

Aplicación de una película de HPMC-parafina sobre melón: efecto sobre aromáticos y actividad de la pectinmetilesterasa

Juan Ramón Esparza-Rivera¹
Erick Sierra Campos¹
Edén Areli Luna Zapién¹
José Rafael Minjares-Fuentes²
Ma. Concepción Reyes Avalos¹
Jorge Armando Meza-Velázquez^{1§}

¹Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio-Universidad Juárez del estado de Durango. Avenida artículo 123 S/N, fraccionamiento Filadelfia, Gómez Palacio, Durango, México. CP. 35010, (jresparza02001@yahoo.com; ericksier@gmail.com; luna.141110@hotmail.com; conyavalos@yahoo.com.mx; jorgemezav68@gmail.com). ²Departamento de Química-Universidad de las Islas Baleares. Carretera Valldemossa km 7.5, Palma de Mallorca, España. CP. 07122. (rafaelminjares@gmail.com).

§Autor para correspondencia: jorgemezav68@gmail.com.

Resumen

El melón es un fruto apreciado por su aroma y sabor, pero tiene un corto periodo de almacenamiento. Una alternativa para extender este periodo es el uso de películas comestibles. En el presente estudio se evaluó el efecto de la aplicación de una película comestible de hidroxipropilmetilcelulosa-parafina (HPMC-PAR) sobre componentes aromáticos y la actividad de la pectinmetilesterasa de melón almacenado en refrigeración. Frutos de melón Cantaloupe se cubrieron con una película comestible de HPMC-PAR y melones no cubiertos se tomaron como control. Los melones se almacenaron por 20 días a 8 °C y 80% de humedad relativa. Cada cuatro días, los frutos se sometieron a análisis de concentración de etilbutirato, etilcaproato, butilacetato, benzilalcohol, metilbutanol y actividad de pectilmetilesterasa (PME). Los resultados mostraron que los melones con película tuvieron una mayor concentración de los ésteres analizados, así como una menor actividad de PME en comparación a muestras sin película. Sin embargo, los compuestos alcohólicos no fueron afectados por los tratamientos. Por lo que, la aplicación de la película a base de HPMC-parafina promueve el aumento de compuestos ésteres durante los primeros días de almacenamiento en refrigeración. Además, la actividad de la PME puede influir en la cantidad de estos compuestos aromáticos de la pulpa del melón Cantaloupe.

Palabras claves: aromas, hidroxipropilmentilcelulosa, melón, pectinmetilesterasa.

Recibido: enero de 2018

Aceptado: marzo de 2018

Introducción

El melón Cantaloupe es un fruto apreciado por su aroma y sabor los cuales son determinantes para la calidad sensorial y comercial del producto (Kourkoutas *et al.*, 2006). El aroma y sabor del melón son atribuidos a su contenido de compuestos aromáticos volátiles en la pulpa, que incluyen ésteres y alcoholes (Aubert *et al.*, 2005), aunque en algunas variedades de melón se han determinado hasta 240 compuestos por medio de técnicas de cromatografía de gases (Kourkoutas *et al.*, 2006).

Entre los compuestos aromáticos más abundantes en este fruto se encuentran ésteres como el etilbutanoato, etilcaproato, y 3-hexil 2-butanoato, y en menor medida derivados azufrados, aldehídos y alcoholes (Obando-Ulloa *et al.*, 2010). Por otro lado, el melón Cantaloupe tiene una vida de anaquel corta de 10-15 días (Suslow *et al.*, 2002), por lo cual es requerida la evaluación de métodos de conservación que contribuyan a mantener la calidad sensorial de este fruto durante periodos de almacenamiento más largos, como lo es la aplicación de cubiertas o películas.

Las cubiertas (soluciones y emulsiones) a base de polímeros comestibles como polisacáridos, proteínas o lípidos han sido aplicadas sobre diversos productos vegetales (Bonilla *et al.*, 2013). La aplicación de películas sobre el melón tiene el potencial de reducir la pérdida de humedad (Reyes *et al.*, 2016), firmeza (Reyes *et al.*, 2017), y tasa de respiración del producto (Reyes *et al.*, 2016). Asimismo, las cubiertas comestibles protegen al producto contra daños mecánicos, oxidativos y microbiológicos, además mejoran la apariencia y la pérdida de aroma del fruto (Genskowsky *et al.*, 2015).

