

NUEVOS MATERIALES SOSTENIBLES PARA EL ENVASADO DE QUESO

Trabajo Fin de Grado

Grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Curso 2020/2021

AUTORA: Marta Sitges Piris

RESUMEN

La búsqueda de alternativas al uso de plástico en el envasado de alimentos es un tema de gran interés en la actualidad debido a la problemática que supone para el medio ambiente. Este trabajo se ha centrado en el estudio de tres aplicaciones de materiales sostenibles para el envasado de cuñas queso. Por una parte, se han realizado ensayos para optimizar la preparación de recubrimientos y películas comestibles a base de un subproducto de la industria quesera (proteínas del suero lácteo). Esta aplicación parece ser una opción interesante para la reducción de desechos plásticos no biodegradables, y al mismo tiempo, para revalorizar residuos de la cadena agroalimentaria, hecho que puede contribuir a la sostenibilidad del sector y favorecer la economía circular. Los resultados preliminares obtenidos han puesto de manifiesto el comportamiento favorable de las proteínas del suero lácteo en la formación de cubiertas comestibles, por lo que podría tratarse de una opción con gran potencial para la protección de alimentos como el queso. Por otra parte, se ha estudiado el comportamiento de un material plástico reciclable de alta barrera (polipropileno / EVOH / polietileno) para la conservación de cuñas de queso envasadas en diferentes condiciones de vacío y atmósfera modificada a lo largo de un tiempo de ocho semanas. Los resultados preliminares obtenidos parecen demostrar la eficacia de este material para mantener las condiciones en el interior del envase, y el efecto de la condición de envasado sobre la calidad final del queso.

ÍNDICE

1. Introducción	1
1.1. Plástico como material de envasado. Características y problemática actual	1
1.2. Alternativas de materiales sostenibles para el envasado de alimentos	2
1.3. Conservación del queso	4
2. Objetivos	5
3. Aplicaciones de nuevos materiales sostenibles para la conservación de queso	5
3.1. Recubrimientos comestibles: Ensayos de optimización de la formulación y aplicación	6
3.1.1. Materiales y métodos	6
3.1.1.1. Materiales	6
3.1.1.2. Preparación y aplicación de la emulsión	6
3.1.2. Resultados y discusión	8
3.2. Películas comestibles: Ensayos de optimización de la formulación y formación	13
3.2.1. Materiales y métodos	13
3.2.1.1. Materiales	13
3.2.1.2. Preparación de la solución y formación de la película	14
3.2.2. Resultados y discusión	15
3.3. Envasado en bolsas de plástico reciclable	17
3.3.1. Materiales y métodos	17
3.3.1.1. Selección del material y condiciones de envasado	17
3.3.1.2. Fraccionamiento de los quesos, envasado y conservación	17
3.3.1.3. Análisis de la calidad físico-química y sensorial de los quesos	18
3.3.2. Resultados	20
4. Conclusiones	21
5. Bibliografía	22

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Plástico como material de envasado. Características y problemática actual

Los plásticos han sido durante muchos años el material de envasado, por excelencia, de la mayoría de alimentos. Ofrecen altas propiedades barrera a los gases y vapor de agua, resistencia química y proporcionan aislamiento térmico, por lo que ayudan a la conservación de los alimentos y a la reducción del desperdicio de éstos (Comisión Europea, 2018). Además, se trata de un material muy ligero, versátil y barato, por lo que a simple vista parece la mejor opción a elegir a la hora de envasar un producto. Los tipos de plástico más utilizados en la industria alimentaria son el polietileno (PE), tereftalato de polietileno (PET), polipropileno (PP) y cloruro de polivinilo (PVP), entre otros. Todos estos materiales están fabricados a partir de fuentes fósiles y son resistentes a la degradación medioambiental. Cabe añadir que el proceso de reciclaje de los materiales plásticos convencionales puede resultar complicado, ya que se fabrican mediante procesos que no permiten la posterior separación de sus distintos componentes y, por tanto, muchas veces no pueden reciclarse (Téllez Maldonado, 2012).

Durante las últimas décadas ha habido un aumento de la demanda de alimentos envasados por parte del consumidor y, por tanto, un aumento de los desechos generados. Según datos de la Comisión Europea, anualmente se generan en Europa unos 25,8 millones de toneladas de residuos de plástico, menos del 30 % de ellos se recogen para su reciclado y entre 5 y 13 millones de toneladas de residuos de plástico acaban en el océano, lo que supone que más del 80% de la basura marina es plástico. Esto representa un gran problema medioambiental por la presencia de microplásticos en el mar, que además pueden llegar al consumidor a través de los peces de agua salada. Por lo que, en 2017, la Comisión Europea se comprometió a que en el año 2030 todos los envases de plástico sean reciclables, reutilizables o compostables. Para ello, presentó una serie de medidas con el fin de impulsar una mejora en el reciclado de estos materiales, una reducción del uso de envases de un solo uso y de promover la inversión e investigación de alternativas, como nuevas materias primas para la producción de plástico o medidas para la economía circular del mismo (Comisión Europea, 2018). Además, este compromiso europeo ha venido acompañado por la implantación de nuevas normativas relacionadas con la reducción del consumo de bolsas de plástico (RD 293/2018), los envases y residuos de envases (DUE 852/2018) y relativa a la reducción del impacto de determinados productos de plástico en el medio ambiente (DUE 904/2019).

1.2. Alternativas de materiales sostenibles para el envasado de alimentos

La eliminación de los envases de plástico de un solo uso es cada vez una realidad más próxima, por lo que encontrar alternativas sostenibles a estos materiales se ha convertido en una necesidad. Algunos de los materiales sostenibles que pueden utilizarse para el envasado de alimentos son los siguientes:

a) Polímeros biodegradables o bioplásticos

Estos materiales pueden ofrecer grandes ventajas desde el punto de vista de la sostenibilidad. Son capaces de descomponerse en cortos periodos de tiempo por la acción de microorganismos presentes en el ambiente y, a partir de ellos, obtener recursos aprovechables como CO₂, sales minerales o incluso biomasa. Pueden diferenciarse dos tipos de polímeros biodegradables, naturales y sintéticos. Los naturales provienen de fuentes renovables como por ejemplo almidón, celulosa y colágeno, o bien pueden obtenerse mediante la acción de determinados microorganismos capaces de fermentar azúcares y obtener así polihidroxialcanoatos. Por otro lado, los sintéticos pueden obtenerse a partir de derivados del petróleo o fuentes renovables, pero su proceso de producción incluye una síntesis industrial. Dentro de este grupo se puede encontrar el ácido poliláctico o los poliésteres aromáticos (Pascual, 2016). Otra ventaja que ofrecen los polímeros biodegradables es que pueden contribuir a la revalorización de subproductos de la industria agroalimentaria, ya que pueden fabricarse a partir de residuos o biomasa.

Sin embargo, aunque estos materiales podrían suponer un gran avance en la reducción de los desechos plásticos, las propiedades físico-químicas que ofrecen no son iguales a las de los plásticos convencionales. Propiedades como la permeabilidad a los gases, la resistencia térmica, química o física, entre otras, son más limitadas en este tipo de materiales y, por tanto, la conservación y el tiempo de vida útil de los alimentos puede verse reducida con respecto al ofrecido por los materiales plásticos convencionales (Pardo *et al.*, 2019). Aunque estos materiales se encuentran en fase de desarrollo para mejorar sus propiedades y actualmente suponen un alto coste, ofrecen, sin duda, un futuro muy prometedor.

b) Plásticos reciclados/reciclables

Este tipo de materiales siguen teniendo su origen en fuentes fósiles, pero el proceso de fabricación es tal, que sus componentes pueden separarse y ser reciclados de forma individual (Téllez Maldonado, 2012). Cabe añadir que estos materiales proporcionan buenas propiedades barrera y resistencia, por lo que cabe esperar que la conservación de los alimentos sea similar a la ofrecida por los plásticos convencionales. Sin embargo, las incertidumbres en torno a su empleo (suministro fiable, rentabilidad, resultados, entre otros) hace que en la actualidad en la UE la utilización de este tipo de plásticos sea bajo y a menudo

limitado a aplicaciones muy concretas. En este sentido, la Comisión Europea se ha propuesto fomentar la confianza de la industria en la calidad de los plásticos reciclables y reciclados.

