parameters, bioactive compounds and sensorial attributes. *Food and chemical toxicology*, 67, 139-144.