El mayor beneficio del uso de películas y cubiertas es que pueden ser consumidos junto con el producto alimenticio en que están aplicadas, pudiendo dichas películas ser enriquecidas con compuestos que aporten benéficos para la salud o que mejoren las propiedades sensoriales del alimento cubierto (Perdones *et al.*, 2012). Algunos polisacáridos utilizados para preparación de cubiertas comestibles son el alginato de sodio, carragenina y la carboximetilcelulosa (Hamzah *et al.*, 2013; Tavassoli-Kafrani *et al.*, 2016).

La hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) es un polímero derivado de la celulosa usado en la formulación de películas, el cual ha sido probado en diversos vegetales, resultando en menor daño por frío, conservación de la firmeza y menor pérdida de peso en dichos productos (Reyes *et al.*, 2017). Además, las películas comestibles retrasan el proceso de maduración de las frutas (Reyes *et al.*, 2016) por lo que, si las cubiertas pueden disminuir la actividad de las enzimas pécticas, como la pectinmetilesterasa, el fruto mantendrá por más tiempo la firmeza de sus tejidos.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación de una película de HPMC-Parafina sobre la concentración de compuestos aromáticos y la actividad de la PME del melón Cantaloupe.

Materiales y métodos

Muestras experimentales

Se utilizaron frutos de melón Cantaloupe (*Cucumis melo* L. var. *reticulatus*) recolectados en Ceballos, Durango (coordenadas geográficas latitud 26.526 y longitud -104.129) en etapa pre climatérica (25 a 27 días después de polinización) de acuerdo con el método publicado por

Nishiyama *et al.* (2007). Los frutos se seleccionaron en estado de madurez tres cuartos desprendido, de tamaño y dimensiones similares (frutos de 1.2 a 1.5 kg libres de daños físicos). El proceso de producción fue riego por goteo.

Materiales y reactivos

La HPMC ($C_{56}H_{108}O_{30}$) fue donada por Colorcon (México). Los siguientes reactivos fueron adquiridos de Sigma-Aldrich (St Louis MI, EUA) Metabisulfito de sodio, sorbato de potasio, monoestearato de propilenglicol, D-metilo de ácido poligalacturónico, Tris, sulfato de amonio, dodecil sulfato de sodio, Triton X-100, azul de bromotimol y estándares de etilbutirato, etilcaproato, butilacetato, benzilalcohol y metilbutanol. Se empleó parafina grado reactivo Analítika (Monterrey, Nuevo León, México).

Tratamientos

Los melones recolectados se seleccionaron libres de daños físicos y contaminación microbiana aparente. Se lavaron con agua clorada a 200 ppm de hipoclorito de sodio, y distribuidos aleatoriamente en dos lotes: tratamiento control (sin aplicación de película), y película (frutos cubiertos con la película HPMC-parafina). La preparación y aplicación de la película de HPMC-parafina se describió previamente en Meza *et al.* (2013). Todos los frutos se almacenaron luego en un frigorífico a 8 ± 2 °C con humedad relativa de $80 \pm 4\%$ durante 20 días. Posteriormente, los melones se analizaron cada cuatro días a lo largo del periodo de estudio (0, 4, 8, 12, 16 y 20 días). Los análisis practicados fueron concentración de etilbutirato, etilcaproato, butilacetato, benzilalcohol, metilbutanol y la actividad de la pectinmetilesterasa (PME) llevados a cabo por triplicado. Los tratamientos (control y película) se repitieron ocho veces y cada repetición contenía 24 melones.

Análisis de compuestos volátiles

El análisis se desarrolló con el método propuesto por Aubert *et al.* (2005) con algunas modificaciones. Una muestra compuesta de 125 g de melón de cada una de las repeticiones de los tratamientos se mezcló con 125 ml de galato de n-propilo (10 mM) y triturada en una mezcladora por 2 min, posteriormente, homogeneizada por un min con el ultraturrax. La mezcla se centrifugó (4 500 rpm, 20 min, 4 °C) y se recolectó el sobrenadante.