El reciclado de estos plásticos puede llevarse a cabo de dos formas diferentes. Por una parte, mediante el reciclado mecánico, que es el que se realiza principalmente. Éste consiste en recoger los plásticos, limpiarlos, trocearlos, limpiarlos de nuevo y embalarlos para su utilización en la fabricación de nuevos productos mediante operaciones mecánicas como la extrusión o inyección (Arandes *et al.*, 2004). Por otra parte, se puede realizar el reciclado químico, que incluye distintos métodos como son la pirolisis, hidrogenación, gasificación o craqueo. Mediante el reciclado químico se pueden obtener los monómeros que forman parte de un plástico y a partir de ellos fabricar nuevos plásticos (Téllez Maldonado, 2012).

c) Recubrimientos y películas comestibles

Otra de las alternativas sostenibles para el envasado de alimentos a la que se le está prestando gran atención es la utilización de recubrimientos o películas comestibles. Este tipo de materiales pueden obtenerse a partir de fuentes renovables y son totalmente biodegradables. La utilización de recubrimientos comestibles puede retardar la migración de humedad, gases, grasas, aceites o compuestos volátiles del alimento, y al mismo tiempo pueden servir de vehículo para la incorporación de compuestos que sirvan para prolongar su vida útil (Ávila-Sosa y López-Malo, 2008). Sin embargo, generalmente, con esta alternativa no se pretende sustituir el envase por completo, sino mejorar la calidad del alimento mediante la incorporación de compuestos antioxidantes, antimicrobianos y/ o compuestos que aporten un valor nutricional añadido, y permitir así que el envase secundario tenga unos requerimientos menores y sirva solamente como barrera física frente a la contaminación externa.

Los recubrimientos y películas comestibles pueden prepararse a base de diferentes compuestos, principalmente, polisacáridos (quitosano, alginato o goma guar), lípidos (ceras) o proteínas. Sin embargo, estos tres componentes pueden formar parte de una misma formulación ya que existe una relación sinérgica entre ellos. El hecho de añadir polisacáridos a una formulación proteica produce un incremento de su viscosidad y, por tanto, que la adherencia del material al alimento sea mejor (Henriques *et al.*, 2016). Por otro lado, el uso de lípidos en una formulación puede proporcionar brillo, valor nutricional y, además, incrementar la impermeabilidad de la misma, ya que, al tratarse de un compuesto hidrofóbico, se ve disminuida la permeabilidad al vapor de agua (Henriques *et al.*, 2016). Además, suelen utilizarse también otros compuestos como plastificantes, para aumentar su resistencia, y agentes tensioactivos que impiden la separación de fases de la emulsión. Paralelamente, se utilizan otros ingredientes como saborizantes o colorantes para mejorar las propiedades sensoriales, así como compuestos antioxidantes, antimicrobianos, ácidos grasos o

conservantes que pueden ser adicionados para mejorar sus propiedades funcionales (Costa *et al.*, 2018).

La diferencia entre un recubrimiento y una película hace referencia principalmente a su forma de aplicación. Los recubrimientos se forman directamente sobre la superficie del alimento, y pueden aplicarse por inmersión, spray o pincelado. Mientras que las películas se forman sobre una superficie, como puede ser un molde de silicona, y se dejan secar en condiciones adecuadas. Una vez la película ya se ha formado, está lista para ser aplicada sobre una muestra del alimento (Falguera *et al.*, 2011).

1.3. Conservación del queso

El queso es una matriz muy compleja y variable según el tipo del que se trate. Aquellos quesos con mayor contenido en agua van a ser más susceptibles al crecimiento bacteriano, mientras que los quesos con menor actividad de agua, más maduros, serán más susceptibles al desarrollo de mohos y levaduras. Además, los quesos con un contenido graso más elevado podrán sufrir enranciamiento durante su almacenamiento (Jalilzadeh *et al.*, 2015). Por tanto, su envasado en atmósfera modificada debe realizarse eliminando en mayor medida el oxígeno, para evitar la oxidación de lípidos y el desarrollo de bacterias, mohos y levaduras. La atmósfera utilizada suele ser principalmente dióxido de carbono y una pequeña cantidad de nitrógeno. El nitrógeno va a impedir que se produzca el colapso del envase y, por tanto, que se pierda la efectividad del mismo (Karaman *et al.*, 2015). El material de envasado a utilizar, tanto en el envasado en atmósfera modificada como en el envasado al vacío, deberá tener unas propiedades de alta barrera con el fin de evitar la entrada de oxígeno en su interior y evitar también que el dióxido de carbono migre hacia el exterior.

Cabe añadir que en los últimos años la demanda de productos listos para el consumo, como es el queso en porciones, ha sufrido un aumento (MAPA, 2020) y, por tanto, las condiciones de envasado se han tenido que adaptar a las nuevas necesidades del consumidor. Por otra parte, se manifiesta la preocupación por parte del sector quesero local por la reducción del impacto medioambiental, tanto de la producción como de la utilización de plástico para el envasado de los productos, queriendo apostar por nuevas alternativas más sostenibles y amables con el medio ambiente.

Cualquiera de las opciones descritas anteriormente representa una buena alternativa de envasado sostenible, pero la bibliografía publicada evidencia que los materiales y las condiciones a utilizar deben ser optimizados para cada tipo de alimento.

2. Objetivos

Los objetivos que se plantean en el presente trabajo son los siguientes:

1. Evaluar el comportamiento del aislado de proteínas del suero lácteo como base para la formulación de recubrimientos comestibles para queso.
2. Evaluar el comportamiento del aislado de proteínas del suero lácteo para la formación de películas comestibles para queso.
3. Comprobar el comportamiento de un material plástico reciclable para la conservación de queso envasado en condiciones de vacío y diferentes atmósferas modificadas.

3. Aplicaciones de nuevos materiales sostenibles para la conservación de queso

Este trabajo se ha centrado en tres aplicaciones de materiales sostenibles para el envasado de queso en porciones. El trabajo se ha llevado a cabo en la Facultad de Farmacia dentro de un proyecto del Grupo de Investigación LACTIKER (Calidad y Seguridad de Alimentos de Origen Animal).

Uno de los objetivos de este trabajo era desarrollar un material comestible que quedara adherido a cuñas de queso de forma que no fuera perceptible y que, a la vez, proporcionara protección frente a humedad, microorganismos y posible contaminación externa. Se utilizó aislado de proteína de suero lácteo (WPI) como componente principal ya que ofrece buenas propiedades barrera frente a gases (Kurek y Debeaufort, 2014) y contribuye a que la aparición de mohos y levaduras se vea disminuida, que el queso mantenga sus propiedades organolépticas durante un tiempo más prolongado y se eviten pérdidas de agua durante su almacenamiento, de tal forma que la textura, apariencia y sabor se mantengan inalteradas (Jooyandeh, 2011). En comparación con otros aislados de proteína como el de soja, maíz o gluten, el aislado de proteína de suero lácteo presenta mejores propiedades barrera frente al oxígeno, así como mejores propiedades mecánicas (Samadani *et al.*, 2019). Además, al tratarse de un producto que proviene de la elaboración del propio queso, presenta características sensoriales muy próximas evitando así que se puedan aportar nuevos sabores u olores a los quesos recubiertos. Asimismo, el aprovechamiento de este subproducto de la industria quesera puede contribuir a la sostenibilidad del sector y favorecer la economía circular.

Por otra parte, otro de los objetivos era comprobar la eficacia de bolsas de plástico reciclable para el envasado de quesos en condiciones de vacío y distintas condiciones de atmósfera

modificada. El material utilizado fue un plástico multicapa de polipropileno/EVOH/polietileno, con propiedades de alta barrera frente a gases y humedad, transparencia similar al plástico convencional y reciclabilidad del 87%. Los plásticos reciclables son materiales muy recientes y todavía están en período de desarrollo y mejora, por lo que es muy escasa la bibliografía disponible sobre su empleo. Singh *et al.* (2018) estudiaron el comportamiento de bolsas de PET reciclado para el envasado de queso fresco, y concluyeron que se trataba de un material con propiedades físico-químicas adecuadas para su conservación.

3.1. Recubrimientos comestibles: Ensayos de optimización de la formulación y aplicación

3.1.1. Materiales y métodos

3.1.1.1. Materiales

Los ingredientes utilizados fueron los siguientes: aislado de proteínas del suero lácteo (Fonterra, Auckland, Nueva Zelanda), goma guar, glicerol y sorbitol (Apsa, Rentería, España), Tween 20 (Sigma, Munich, Alemania), aceite de cacahuete e hidróxido de sodio (Panreac, Barcelona, España), aceite de girasol y oliva (Aceites Abril S.L., Ourense, España) y aceite de nuez y aguacate (La Tourangelle, Allonnes, Francia).

Los equipos empleados fueron: placa agitadora magnética Stuart modelo SB 162-3 (Staffordshire, Reino Unido), balanza Adam modelo LTB 2602e (Milton Keynes, Reino Unido), Ultraturax T 25 basic IKA-WERKE (Staufen, Alemania), baño con agitación Unitronic OR Selecta (Barcelona, España), bomba de vacío de membrana Comecta-Iymen modelo GM-0,5 (Barcelona, España) y pH-metro modelo GLP 21+ con electrodo de penetración Hach (Düsseldorf, Alemania).