Para llevar a cabo las pruebas de porcentaje de recuperación, se prepararon soluciones de 5 estándares de compuestos volátiles presentes en el melón; estas soluciones se prepararon a 40 ppm en diclorometano. Posteriormente, 150 ml de la solución de estándares (conteniendo etilbutirato, etilcaproato, butilacetato, benzilalcohol y metilbutanol) o el extracto obtenido de la pulpa de melón, fueron extraídos tres veces con 50 ml de diclorometano (3 x 15 min) bajo agitación constante a una temperatura de 4 °C. Posteriormente, la mezcla se concentró hasta 8 ml usando un equipo kudernadnish a 70 °C. Los 8 mL se colocaron en un microkuderna y concentrados hasta 1 mL a 45 °C. El concentrado se inyectó en un cromatógrafo de gases HP 6820 con detector de ionización en flama y una columna capilar DB-5 de 30 x 0.25 x 0.25 (Supelco, PA, EUA).

Las condiciones del cromatógrafo fueron de 250 °C en el inyector, 250 °C en el detector; la columna se sometió a un programa de 35 °C de temperatura inicial con rampa de 5 °C por min hasta alcanzar 150 °C, la temperatura final se mantuvo por 10 min. Las lecturas del cromatógrafo

se registraron y analizaron con el software Agilente Cerity NDS y comparadas con una curva de calibración de estándar de los compuestos mencionados. Los resultados se reportaron como mg kg^{-1} de fruto fresco.

Preparación de la muestra para la actividad de pectinmetilesterasa

El análisis se llevó a cabo con el método descrito por Lamikanra y Watson (2004) con algunas modificaciones. Se utilizaron rebanadas del centro de la fruta (ecuador) de medidas aproximadas de 80 x 30 x 2 mm de cada tratamiento. A 40 g de rebanadas de melón se les agregó 80 mL de buffer de Tris (pH 7.8, 0.05 M) y se homogenizó en una mezcladora por 2 min para después ser centrifugada a 4 °C y 4 800 G durante 30 min. El sobrenadante se mezcló con sulfato de amonio de manera de obtener una concentración del mismo de 60% y se colocó en un congelador a -18 °C por 1 h. La mezcla fue entonces centrifugada a 4 °C y 4 800 G por 1 h. El sobrenadante fue descartado y los residuos se homogenizaron en 4 ml de Tris por 1 min. La mezcla se centrifugó a 4 °C y 4 800 G por 1.5 h. El sobrenadante fue la muestra para ensayo de la actividad enzimática.

Actividad de la pectinmetilesterasa

La prueba se realizó con una modificación del método propuesto por Lamikanra and Watson (2003). Una solución de éster D-metilo de ácido poligalacturónico (0.1%) se preparó en una solución de NaCl 0.4 M. Se usó como indicador azul de bromotimol 0.01% en un buffer de fosfato de potasio. Antes de cada reacción, la solución péctica (2.5 mL) era ajustada a un pH de 7.5 con NaOH 2 M. A la solución péctica se le adicionó el azul de bromotimol (0.2 mL), 0.1 mL del extracto enzimático y se agitó en vórtex. La muestra se leyó a una absorbancia a 620 nm en 20 y 80 s para determinar la velocidad de la reacción. Los resultados se reportaron en actividad enzimática relativa donde 100% de actividad era de muestras de melón antes de tratamientos.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se usó un diseño factorial con dos factores: tiempo de almacenamiento (0, 4, 8, 12, 16 y 20 días) y aplicación de película (sin y con película), y se llevaron a cabo ocho repeticiones por tratamiento. Los resultados de las variables evaluadas se analizaron mediante análisis de varianza. La diferencia entre medias de tratamientos se realizó por la prueba de comparación múltiple de diferencia mínima significativa de Fisher (DMS de Fisher) con un nivel de significancia de 0.05, usando el programa estadístico SAS versión 8 (SAS Institute Inc., 2005).

Resultados y discusión

Compuestos volátiles

Se presentaron diferencias significativas en las concentraciones de etilbutirato, etilcaproato y butilacetato entre los melones sin y con película ($p \leq 0.05$). Se observó que, en los melones con película, las concentraciones de etilbutirato y etilcaproato presentaron un aumento súbito a los 4 días de almacenamiento (Figura 1 y 2), mientras tanto la cantidad de butilacetato tuvo aumento repentino hasta los 8 días (Figura 3).