3.1.1.2. Preparación y aplicación de la emulsión

La formulación base que se utilizó para el desarrollo de los recubrimientos fue la propuesta por Ramos *et al.* (2012a), en la que se parte de una solución preparada a partir de una mezcla de aislado de proteínas de suero lácteo (WPI) (10% p/v), glicerol (5% p/v), goma guar (0,7% p/v), aceite de girasol (10% p/v) y Tween 20 (0,2% p/v). Según Ramos *et al.* (2012a), estas concentraciones son óptimas para mejorar propiedades como la viscosidad, hidrofobicidad y estabilidad de la preparación, sin comprometer significativamente las propiedades físicas del material.

El glicerol es un plastificante ampliamente utilizado en la preparación de recubrimientos comestibles por aportar flexibilidad, extensibilidad e impermeabilidad (Campos *et al.*, 2011). La incorporación de algún compuesto plastificante es necesario para obtener recubrimientos flexibles y maleables, y el glicerol parece ser una de las mejores opciones debido a su buena estabilidad y compatibilidad con compuestos hidrófilos (Fernández Cervera *et al.*, 2004).

La goma guar es un polisacárido utilizado habitualmente como espesante natural en alimentos para aumentar su viscosidad, y en las preparaciones de recubrimientos comestibles se utiliza como estabilizante de la emulsión y generador de viscosidad (Skurtys *et al.*, 2014). Tiene capacidad para formar recubrimientos y películas debido a su alta solubilidad en agua y, por tanto, alta estabilidad (Pourmolaie *et al.*, 2018). El aceite de girasol contribuye a disminuir la permeabilidad al vapor de agua, así se evita que el queso pierda agua y acabe secándose durante su conservación (Ramos *et al.*, 2012a). Además, la incorporación de distintos tipos de aceites puede proporcionar propiedades antioxidantes o añadir valor sensorial o nutricional a los recubrimientos, como el aceite de nuez (Samadani *et al.*, 2019) o de almendra (Galus y Kadzinska, 2016). Por último, el Tween 20 es un compuesto tensioactivo, es decir, se coloca en la interfase de las emulsiones disminuyendo su tensión interfacial y evita la separación de las fases que componen la emulsión (Ramos *et al.*, 2012a).

Para la preparación de la solución de recubrimiento primero se disolvió el aislado de proteínas de suero lácteo en agua desionizada y se añadió el glicerol. La solución se mantuvo en agitación magnética durante 2 horas a temperatura ambiente con objeto de disolver por completo el WPI y el glicerol en el agua. A continuación, se llevó a un baño con agitación a 80°C durante 20 minutos. El calentamiento de las proteínas produce cambios en su estructura tridimensional y da como resultado la exposición de los grupos sulfhidrilo e hidrofóbicos. Esto provoca que los recubrimientos sean más resistentes y menos quebradizos debido a que durante el secado de los mismos se podrán generar nuevos enlaces (Ramos *et al.*, 2012b). Transcurrido ese tiempo, se introdujo en un baño con agitación a 45°C durante una hora. A continuación, se incorporó la goma guar con agitación magnética a 45°C durante 20 minutos y una vez disuelta, se incorporó también el aceite de girasol y el Tween20. Transcurridos 20 minutos en agitación magnética a temperatura ambiente, la solución se homogeneizó con Ultraturrax a 19.000 rpm durante 4 minutos, para facilitar la formación de la emulsión y evitar la presencia de grumos, y se pasó por una bomba de vacío con el fin de eliminar todo el aire que se podía haber incorporado. Por último, se ajustó el pH con NaOH 0,1 N hasta un valor de 7. Una vez obtenida la solución, las muestras de queso se sumergieron en ella durante 2 minutos y posteriormente se dejaron secar durante 24h a 12°C±1°C.

Para la optimización de esta aplicación, se estudió el efecto sobre las características de la preparación de algunos parámetros como las condiciones de desnaturalización de las proteínas y el pH de la solución. Además, se ensayó, por una parte, el efecto de la incorporación de diferentes concentraciones de glicerol, así como la sustitución del mismo por distintas cantidades de sorbitol como material plastificante, y, por otra parte, el efecto de la incorporación de diferentes tipos de aceites (oliva, aguacate, nuez y cacahuete) en la formulación.

3.1.2. Resultados y discusión

- **Desnaturalización de las proteínas al inicio de la preparación de la emulsión**

Las proteínas del suero lácteo contienen inmunoglobulinas, α -lactoglobulinas, β -lactoglobulinas y albúmina sérica, todas ellas proteínas globulares que al ser sometidas a temperaturas superiores a 80°C pueden sufrir una desnaturalización, es decir, su estructura tridimensional sufre cambios conformacionales que permiten la formación de nuevas interacciones hidrofóbicas con otras proteínas, lo que permite la formación de un gel proteico. Cabe añadir que, al desnaturalizarse pueden actuar como emulsificantes y ayudar en la formación y estabilidad de la emulsión (Singh y Waungana, 2001). Según se describe en la bibliografía, el hecho de desnaturalizar las proteínas antes de añadir el plastificante hace que la red de proteica que se forma sea más compacta y que las películas resultantes sean más resistentes (Pérez-Gago *et al.*, 1999). Henriques *et al.* (2013), observaron como el hecho de desnaturalizar las proteínas provocaba un aumento en la viscosidad de la solución de recubrimiento y, por tanto, se conseguían recubrimientos más finos y con mejor adherencia al queso. Sin embargo, los recubrimientos obtenidos presentaban un color más oscuro, debido probablemente a que con el tratamiento térmico sucedieron reacciones de pardeamiento como la de Maillard. Otros autores también proponen llevar a cabo la desnaturalización de WPI para la formación de recubrimientos (Galus y Kadzinska, 2016; Kokoszka *et al.* 2010).

En este ensayo, el primer paso en la preparación de la emulsión fue el calentamiento del aislado de proteínas de suero lácteo con agua desionizada en un baño a 90°C durante 30 minutos y sin agitación. Este paso sustituyó la agitación magnética durante dos horas a temperatura ambiente que proponía la formulación original de Ramos *et al.* (2012a). Durante el proceso de preparación se observó cómo se crearon más grumos y, tras homogeneizar, la textura fue algo más densa y espesa. A pesar de ello, presentó un color blanco opaco brillante, al igual que con la formulación base, y cubrió por completo al queso. Tras el tiempo de secado no se presentaron grumos ni marcas visibles sobre la superficie del queso. Por lo cual, se decidió llevar a cabo la desnaturalización de la solución ya que no se apreciaron diferencias significativas con la solución sin desnaturalizar y así se consiguió acortar el tiempo de preparación

- **pH de la preparación**

En la bibliografía se describe que cambios en el pH de las preparaciones proteínas-lípidos pueden afectar a la estabilidad de la emulsión y permeabilidad al vapor de agua del material resultante (Pérez-Gago y Krochta, 1999). El punto isoeléctrico de las proteínas del suero está próximo a un valor de 5, valores superiores o inferiores a éste pueden producir cambios en las cargas netas de las proteínas y, por tanto, en las fuerzas de atracción o repulsión que se

vayan a generar. A valores de pH cercanos a 3, las proteínas sufren cambios conformacionales que hacen que la capacidad para formar películas se vea reducida. Asimismo, las interacciones intermoleculares entre proteínas en la interfase dan como resultado la formación de películas interfaciales viscoelásticas que contribuyen a la estabilidad de la emulsión (Lam y Nickerson, 2013).

Varios autores han estudiado el efecto del pH en la formación de películas a base de proteína de guisante (Viroben *et al.*, 2000) y proteína de soja (Cao y Chang, 2001). Sin embargo, no existe mucha información sobre la relación entre la incorporación de lípidos en la formulación y el ajuste de pH. Pérez-Gago y Krochta (1999) estudiaron la permeabilidad al vapor de agua de preparaciones a base de aislado de proteínas de suero lácteo y lípidos (cera de abeja) en función del valor de pH. Las preparaciones con pH 7 mostraron el menor valor de permeabilidad, esta característica aumentó al reducirse el pH, y resultó máxima a pH 5. Sugirieron que, además del efecto provocado por el pH en la carga neta de las proteínas, otros factores como la viscosidad pueden afectar a la estabilidad de las gotas de los lípidos utilizados y, por tanto, a la permeabilidad al vapor de agua de estos materiales. Sus resultados no mostraron diferencias significativas en esta característica para las preparaciones con valores de pH 6, 7 y 8. Yoshida y Antunes (2004) estudiaron el efecto de la incorporación de ácido esteárico en películas a base de WPI a distintos pHs (5, 6, 7 y 9), concluyeron que, a pH 9, la permeabilidad al vapor de agua y solubilidad de las proteínas fue mayor, mientras que estas dos propiedades se veían disminuidas al aumentar la cantidad de ácido esteárico. Por otra parte, Zhou *et al.* (2021) han descrito, recientemente, la obtención de películas más elásticas con valores de pH 7.