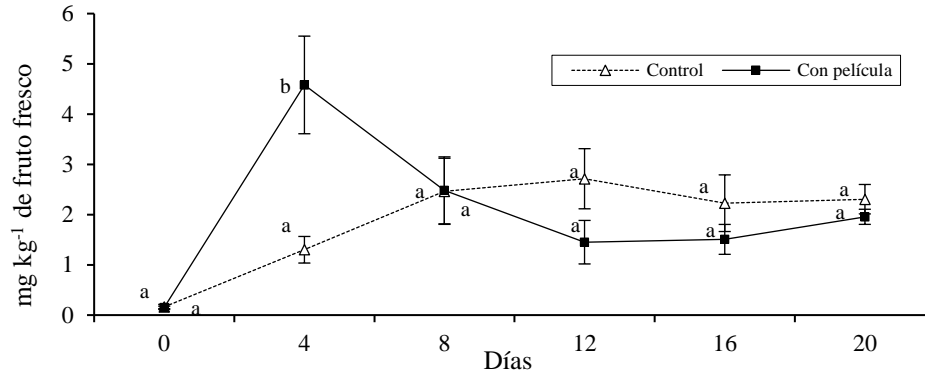


Figura 1. Concentración de etilbutirato (mg kg⁻¹ de solido fresco) en melones con y sin película almacenados durante 20 días en refrigeración. Barras sobre la media de los resultados representa \pm desviación estándar (n= 4). Diferentes literales indican diferencia significativa, por LSD de Fisher ($p \leq 0.05$), entre melones con y sin película durante el tiempo de almacenamiento.

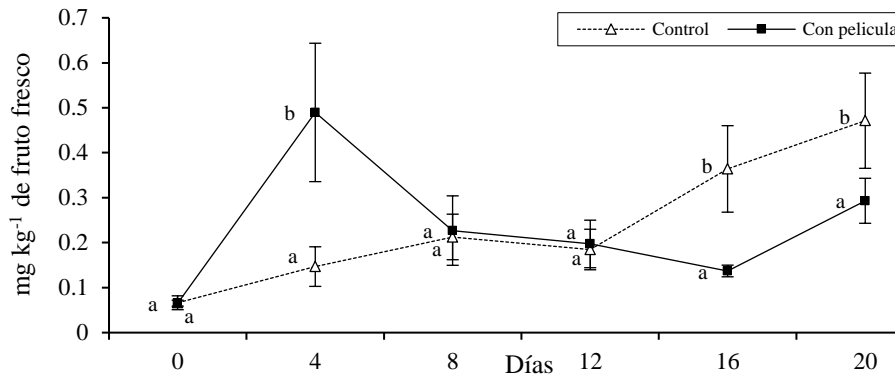


Figura 2. Concentración de etilcaproato (mg kg⁻¹ de solido fresco) en melones con y sin película almacenados durante 20 días en refrigeración. Barras sobre la media de los resultados representa \pm desviación estándar (n= 8). Diferentes literales indican diferencia significativa, por LSD de Fisher ($p \leq 0.05$), entre melones con y sin película durante el tiempo de almacenamiento.

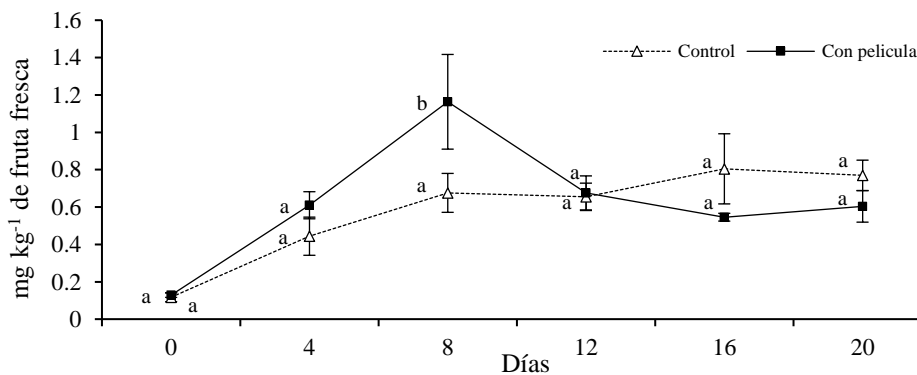


Figura 3. Concentración de butilacetato (mg kg⁻¹ de solido fresco) en melones con y sin película almacenados durante 20 días en refrigeración. Barras sobre la media de los resultados representa \pm desviación estándar (n= 8). Diferentes literales indican diferencia significativa, por LSD de Fisher ($p \leq 0.05$), entre melones con y sin película durante el tiempo de almacenamiento.

La concentración de estos compuestos fue significativamente menor ($p \leq 0.05$) en los frutos control durante los periodos de tiempo mencionados. Asimismo, los melones sin cubierta presentaron un aumento gradual en la concentración de los ésteres analizados a lo largo del periodo de estudio. Además, los resultados obtenidos en el estudio mostraron que la concentración de los compuestos alcohólicos monitoreados no tuvo cambios ($p > 0.05$) entre los diferentes tratamientos durante el almacenamiento. Resultados similares se han encontrado al cubrir fresas con una película de quitosán (Almenar *et al.*, 2009) y mango con carnauba (Dang *et al.*, 2008), los autores citados consiguieron aumentar la concentración de aromas con el uso de estas cubiertas.

Diversos estudios han demostrado que la producción o síntesis de compuestos aromáticos en frutas y vegetales (especialmente de tipo éster) están directamente relacionados con la madurez y la presencia y concentración de etileno (Günther *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2016), por lo que el rápido aumento observado en la cantidad de los compuestos ésteres puede estar relacionado con la concentración relativamente alta de etileno encontrada en el interior de los melones cubiertos con la película de HPMC-parafina, reportada con anterioridad (Meza *et al.*, 2013). La presencia de esta hormona activa enzimas como lipasas, alcohol aciltransferasa y alcohol acetiltransferasa, las cuales promueven una mayor síntesis de compuestos ésteres responsables de aromas y sabores en frutas y vegetales (Hui *et al.*, 2010). En contraste, se observó que las concentraciones de alcoholes, presentes en manzana, no fueron afectados por la inhibición de síntesis de etileno (Dandekar *et al.*, 2004).

Actividad de la pectinmetilesterasa (PME)

La actividad de PME fue menor en los melones con cubierta durante el periodo de 8 a 16 días de almacenamiento ($p \leq 0.05$) (Figura 4). Los frutos con película presentaron una actividad relativa de 25% (donde 100% es la actividad relativa de los frutos sin tratamiento al tiempo inicial) a los 8 días de almacenamiento; mientras que las muestras sin película tuvieron actividad relativa mayor a la inicial de hasta ~122% en el periodo de 12-16 días. Ha sido reportado que el uso de cubiertas comestibles puede disminuir la actividad enzimática de los vegetales al promover la formación de atmosferas modificadas internas (Meza *et al.*, 2013), lo cual puede retardar su proceso de maduración (Reyes *et al.*, 2016).

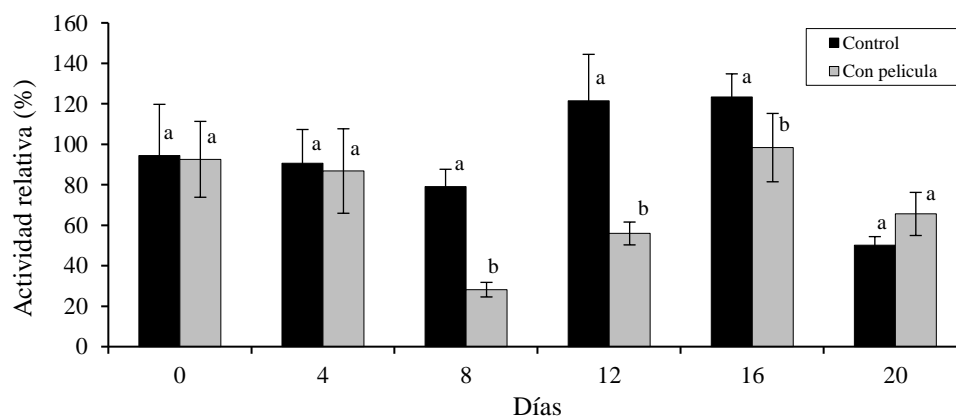


Figura 4. Actividad relativa de la pectinmetilesterasa en pulpa de melón tratado con una cubierta polimérica y almacenado por 20 días en refrigeración. Barras sobre la media de los resultados representa \pm desviación estándar ($n = 8$). Diferentes literales indican diferencia significativa, por LSD de Fisher ($p \leq 0.05$), entre melones con y sin película durante el tiempo de almacenamiento.