El pH resultante en la formulación base utilizada en los ensayos comprendió valores entre 6,3 y 6,5. Con los datos de la bibliografía y las observaciones realizadas, se determinó ajustar el pH a un valor de 7 con el fin de obtener una mayor estandarización de los ensayos. La apariencia de las preparaciones y de las muestras de queso una vez ajustado el pH no mostraron diferencias con aquellas en las que no se modificó el pH.

- **Tipo y cantidad de plastificante en la formulación**

El glicerol es el plastificante más utilizado en la preparación de recubrimientos comestibles a base de proteínas debido a su mayor estabilidad (Campos *et al.*, 2011; Cecchini *et al.*, 2017). En este sentido, Ramos *et al.* (2013) señalaron que se requiere una cantidad relativamente alta de glicerol (5%, p/p) para obtener buenas propiedades plastificantes, así como propiedades de permeabilidad, ópticas, mecánicas y térmicas adecuadas.

Wagh *et al.* (2014) compararon la utilización de glicerol frente a sorbitol en la preparación de recubrimientos para queso Cheddar y observaron que el glicerol resultó ser más efectivo, se

necesitaba menor cantidad de este para conseguir películas flexibles y no quebradizas. Sin embargo, señalaron que los recubrimientos que contenían sorbitol tenían menor permeabilidad al vapor de agua y, por tanto, absorbieron menor humedad. Por otra parte, Kavas *et al.* (2015) concluyeron que con el sorbitol se conseguían películas con menor fragilidad. En este sentido, otros autores describieron que los materiales a base de WPI y sorbitol presentaban mayor estabilidad durante el almacenamiento, a temperatura y humedad relativa constante, que aquellos que contenían WPI y glicerol (Rossi-Márquez *et al.*, 2009).

Para estudiar el efecto del sorbitol en la formulación base mencionada, se tomó como referencia el ensayo realizado por Kavas y Kavas (2014) y se utilizó sorbitol en una concentración del 3% (p/v), que sustituyó al 5% (p/v) de glicerol que se estaba utilizando. El resto de los componentes de la formulación mantuvieron sus proporciones originales. La apariencia de los recubrimientos resultantes no presentó diferencias con respecto a los que contenían 5% de glicerol, en ambos casos la textura fue muy parecida y presentaron buena adherencia a la superficie de la muestra de queso. Tras el tiempo de secado, el aspecto fue homogéneo y el recubrimiento no se apreciaba, por lo que el resultado fue satisfactorio.

Por otra parte, otros autores han propuesto la utilización de sorbitol en diferentes proporciones, como Wagh *et al.* (2014), que utilizaron en la formulación el mismo porcentaje de aislado de proteínas y plastificante. En base a este trabajo, se utilizó un 10% (p/v) de WPI y un 10% (p/v) de sorbitol, y se mantuvieron las cantidades de los demás compuestos y procedimiento de preparación inalteradas. Durante el proceso de preparación, se apreció que la textura de la solución era mucho más fluida y algo más translúcida. Al realizar la inmersión de las muestras de queso, se observó que quedaba mucha menor cantidad de solución de recubrimiento adherida a la superficie de la muestra, por lo que esta formulación se descartó ya que los quesos no quedaban recubiertos en toda su extensión.

- **Tipo de aceite en la formulación**

Las propiedades físicas y mecánicas de las preparaciones son muy dependientes de la presencia de lípidos. Éstos pueden mejorar las propiedades barrera de los materiales, pero a su vez, dar lugar a materiales menos resistentes (Cecchini *et al.*, 2017).

La incorporación de aceites a los recubrimientos y películas comestibles puede proporcionar mayor impermeabilidad, mayor barrera frente a la humedad, y también pueden incrementar el valor nutricional de los mismos (Galus y Kadzinska, 2016). En la bibliografía, son varios los ensayos descritos en los que emplean diferentes aceites en preparaciones de recubrimientos a base de WPI. Entre ellos, Galus y Kadzinska (2016) realizaron un estudio comparando la incorporación de aceite de almendra y de nuez en la formación de recubrimientos a base de WPI y glicerol. Ambos aceites son ricos en ácidos grasos mono y poliinsaturados, por lo que

pueden aportar beneficios nutricionales, aparte de mejorar las propiedades mecánicas y de barrera de los recubrimientos. Observaron cómo la opacidad de las películas aumentaba con la incorporación de aceite y su apariencia era algo más heterogénea que la muestra sin recubrimiento. Por otra parte, disminuyó la permeabilidad al vapor de agua, al igual que disminuyeron las propiedades mecánicas de los mismos, se obtuvieron recubrimientos más frágiles. Además, concluyeron que el aceite de almendra ofrecía mejores propiedades plastificantes y efectividad que el de nuez. En otro ensayo realizado por Shaw *et al.* (2002) en el que se estudió el efecto que tenía la utilización de aceite de soja en recubrimientos a base WPI y glicerol, se observó que la incorporación de aceite daba como resultado películas con mayor opacidad y fragilidad, mientras que otras propiedades como la permeabilidad al vapor de agua estaban principalmente relacionadas con la cantidad de plastificante utilizado y no con la cantidad de aceite. Sin embargo, en ninguno de los trabajos mencionados se hace referencia a las características sensoriales de los quesos con recubrimientos que contengan distintos aceites.

El aceite base utilizado en la formulación de este trabajo fue aceite de girasol, el cual tiene un color amarillo poco intenso y aporta poco sabor. Se estudió el efecto de la sustitución de este aceite por el de oliva, cacahuete, aguacate y nuez. En todos los casos, la cantidad utilizada fue la misma que en la formulación base (10% p/v) y el procedimiento utilizado fue el propuesto por Ramos *et al.* (2012a).

Se observaron algunas diferencias durante la preparación de las emulsiones, así como tras la inmersión de las muestras de queso. La preparación con aceite de aguacate, presentó un color amarillo/verdoso y era inodora. Mientras que la preparación con aceite de nuez tomó una coloración algo marrón y tenía un ligero olor a tostado/fruto seco. Las preparaciones con aceite de oliva y cacahuete presentaron un color y olor muy similar a la original con aceite de girasol.

En relación a la textura de la solución, aquellas que contenían aceite de girasol y oliva fueron las que presentaron mayor densidad, mientras que las de aguacate, nuez y cacahuete presentaron una textura algo más fluida. La preparación con aceite de cacahuete fue la que menor densidad presentó, hasta el punto de que al sumergir las muestras de queso quedó menor cantidad adherida a estas. Las preparaciones con aceite de girasol, oliva, aguacate y nuez se adhirieron perfectamente al queso y proporcionaron una adecuada cobertura de la superficie. Tras el tiempo de secado, ninguno de los recubrimientos se apreció especialmente, todos quedaron bien adheridos al queso y no presentaron ninguna de las coloraciones u olores que se habían percibido durante la preparación de las soluciones. Cabe indicar que los quesos recubiertos con las preparaciones de aceite de girasol y oliva, al ser más densas, formaron algún grumo en la superficie apreciable tras el tiempo de secado. En cuanto a las muestras

recubiertas con las formulaciones que contenían aceite de aguacate y nuez, presentaron algún pequeño cúmulo de recubrimiento en la parte inferior, lo que parecía indicar un escurrido deficiente tras la inmersión.

Con el fin de realizar una primera valoración sobre el posible efecto de los diferentes aceites sobre las características organolépticas de los quesos, se realizó en el laboratorio una prueba preliminar sensorial de las muestras de queso. Se recubrieron dos muestras de queso con cada tipo de aceite, y se analizaron sensorialmente (sabor, textura y apariencia) tras 8 y 15 días almacenadas a $4^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$.

En el análisis olfato gustativo, las muestras con los recubrimientos que incluían aceite de oliva y de nuez presentaron algunas notas de rancidez. Además, con la utilización de aceite de girasol y nuez, se percibieron sabores céreos y aceitosos. Las muestras que contenían aceite de cacahuete fueron las que mejores resultados obtuvieron. Por lo que respecta a la textura, todas las muestras estaban secas, se observó que este tipo de recubrimiento no parece ofrecer protección frente a la pérdida de agua. Sin embargo, las muestras con aceite de aguacate y cacahuete fueron las que menor sequedad presentaron en la segunda sesión, lo que parece indicar que el tipo de aceite que se utilice influye en la permeabilidad del recubrimiento. La apariencia de la corteza fue mejor en aquellas muestras que contenían aceite de aguacate en su formulación, mientras que las que contenían aceite de girasol y oliva fueron las menos homogéneas. Los quesos con recubrimientos con aceite de aguacate y nuez fueron los que presentaron menor homogeneidad de color de la pasta, aunque ninguno de ellos se observó totalmente homogéneo, lo que parece indicar que el proceso de homogeneización de la preparación debería optimizarse.