La función de la PME es iniciar el cambio y degradación estructural de las pectinas, lo que afectará directamente en la disminución de la firmeza del vegetal (Giovane *et al.*, 2004). La síntesis de aromas y los cambios de textura durante la maduración y senescencia de las frutas tiene una cierta correlación debido a los cambios en la estructura celular (Dos-Santos *et al.*, 2013).

Algunas investigaciones concuerdan que los aromas pueden estar atrapados o ligados en la estructura celular formado por polisacáridos, principalmente pectinas (Bezman *et al.*, 2003; Savary *et al.*, 2006; Harker y Johnston, 2008), y probablemente cambios estructurales puedan afectar la liberación o acumulación de aromas en el tejido del fruto, por lo que frutos con menores cambios estructurales, cambios promovidos por enzimas como la PME, podrían contener mayor cantidad de compuestos aromáticos.

Conclusiones

La aplicación de la película a base de HPMC-parafina aceleró la síntesis de compuestos ésteres en melón durante etapas tempranas de almacenamiento en refrigeración. Asimismo, esta película disminuyó la actividad de la PME, lo cual puede disminuir cambios estructurales en los tejidos del fruto y consecuentemente mejorar la retención de compuestos volátiles.

Literatura citada

- Almenar, E.; Hernández, M. P. and Gavara, P. 2009. Evolution of selected volatiles in chitosan-coated strawberries (*Fragaria ananassa*) during refrigerated storage. *J. Agric. Food Chem.* 57(3):974-980.
- Bonilla, J.; Atarés, L.; Vargas, M. and Chiralt, A. 2012. Edible films and coatings to prevent the detrimental effect of oxygen on food quality: possibilities and limitations. *J. Food Eng.* 110(2):208-213.
- Dandekar, A. M.; Teo, G.; Defilippi, B. G.; Uratsu, S. L.; Passey, A. J.; Kader, A. A.; Stow, J. R.; Colgan, R. J. and James D. J. 2004. Effect of down-regulation of ethylene biosynthesis on fruit flavor complex in apple fruit. *Transgenic Res.* 13(4):373-384.
- Dang, K. H.; Singh, Z. and Swinny, E. E. 2008. Edible coatings influence fruit ripening, quality, and aroma biosynthesis in mango fruit. *J. Agric. Food Chem.* 56(4):1361-1370.
- Dos-Santos, N.; Carmen, B. M. and Fernández, T. J. P. 2013. Aroma volatiles as biomarkers of textural differences at harvest in non-climacteric near-isogenic lines of melon. *Food Res. Inter.* 54(2):1801-1812.
- Genskowsky, E.; Puente, L. A.; Pérez, A. J.A.; Fernández, L. J.; Muñoz, L. A. and Viuda, M. M. 2015. Assessment of antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with maqui berry (*Aristoteliachilensis*). *Food Sci. Technol.* 64(2):1057-1062.
- Giovane, A.; Servillo, L.; Balestrieri, C.; Raiola, A.; D'avino, R.; Tamburrini M. and Ciardiello L. 2004. Pectin methylesterase inhibitor. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA). Proteins and Proteomics.* 1696(2):245-252.
- Günther, C. S.; Marsh, K. B.; Winz, R. A.; Harker, R. F.; Wohlers, M. W.; White, A. and Goddard, M. R. 2015. The impact of cold storage and ethylene on volatile ester production and aroma perception in 'Hort16A' kiwifruit. *Food Chem.* 169(7):5-12.