Por tanto, las preparaciones que, a priori, parecieron presentar mejor comportamiento fueron las que incluían aceite de aguacate y cacahuete. Esta última fue la que obtuvo los mejores resultados, ya que la sequedad de las muestras no aumentó, fue la que mayor homogeneidad presentó y la que menor cantidad de sabores extraños confirió a las muestras de queso. Estos resultados pueden tomarse como orientativos y dar una idea sobre los aspectos que deberían optimizarse en la preparación de recubrimientos.

A la vista de los resultados obtenidos, se decidió mantener el procedimiento propuesto por Ramos *et al.* (2012a) con algunas modificaciones. Una de ellas fue llevar a cabo la desnaturalización previa de las proteínas, ya que así se acortó el tiempo de preparación y, además, se obtuvo una solución con mayor densidad por lo que la adherencia al queso fue mejor. La otra fue ajustar el pH a un valor de 7 en todas las preparaciones ya que no se observaron diferencias en los resultados finales y de esta manera se consiguió homogeneizar las preparaciones. En cuanto a la formulación, se observó que el glicerol ofrecía buenas

propiedades ópticas y mecánicas y que la cantidad propuesta por Ramos *et al.* (2012a) fue adecuada, por lo que la cantidad y el tipo de plastificante a utilizar no se modificaron. Por último, por lo que se refiere a la utilización de distintos aceites, los resultados parecieron indicar que el aceite de cacahuete y aguacate podían ofrecer buenos resultados en la preparación de recubrimientos. Sin embargo, se necesitarían más estudios para poder seleccionar uno de ellos ya que va a depender de las características finales que se quieran obtener.

Los resultados obtenidos hasta el momento han permitido realizar una evaluación preliminar sobre el comportamiento de las proteínas del suero lácteo en la preparación de recubrimientos y su aplicación en el queso. Es necesario continuar el estudio para evaluar su efecto sobre la conservación y la calidad final del queso.

3.2. Películas comestibles: Ensayos de optimización de la formulación y formación

A la hora de preparar una película debe tenerse en cuenta que, a diferencia de los recubrimientos, las preparaciones deben tener una textura algo menos densa y el resultado final deberá tener flexibilidad, extensibilidad y resistencia, ya que las películas deben ser maleables y mantenerse por sí solas, a diferencia de los recubrimientos, que se forman directamente en la superficie del queso (Zhong *et al.*, 2014).

Existen numerosos estudios en los que se propone la utilización de WPI para la preparación de películas para quesos. Seydim *et al.* (2020) proponen la utilización de WPI y aceites esenciales de plantas para la preparación de películas para queso Kashar en lonchas; Pluta-Kubica *et al.* (2020) estudiaron la incorporación de extractos de té en películas a base de WPI para queso fresco; Wagh *et al.* (2014) realizaron un ensayo de preparación y caracterización de películas a base de WPI para la conservación de queso Cheddar; y Di Pierro *et al.* (2011) estudiaron el efecto de la utilización de películas a base de quitosano y WPI en la conservación de queso Ricota.

3.2.1. Materiales y métodos

3.2.1.1. Materiales

Los ingredientes utilizados fueron los siguientes: aislado de proteínas de suero lácteo (Fonterra, Auckland, Nueva Zelanda), glicerol y sorbitol (Apsa, Rentería, España), hidróxido de sodio (Panreac, Barcelona, España) y aceite de girasol (Aceites Abril S.L., Ourense, España).

Los equipos empleados fueron los descritos en el apartado 3.1.1.1.

3.2.1.2. Preparación de la solución y formación de la película

La formulación base seleccionada para desarrollar la película comestible fue la propuesta por Ramos *et al.* (2013). Éstos proponían una formulación con aislado de proteína de suero lácteo (10% p/v) y glicerol (5% p/v). A partir de ella se realizaron algunas modificaciones con el objetivo de obtener un material flexible, maleable y resistente, y que, a la vez, fuera lo más transparente y homogénea posible.

Para la preparación de las películas, primero se disolvió el aislado de proteínas de suero lácteo en agua desionizada, y seguidamente, se añadió el glicerol. La solución se llevó a agitación magnética a temperatura ambiente ($20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) durante 2 horas para disolver por completo el WPI y el glicerol. Transcurrido este tiempo, se introdujo en un baño con agitación a 80°C durante 20 minutos con objeto de modificar la estructura tridimensional de las proteínas y permitir así que se formaran nuevos enlaces intermoleculares, ya que estos contribuyen a la integridad y flexibilidad de la película (Le Tien *et al.*, 2000). A continuación, se dejó enfriar a temperatura ambiente ($20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) durante 1,5 horas y pasado este tiempo, se pasó por una bomba de vacío con el objetivo de eliminar las burbujas de aire que se pudieran haber incorporado durante la agitación (Seydim y Sarikus, 2006). El último paso fue ajustar el pH con NaOH 0,1N hasta un valor de 7. Finalmente, la solución se vertió en moldes de silicona, en una cantidad suficiente para cubrir su superficie, y se dejó secar a temperatura ambiente, aproximadamente $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, durante 24/48 horas, dependiendo de la formulación.

A partir de la formulación base se realizaron algunas modificaciones con el objetivo de optimizar la formación de las películas. Por una parte, se estudió el efecto de la modificación de las condiciones de desnaturalización de las proteínas al inicio de la preparación de la solución, ya que al igual que con los recubrimientos, la desnaturalización puede producir cambios estructurales en las proteínas que pueden dar lugar a cambios en las propiedades mecánicas de las películas. También se estudió el efecto de la homogeneización de la solución ya que, a pesar de no tratarse de una emulsión como ocurre con los recubrimientos, mediante la homogeneización se consigue una mejor cohesividad de los ingredientes, y da como resultados películas con mayor homogeneidad. Y, por último, se estudió la incorporación de aceites a la formulación base. Además, se llevaron a cabo ensayos en los que se utilizaron otras formulaciones distintas a la propuesta por Ramos *et al.* (2013) que se había seleccionado como base.

3.2.2. Resultados y discusión

- **Desnaturalización de las proteínas al inicio de la preparación de la solución**

Al igual que con los recubrimientos, se estudió si el hecho de desnaturalizar primero las proteínas producía mejoras en el resultado final. En la formulación base de referencia no se llevó a cabo la desnaturalización previa de las proteínas, al igual que otros autores como Galus y Kadzinska (2016). Sin embargo, en la bibliografía consultada, existen referencias en las que sí llevan a cabo esta desnaturalización en la preparación de películas (Kokoszka *et al.* 2010; Pintado *et al.* 2010; Pluta-Kubica *et al.* 2020).

En el ensayo realizado se observó que llevar la solución de aislado de proteínas del suero y agua a un baño de 90°C sin agitación durante 30 minutos provocó que se formaran grumos bastante grandes, blancos y opacos. Al secarse las películas, no quedaron homogéneas, se apreciaban zonas más blancas. Tras la homogeneización, se observó como la textura final de la película fue mucho más densa y espesa. Debido a esta textura tan densa, quedaron muchas burbujas de aire atrapadas en el interior de la solución. Esto fue un problema ya que, al secarse, la película quedó con bastantes poros, poco flexibles y algo quebradizas. Además, la solución final presentó una apariencia mucho más blanca y opaca, y al secarse la película, ésta presentó también un color blanco opaco. Por tanto, se decidió no desnaturalizar la solución para la preparación de películas.

- **Homogeneización de la preparación**

En la bibliografía consultada, autores como Galus y Kadzinska (2016) o Kavas *et al.* (2015), proponen homogeneizar la solución con Ultraturrax, pero en ambos casos se utiliza aceite en la formulación por lo que homogeneizarla es conveniente para que se pueda formar la emulsión correctamente, ya que con este proceso se consigue disminuir el tamaño de partícula de los lípidos y obtener películas más regulares y continuas (Javanmard y Golestan, 2008). Mientras que en otras preparaciones en las que no se utiliza aceite como la propuesta por Kokoszka *et al.* (2010) o Pintado *et al.* (2010), no se propone la homogeneización con Ultraturrax. Con los resultados obtenidos, se consideró necesario llevar a cabo la homogeneización con Ultraturrax para obtener una solución más homogénea y lisa, ésta se realizó a 19.000 rpm durante 1 minuto. Así se consiguieron unas películas con un color y textura mucho más uniformes.

- **Incorporación de aceite a la formulación**

Al igual que con los recubrimientos, la incorporación de lípidos a la formulación puede aportar impermeabilidad y valor nutricional a las películas (Galus y Kadzinska, 2016). Sin embargo, sus propiedades mecánicas podrían verse afectadas, ya que se obtienen películas más frágiles y con menor homogeneidad (Javanmard y Golestan, 2008). Existen numerosos

ensayos en los que se incorporan aceites en las preparaciones de películas comestibles (Galus y Kadzinska, 2016; Shaw *et al.* 2002).