- Hamzah, H. M.; Osman, A.; Tan, Ch. P. and Mohamad- Ghazali, F. 2013. Carrageenan as an alternative coating for papaya (*Carica papaya* L. cv. Eksotika). *Postharvest Biol. Technol.* 75(2):142-146.
- Harker, F. R. and Johnston, J. 2008. Importance of texture in fruit and its interaction with flavor. *In: Brückner, B. and Wyllie, S. G. (Eds.). Fruit and vegetable flavour: recent advances and future prospects.* Abington, Cambridge, UK: Woodhead Pub. Ltd. Chapter. 7. 254-271 pp.
- Hui, G. T.; Bin, Y.; Curran, P. and Liu, Sh. Q. 2011. Lipase-catalysed synthesis of natural aroma-active 2-phenylethyl esters in coconut cream. *Food Chem.* 124(1):80-84.
- Kourkoutas, D.; Elmore, J. S. and Mottram, D. S. 2006. Comparison of volatile compositions and flavour properties of cantaloupe Galia and honeydew musk melons. *Food Chemistry.* 97(1):95-102.
- Lamikanra, O. and Watson, M. A. 2003. Temperature and storage duration effect on esterase activity in fresh-cut cantaloupe melon. *J. Food Sci.* 68(3):790-793.
- Lamikanra, O. and Watson, M. A. 2004. Storage effect on lipase activity in fresh-cut cantaloupe melon. *J. Food Sci.* 69(2):126-130.
- Li, Y.; Qi, H.; Jin, Y.; Tian, X.; Sui, L. and Qiu, Y. 2016. Role of ethylene in biosynthetic pathway of related-aroma volatiles derived from amino acids in oriental sweet melons (*Cucumis melo* var. makuwa Makino). *Sci. Hortic.* 201(1):24-35.
- Meza, V. J. A.; Alanís, G. G.; García, D. C. L.; Fortis, H. M.; Preciado, R. P. and Esparza, R. J. R. 2013. Effect of a film of hydroxypropyl methylcellulose-paraffin in Cantaloupe melón (*Cucumis melo*) stored in cold. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 4(2):259-271.
- Nishiyama, K.; Guis, M.; Rose, J. K. C.; Kubo, Y.; Bennett, K. A.; Wangjin, L.; Kato, K.; Ushijima, K.; Nakano, R.; Inaba, A.; Bouyazen, M.; Latche, A.; Pech, J. C. and Benett, A. 2007. Ethylene regulation of fruit softening and cell wall disassembly in Charentais melon. *J. Exp. Bot.* 58(6):1281-1290.
- Obando, U. J. M.; Ruiz, J.; Monforte, A. J. and Fernández, T. P. 2010. Aroma profile of a collection of near-isogenic lines of melon (*Cucumis melo* L.). *Food Chem.* 118(3):815-822.
- Perdones, A.; Sánchez, G. L.; Chiralt, A. and Vargas, M. 2012. Effect of chitosan-lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. *Postharvest Biol. Technol.* 70(3):32-41.
- Reyes, A. M. C.; Femenia, A.; Minjares, F. R.; Contreras, E. J. C.; Aguilar, G. C. N.; Esparza, R. J. R. and Meza, V. J. A. 2016. Improvement of the quality and the shelf life of figs (*Ficus carica*) using an alginate-chitosan edible film. *Food Bio. Technol.* 9(12):2114-2124.
- Reyes, A. M. C.; Minjares, F. J. R.; Esparza, R. J. R.; Contreras, E. J. C.; Montañez, S. J. C. y Meza, V. J. A. 2017. Calidad de melón cantaloupe (*Cucumis melo*) cubierto con una película comestible de alginato-hpmc-parafina. *Nova Scientia.* 18(9):222- 238.
- SAS. 2005. Institute Inc. SAS/STAT User's guide, version 8. Fourth Ed. Vol. 1 and 2. SAS Institute Inc., Cary, N.C. USA.
- Savary, G.; Guichard, E.; Doublier, J. L. and Cayot, N. 2006. Mixture of aroma compounds: Determination of partition coefficients in complex semi-solid matrices. *Food Res. Inter.* 39(3):372-379.
- Shalit, M.; Katzir, N; Tadmor, Y.; Larkov, O.; Burger, Y.; Shalekhet, F.; Lastochkin, E.; Ravid, U.; Amar, O.; Edelstein, M.; Karchi, Z. and Lewinsohn, E. 2001. Acetyl-CoA: alcohol acetyltransferase activity and aroma formation in ripening melon fruit. *J. Agric. Food Chem.* 49(2):794-799.

- Suslow, T. V; Cantwell, M. and Mitchell, J. 2002. Melón Cantaloupe: (chino o de red) recomendaciones para mantener la calidad postcosecha. http://postharvest.ucdavis.edu/commodity_resources/fact-sheets/datastores/fruit-spanish/?uid=38&ds=802.
- Tavassoli, K. E.; Shekarchizadeh, H. and Masoudpour, B. M. 2016. Development of edible films and coatings from alginates and Carrageenans. *Carbohydrate Polymers*. 137(4):360-374.