En este ensayo se incorporó aceite de girasol en un 10% (p/v) a la preparación base de WPI y glicerol. La solución también fue homogeneizada con Ultraturrax. Se obtuvo una preparación bastante homogénea, lisa y brillante. Fue algo más líquida que la misma solución sin aceite y se apreciaron menos burbujas. Sin embargo, tras verterlo en los moldes y dejarlo secar 48 horas, se obtuvieron unas películas con un color amarillento, con presencia de aceite superficial y mucho más quebradizas que aquellas que no contenían aceite en su formulación, por lo que se dificultó el desmoldado. Cecchini *et al.* (2017) describieron que la emulsión a base de proteínas de suero lácteo y aceite de girasol (sin emulsificantes) no fue estable durante el proceso de secado ya que se podía ver aceite superficial en las películas. A la vista de los resultados obtenidos, la cantidad de aceite de girasol utilizada podría haber sido excesiva, y pudiera ser de interés ensayar la optimización de esta cantidad.

- **Formulación propuesta por Kavas *et al.* (2015)**

Se utilizó la propuesta realizada para la preparación de una película para el queso Kashar por Kavas *et al.* (2015) a base de un 5% (p/v) de aislado de proteínas de suero lácteo, 1,5% (p/v) de sorbitol y 1,5% (p/v) de aceite de tomillo o clavo, en la que se sustituyó el aceite de tomillo o clavo por aceite de girasol.

Primero se disolvió el aislado de proteínas de suero lácteo en agua desionizada y se agitó magnéticamente durante 15 minutos a temperatura ambiente ($20^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$). A continuación, se incorporó el sorbitol y se agitó de nuevo de forma magnética durante 15 minutos a temperatura ambiente ($20^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$). Una vez transcurrido este tiempo, se ajustó el pH hasta un valor de 8 con NaOH 0,1N y se llevó a un baño con agitación a 90°C durante 30 minutos. Posteriormente, se dejó enfriar hasta alcanzar los 50°C aproximadamente y se incorporó el aceite de girasol. Finalmente, la solución se sometió a agitación magnética a temperatura ambiente ($20^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$) durante 15 minutos y se vertió en los moldes de silicona. Tras 24 horas de secado a temperatura ambiente ($20^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ aproximadamente) se obtuvieron películas muy frágiles y quebradizas, aunque muy transparentes. Sin embargo, se apreciaban gotas de aceite en la superficie, lo que era indicativo de que la emulsión no resultó estable durante el proceso de secado. Por tanto, se decidió repetir este mismo ensayo, pero con la homogeneización de la solución con Ultraturrax a 19.000 rpm durante 2 minutos. Las películas que se obtuvieron fueron algo menos transparentes, pero la emulsión resultó estable y ya no se apreciaban gotas de aceite. Sin embargo, seguían siendo películas bastante frágiles y quebradizas, lo que dificultó mucho el desmoldado.

Tras haber realizado todas las modificaciones citadas anteriormente, se concluyó que la formulación que mejores resultados presentó fue la propuesta por Ramos *et al.* (2013), sin llevar a cabo la desnaturalización previa de las proteínas, pero sí la homogeneización con Ultraturrax de la solución. Con esta formulación se obtuvieron películas flexibles, maleables, con bastante resistencia y muy buena apariencia.

Los resultados obtenidos hasta el momento han puesto de manifiesto que es necesario mejorar algunos aspectos relacionados con la formación de la película, así como evaluar su aplicación en el queso y su efecto sobre la conservación y la calidad final del mismo. Grandt-Restrepo *et al.* (2014) sugieren que películas a base de proteínas de suero lácteo y glicerol junto a la inclusión de antioxidantes pueden representar una buena opción para proteger alimentos de alto contenido lipídico como es el queso.

3.3. Envasado en bolsas de plástico reciclable

3.3.1. Materiales y métodos

3.3.1.1. Selección del material y condiciones de envasado

Para el ensayo se utilizó un material reciclable a base de polipropileno/EVOH/polietileno (NEXT FLEX MPOX B 60) de Merkapack packaging (Vitoria-Gasteiz, España). Se llevó a cabo la optimización de las condiciones de envasado en condiciones atmosféricas normales, a vacío y en atmósfera modificada (CO₂/N₂), y se ajustaron en la envasadora las condiciones de vacío (30 sg), inyección de gases (9 sg), temperatura de sellado (baja), tiempo de sellado (1,5 sg) y enfriamiento post-sellado del material (2 sg).

3.3.1.2. Fraccionamiento de los quesos, envasado y conservación

Se utilizaron un total de 40 quesos de oveja con 3 meses de maduración de aproximadamente 1 kg de peso, procedentes de dos elaboraciones realizadas en la misma semana (Lote A y Lote B). Cada uno de los quesos se cortó en 6 cuñas de aproximadamente 170 g cada una y se envasaron en cuatro condiciones distintas: aire (control), vacío, y atmósfera modificada 50:50% CO₂/N₂, y 80:20% CO₂/N₂. Todas las muestras se almacenaron en condiciones de refrigeración (4°C±1°C). Para el envasado de las muestras se utilizó un equipo de envasado en atmósfera modificada Irimar modelo EVT-450/20 (Lesaka, España), y mezclador de gases binario Witt modelo MM-2K N₂/CO₂ (Witten, Alemania).

El tiempo total del ensayo fue de 56 días de almacenamiento en refrigeración y se realizaron tomas de muestras en el día 0, y a partir del día 14 cada semana para la realización de los análisis físico-químicos, de textura instrumental y sensorial.

3.3.1.3 Análisis de la calidad físico-química y sensorial de los quesos

- **Control de gases en el envase y control de peso**

El análisis de la concentración de gases en el interior de los envases se realizó mediante un analizador de gases portátil Witt (O_2/CO_2) modelo Oxybaby (Witten, Alemania). El control de peso de cada porción de queso se llevó a cabo en una balanza modelo Adam LTB 2602e (Milton Keynes, Reino Unido), cada día de muestreo.

- **Análisis físico-químicos**

Los análisis físico-químicos que se llevaron a cabo fueron la medida del color, el pH y la determinación del porcentaje de proteína, grasa y extracto seco.

Para la medida del color se utilizó un medidor modelo CR-200 Minolta (Madrid, España) y sistema CIELAB para definir el color en la superficie de la cuña de queso tras un tiempo aproximado de atemperado de una hora. Para obtener un dato representativo de toda la cuña se realizaron tres medidas en distintos puntos, y obtener así valores de L (luminosidad), a (rojo sobre verde) y b (amarillo sobre azul).

Para realizar la medida del pH se utilizó un pH-metro modelo GLP 21+ con electrodo de penetración Hach (Düsseldorf, Alemania). Las medidas se realizaron por triplicado en diferentes puntos de la cuña de queso. Simultáneamente se controló la temperatura de la muestra con un termómetro de penetración Testo modelo 104-IR (Barcelona, España).

Para la determinación del porcentaje de proteína, grasa y extracto seco se utilizó un analizador espectral de infrarrojo 2.0 Zeutec modelo 110-A100-1 (NIR) (Rendsburg, Alemania). La medida se realizó por duplicado a partir de la fracción homogénea obtenida del rallado de una porción de cada cuña tras la retirada de 1 cm de corteza aproximadamente.

- **Análisis instrumental de la textura**

Este análisis se llevó a cabo con un texturómetro TA.XT plus (Stable Micro System, Reino Unido) provisto de una célula de carga de 5 kg y una sonda cilíndrica de aluminio de 25 mm de diámetro, dotado del software Texture Expert.

Para realizar el análisis, las muestras de queso a analizar se atemperaron hasta alcanzar una temperatura entre 10°C y 15°C. Tras la retirada de 1 cm de corteza aproximadamente, se siguió un procedimiento para el corte de las cuñas en dados de 1,25 cm de lado, aproximadamente. Los cortes se realizaron con ayuda de una guía de madera para obtener un corte de muestra homogéneo. De cada cuña se obtuvieron primero tres rodajas (A, B y C) y de cada rodaja se obtuvieron cinco cubos. En total, de cada cuña de queso se obtuvieron 15 cubos a analizar, 7 de ellos se utilizaron para el análisis de compresión, y los 8 restantes,

para el análisis de perfil de textura. En el análisis de compresión (C) el porcentaje de deformación aplicado fue de un 50% en un solo ciclo de compresión. Mientras que, en el análisis de perfil de textura (APT), el porcentaje de deformación fue del 15% y se aplicaron dos ciclos de compresión consecutivos.

- **Evaluación sensorial descriptiva**

El entrenamiento del panel del análisis sensorial se realizó con nueve catadores, los cuales habían participado en estudios anteriores de pruebas de conservación de queso, destaca el hecho de que seis de ellos pertenecen al panel de control de queso DOP Idiazábal, cuyo método está acreditado por ENAC. Se realizaron tres sesiones de entrenamiento previas con el fin de homogeneizar las puntuaciones en las escalas utilizadas para la valoración de los quesos. Dichos entrenamientos fueron pruebas de conjunto, discusión y armonización entre los catadores por lo que se tuvieron que realizar en un laboratorio en lugar de en una sala de análisis sensorial normalizada debido a las condiciones actuales de restricción de aforo por la COVID-19.

El ensayo comprende un total de ocho sesiones de evaluación, desde la semana 0 donde el queso no había estado sometido a ninguna condición de envasado, y a lo largo de las 8 semanas del estudio planteadas. En cada sesión de evaluación participaron siete catadores de los nueve entrenados. Para las sesiones, los quesos fueron atemperados a $16 \pm 1^\circ\text{C}$. Las cuatro muestras correspondientes a cada condición de envasado se presentaron por duplicado (una muestra procedente de cada lote de fabricación), codificadas con 3 dígitos, presentadas a los evaluadores cortadas en trozos de 1 x 1 x 5 cm en el caso del análisis olfativo gustativo, y en forma de cuñas enteras para el análisis de la apariencia. En ambos casos, las muestras se presentaron conforme a un orden aleatorio previamente establecido. Los catadores tenían a su disposición manzana ácida y agua mineral para la limpieza de boca entre muestras. Los análisis se realizaron por duplicado (un queso procedente de cada lote de fabricación). Se evaluaron los parámetros de flavor, textura y apariencia (color de la pasta y ojos) mediante una escala discontinua de siete puntos.

Los análisis se llevaron a cabo en una sala de catas normalizada (UNE-EN ISO 8589, 2010). No obstante, debido a la situación actual de la pandemia y a la restricción de aforo en la sala de cata, se realizaron con un intervalo de media hora de forma que no coincidieran más de dos catadores en cada sesión.

3.3.2. Resultados

En el momento de la preparación de esta memoria, el muestreo del ensayo todavía no ha concluido, por lo que no se han podido incluir los resultados estadísticos del mismo.

Como paso previo a la realización del estudio y con objeto de comprobar el comportamiento del nuevo material, se realizó un ensayo preliminar en el que se envasaron cuñas de queso en las bolsas reciclables (NextFlex) utilizando una atmósfera de 80% CO₂/20% N₂. Se realizó un control de gases dentro de los envases en el día 0 y tras 8, 14, 22, 43 y 50 días de conservación en refrigeración (4°C±1°C). Paralelamente, se utilizaron como control muestras de queso envasadas en bolsas de plástico convencional (PA/PE 20/70).

Tabla 1: Medidas del control de gases (CO₂/O₂) en el interior de las bolsas NextFlex y PA/PE

	Día 0		Día 8		Día 14		Día 22		Día 43		Día 50	
	%CO ₂	%O ₂										
NextFlex	84,42	0,44	81,60	0,20	78,53	0,41	74,97	0,26	73,37	0,71	70,63	0,73
PA/PE	87,15	0,00	-	-	-	-	71,39	0,88	-	-	49,37	4,78

A la vista de estos resultados, con el nuevo material las concentraciones de gases dentro del envase parecen mantenerse más estables a lo largo del tiempo que con el empleo del material plástico con el que se comparó. Se pudo comprobar cómo la bolsa de plástico reciclable NextFlex parecía ofrecer propiedades de alta barrera mejores que las de las bolsas de plástico convencional.

Sin embargo, será necesario realizar un análisis estadístico al finalizar los días de muestreo para determinar el comportamiento del material, conocer si ha habido o no diferencias significativas en los parámetros físico-químicos estudiados en las distintas condiciones de envasado, así como evaluar su eficacia en la conservación del queso.

Desde el punto de vista del análisis sensorial, durante el muestreo realizado se ha observado que desde el día 14 tras el envasado, los quesos envasados al vacío han presentado en su superficie marcas de envase, aspecto plástico y brillante y oclusión de los ojos. Por otra parte, los quesos envasados en atmósfera modificada con 50% y 80% CO₂ han sido, según los resultados preliminares, los que mejores valoraciones han obtenido en los análisis olfativo gustativos y de apariencia.

4. Conclusiones

El desarrollo de nuevos materiales para el envasado de alimentos que sean más respetuosos con el medio ambiente puede contribuir de forma importante a la reducción del actual impacto medioambiental de los desechos plásticos.

El empleo de un subproducto de la industria quesera (aislado de proteínas de suero lácteo) se presenta como una opción interesante en la preparación de cubiertas comestibles para la protección de alimentos como el queso, y como contribución a la sostenibilidad del sector.

Los recubrimientos obtenidos a base de aislado de proteínas de suero lácteo han mostrado resultados satisfactorios en cuanto a la adherencia, sabor y apariencia final de las muestras de queso. Sin embargo, sería interesante incorporar en su formulación compuestos funcionales como sustancias antimicrobianas o antioxidantes con el fin de mejorar la seguridad alimentaria y la vida útil del producto.

Las películas preparadas han puesto de manifiesto la utilidad del aislado de proteínas de suero lácteo para la obtención de materiales flexibles, maleables y resistentes. No obstante, es necesario mejorar algunos aspectos y evaluar su aplicación en el queso, así como su efecto sobre la conservación y calidad final del mismo.

Los resultados preliminares obtenidos para el envasado de cuñas de queso con plástico reciclable parecen mostrar la eficacia de este material en el mantenimiento de las condiciones dentro del envase. Sin embargo, es necesario estudiar los resultados finales del ensayo para conocer mejor el comportamiento del material, y evaluar su eficacia en la conservación del queso en las diferentes condiciones de envasado.

Se hace necesaria una mayor inversión e investigación en nuevos materiales tanto reciclables como biodegradables y un trabajo multidisciplinar para conseguir nuevos envases sostenibles, efectivos y rentables.

5. Bibliografía

- Arandes, J.M., Bilbao, J. & López, D. (2004). Reciclado de residuos plásticos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 5(1), 28-45
- Ávila-Sosa, R. & López-Malo, A. (2008). Aplicación de sustancias antimicrobianas a películas y recubrimientos comestibles. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 2(2):4-13
- Campos, C. A., Gerschenson, L. N. & Flores, S. K. (2011). Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. *Food Bioprocess Technology*, 4:849–875
- Cao, Y.M. & Chang, K.C. (2001). Edible films prepared from water extract of soybeans. *Journal of Food Science*, 67, 1449–1454
- Cecchini, J. P., Spotti, M. J., Piagentini, A. M., Milt, V. G. & Carrara, C. R. (2017). Development of edible films obtained from submicron emulsions based on whey protein concentrate, oil/beeswax and brea gum. *Food Science and Technology International*, 23(4), 371-381
- Comunicación de la comisión al parlamento europeo, al consejo, al comité económico y social europeo y al comité de las regiones. Una estrategia europea para el plástico en una economía circular. Comisión Europea, 16 enero 2018
- Costa, M. J., Maciel, L. C., Teixeira, J. A., Vicente, A. A. & Cerqueira, M. A. (2018). Use of edible films and coatings in cheese preservation: Opportunities and challenges. *Food Research International*, 107, 84-92.
- Di Pierro, P., Sorrentino, A., Mariniello, L., Giosafatto, C. V. L. & Porta, R. (2011). Chitosan/whey protein film as active coating to extend ricotta cheese shelf-life. *LWT -Food Science and Technology*, 44(10), 2324–2327
- Directiva 2018/852 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 30 de mayo de 2018, por la que se modifica la Directiva 94/62/CE relativa a los envases y residuos de envases. *Diario Oficial de la Unión Europea*, nº150, 14 junio 2018
- Directiva 2019/904 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 5 de junio de 2019, relativa a la reducción del impacto de determinados productos de plástico en el medio ambiente. *Diario Oficial de la Unión Europea*, nº155, 12 junio 2019
- Falguera, V., Quintero, J.P., Jiménez, A., Muñoz, J.A. & Ibarz, A. (2011). Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Science and Technology*, 22, 292–303
- Fernández Cervera, M., Karjalainen, M., Airaksinen, S., Rantanen, J., Krogars, K., Heinämäki, J., Iraizoz, A. & Yliruusi, J. (2004). Physical stability and moisture sorption of aqueous chitosan-amylose starch films plasticized with polyols. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 58, 69-76
- Galus, S. & Kadzinska, J. (2016). Whey protein edible films modified with almond and walnut oils. *Food Hydrocolloids*, 52, 78-86

- Granda-Restrepo, D., Medina-Pineda, Y., Culebras-Rubio, M. & Gómez-Clari, C. (2014). Desarrollo y caracterización de una película activa biodegradable con antioxidantes (alfa-tocoferol) a partir de las proteínas del lactosuero. *Vitae*, 21(1), 11-19
- Henriques, M., Gomes, D. & Pereira, C., (2016). Whey protein edible coatings: Recent developments and applications. *Emerging and Traditional Technologies for Safe, Healthy and Quality Food, Food Engineering Series*, 10, 177-196
- Henriques, M., Santos, G., Rodrigues, A., Gomes, D., Pereira, C. & Gil, M. (2013). Replacement of conventional cheese coatings by natural whey protein edible coatings with antimicrobial activity. *Journal of Hygienic Engineering and Design*, 3, 34–47
- Jalilzadeh, A., Tunçtürk, Y. & Hesari, J. (2015). Extension shelf life of cheese: A review. *International Journal of Dairy Science*, 10(2), 44-60
- Javanmard, M. & Golestan, L. (2008). Effect of olive oil and glycerol on physical properties of whey protein concentrate films. *Journal of food process engineering*, 31(5), 628-639.
- Jooyandeh, H. (2011). Whey protein films and coatings: A review. *Pakistan Journal of Nutrition*, 10(3), 296-301
- Karaman, A. D., Özer, B., Pascall, M. A. & Alvarez, V. (2015). Recent advances in dairy packaging. *Food Reviews International*, 31(4), 295-318
- Kavas, G. & Kavas, N. (2014). The effects of mint (*Mentha spicata*) essential oil fortified edible films on the physical, chemical and microbiological characteristics of lor cheese. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 12(3–4), 40–45
- Kavas, G., Kavas, N. & Saygili, D. (2015). The effects of thyme and clove essential oil fortified edible films on the physical, chemical and microbiological characteristics of Kashar cheese. *Journal of food quality*, 38(6), 405-412
- Kokoszka, S., Debeaufort, F., Lenart, A. & Voilley, A. (2010). Liquid and vapour water transfer through whey protein/lipid emulsion films. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(10), 1673-1680
- Kurek, M., Galus, S. & Debeaufort, F. (2014). Surface, mechanical and barrier properties of bio-based composite films based on chitosan and whey protein. *Food Packaging and Shelf Life*, 1(1), 56-67
- Lam, R. S. & Nickerson, M. T. (2013). Food proteins: a review on their emulsifying properties using a structure–function approach. *Food chemistry*, 141(2), 9
- Le Tien, C., Letendre, M., Ispas-Szabo, P., Mateescu, M. A., Delmas-Patterson, G. & Yu, H. L., (2000). Development of biodegradable films from whey proteins by cross-linking and entrapment in cellulose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 5566-5575
- MAPA. Informe del Consumo de Alimentación en España 2019. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Gobierno de España, Madrid, 2020

- Pardo, M. J. J., Beneyto, M. J. & Mansilla, N. O. (2019). Propuestas para mejorar la sostenibilidad de los envases alimentarios. *Revista de plásticos modernos: Ciencia y tecnología de polímeros*, 117(746), 2
- Pascual, A. (2016) Materiales biodegradables en el envasado de alimentos. AIMPLAS, Instituto Tecnológico del Plástico. Disponible en: https://www.cresca.upc.edu/eba2007/docs/pdf/C7.3.Ana_Pascual.pdf (20 de mayo de 2021)
- Pérez-Gago, M.B. & Krochta, J.M. (1999). Water vapour permeability of whey protein emulsion films as affected by pH. *Journal of Food Science*, 64, 695–698
- Pintado, C., Ferreira, M. & Sousa, I. (2010). Control of pathogenic and spoilage microorganisms from cheese surface by whey protein films containing malic acid, nisin and natamycin. *Food Control*, 21(3), 240–246
- Pluta-Kubica, A., Jamróz, E., Kawecka, A., Juszczak, L. & Krzyściak, P. (2020). Active edible furcellaran/whey protein films with yerba mate and white tea extracts: Preparation, characterization and its application to fresh soft rennet-curd cheese. *International journal of biological macromolecules*, 155, 1307-1316
- Pourmolaie, H., Khosrowshahi Asl, A., Ahmadi, M., Zomorodi, S. & Naghizadeh Raeisi, S. (2018). The effect of Guar and Tragacanth gums as edible coatings in Cheddar cheese during ripening. *Journal of Food Safety*, 38(6), e12529
- Ramos, O. L., Fernandes, J. C., Silva, S. I., Pintado, M. E. & Malcata, F. X. (2012 b). Edible films and coatings from whey proteins: A review on formulation, and on mechanical and bioactive properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 52:533–552
- Ramos, Ó. L., Pereira, J. O., Silva, S. I., Fernandes, J. C., Franco, M. I., Lopes-da-Silva, J.A. & Malcata, F. X. (2012 a). Evaluation of antimicrobial edible coatings from a whey protein isolate base to improve the shelf life of cheese. *Journal of Dairy Science*, 95(11), 6282–6292
- Ramos, O. L., Reinas, I., Silva, S. I., Fernandes, J. C., Cerqueira, M. A., Pereira, R. N., Vicente, A. A., Poças, M. F., Pintado, M.E. & Malcata, F. X. (2013). Effect of whey protein purity and glycerol content upon physical properties of edible films manufactured therefrom. *Food Hydrocoll.* 30:110-122
- Real Decreto 293/2018, de 18 de mayo, sobre reducción del consumo de bolsas de plástico y por el que se crea el Registro de Productores. *Boletín Oficial del Estado*, nº122, 19 Mayo 2018
- Rossi-Márquez, G., Han, J. H., García-Almendárez, B., Castaño-Tostado, E. & Regalado-González, C. (2009). Effect of temperature, pH and film thickness on nisin release from antimicrobial whey protein isolate edible films. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(14), 2492-2497
- Samadani, F., Behzad, T. & Enayati, M. S. (2019). Facile strategy for improvement properties of whey protein isolate/walnut oil bio-packaging films: Using modified cellulose nanofibers. *International journal of biological macromolecules*, 139, 858-866

- Seydim, A. C. & Sarikus, G. (2006). Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Research International*, 39, 639-644
- Seydim, A. C., Sarikus-Tutal, G. & Sogut, E. (2020). Effect of whey protein edible films containing plant essential oils on microbial inactivation of sliced Kasar cheese. *Food Packaging and Shelf Life*, 26, 100567
- Shaw, N. B., Monahan, F. J., O'riordan, E. D. & O'sullivan, M. (2002). Effect of soya oil and glycerol on physical properties of composite WPI films. *Journal of Food Engineering*, 51(4), 299-304
- Singh, A., Khamrai, M., Samanta, S., Kumari, K. & Kundu, P. P. (2018). Microbial, Physicochemical, and Sensory Analyses-Based Shelf Life Appraisal of White Fresh Cheese Packaged into PET Waste-Based Active Packaging Film. *Journal of Packaging Technology and Research* 2, 125-147
- Singh, H. & Waungana, A. (2001). Influence of heat treatment of milk on cheesemaking properties. *International Dairy Journal*, 11(4-7), 543-551
- Skurtys, O., Acevedo, C., Pedreschi, F., Enronoe, J., Osorio, F. & Aguilera, J. M. (2014). *Food hydrocolloid edible films and coatings*. Hauppauge, New York, USA: Nova Science Publishers, Incorporated.
- Téllez Maldonado, A. (2012). La complejidad de la problemática ambiental de los residuos plásticos: una aproximación al análisis narrativo de política pública en Bogotá. *Magister en Medio Ambiente y Desarrollo*. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Económicas, Instituto de Estudios Ambientales-IDEA. Bogotá, Colombia.
- UNE-EN ISO 8589:2010/A1:2014 Análisis sensorial. Guía general para el diseño de una sala de catas. 14 abril 2010.
- Viroben, G., Guéguen, J., Barbot, J., Mouloungui, Z. & Gueguen, J. (2000). Preparation and characterization of films from pea protein. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 48, 1064-1069
- Wagh, Y. R., Pushpadass, H. A., Emerald, F. M. E. & Nath, B. S. (2014). Preparation and characterization of milk protein films and their application for packaging of Cheddar cheese. *Journal of food science and technology*, 51(12), 3767-3775
- Yoshida, C.M.P. & Antunes, A.J. (2004). Characterization of whey protein emulsion films. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 21, 247-252
- Zhong, Y., Cavender, G. & Zhao, Y. (2014). Investigation of different coating application methods on the performance of edible coatings on Mozzarella cheese. *LWT - Food Science and Technology*, 56, 1-8
- Zhou, B., Tobin, J. T., Drusch, S. & Hogan, S. A. (2021). Dynamic adsorption and interfacial rheology of whey protein isolate at oil-water interfaces: Effects of protein concentration, pH and heat treatment. *Food Hydrocolloids*, 116, 106640