

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



INSTITUTO DE INGENIERÍA DE
ALIMENTOS PARA EL DESARROLLO

ENCAPSULACIÓN DE CARVACROL PARA LA OBTENCIÓN DE FILMS ACTIVOS DE POLIVINIL-ALCOHOL (PVA)

TRABAJO DE FIN DE GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

CURSO 2017/2018

Alumna: Patricia Calatayud Campos

Tutora: Amparo Chiralt Boix

Cotutora experimental: Johana Andrade Chapal

Valencia, Julio de 2018

ENCAPSULACIÓN DE CARVACROL PARA LA OBTENCIÓN DE FILMS ACTIVOS DE POLIVINIL-ALCOHOL (PVA)

Calatayud, P.; Andrade, J.; Chiralt, A¹.

RESUMEN

El carvacrol (CA) es un compuesto mayoritario en aceites esenciales de orégano y tomillo, con propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Su incorporación en matrices de biopolímeros permite la obtención de materiales activos biodegradables para el envasado de alimentos. En este estudio se desarrollaron films a base de PVA con carvacrol, utilizando dos tipos de PVA (A: M_w 89,000-98,000; 99-99.8% hidrolizado y B: M_w 13,000-23,000; 87-89% hidrolizado) y dos proporciones de CA (5 y 10 % respecto al polímero) incorporado mediante emulsificación directa o previamente encapsulado en vesículas liposomales a base de lecitina (LEC) (CA: LEC: 1:1 y 1:2). Las propiedades microestructurales, ópticas (color y transparencia), mecánicas y de barrera al vapor de agua y al oxígeno fueron evaluadas para la caracterización de los films (10 formulaciones). La diferencia en el peso molecular y grado de hidrólisis del PVA afectó notablemente a la microestructura de los films con CA, el cual se integró de forma más homogénea en las matrices de PVA-B, evidenciando la afinidad química del compuesto con las cadenas poliméricas. Los films de PVA-A presentaron mayor módulo de elasticidad (ME), resistencia a la tracción (TS) y extensibilidad (% ϵ) debido al empaquetamiento de moléculas de mayor tamaño que confieren mayores fuerzas de cohesión a la matriz. En el PVA-A, el CA incorporado por emulsificación no tuvo un efecto notable en las propiedades mecánicas de los films, mientras que con LEC, se obtuvieron films menos rígidos. En PVA-B, la incorporación de CA potenció la resistencia y la extensibilidad de los films. En cuanto a las propiedades de barrera, la incorporación de CA no afectó de forma notable la permeabilidad al vapor de agua, pero promovió un incremento de la permeabilidad al oxígeno. La incorporación de LEC supuso un ligero cambio de coloración de los films, así como pérdida de transparencia. El PVA, especialmente PVA-B, presentó buena capacidad para encapsular CA, sin cambios relevantes en las propiedades funcionales de los films, lo que permite obtener films activos mediante la incorporación de este compuesto.

Palabras clave: Carvacrol, polivinil-alcohol (PVA), permeabilidad, resistencia, extensibilidad, propiedades ópticas, encapsulación, liposomas, lecitina.

¹ Departamento de Tecnología de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia. 46022 Valencia, España.

RESUM

El carvacrol (CA) és un component majoritari en olis essencials d'orenga i timó, amb propietats antioxidants i antimicrobianes. La seua incorporació a matrius de biopolímers ha permès l'obtenció de materials actius biodegradables per a l'envasament d'aliments. En aquest estudi es desenvoluparen films a base de PVA amb carvacrol, utilitzant dos tipus de PVA (A: Mw 89,000-98,000; 99-99.8% hidrolitzat i B: Mw 13,000-23,000; 87-89% hidrolitzat) i dues proporcions de CA (5 i 10% respecte al polímer) incorporat mitjançant emulsificació directa o prèviament encapsulat en vesícules liposomals a base de lecitina (LEC) (CA:LEC 1:1 i 1:2). Les propietats microestructurals, òptiques (color i transparència), mecàniques i de barrera al vapor d'aigua i a l'oxigen van ser avaluades per a la caracterització dels films (10 formulacions). La diferència en pes molecular i grau d'hidròlisi del PVA va afectar notablement la microestructura dels films amb CA, el qual es va integrar de forma més homogènia en les matrius de PVA-B, evidenciant l'afinitat química del component amb les cadenes polimèriques. Els films de PVA-A presentaren major mòdul d'elasticitat (ME), resistència a la tracció (TS) i extensibilitat ($\% \epsilon$), a causa de l'empaquetament de molècules més grans que confereixen majors forces de cohesió a la matriu. Al PVA-A, el CA incorporat per emulsificació no va tindre un efecte notable en les propietats mecàniques dels films, mentre que amb LEC, es van obtindre films menys rígids. Al PVA-B, la incorporació de CA va potenciar la resistència i l'extensibilitat dels films. Quant a les propietats de barrera al vapor d'aigua, la incorporació de CA no va afectar de forma notable, però va incrementar la permeabilitat a l'oxigen. La incorporació de LEC va suposar un lleuger canvi de coloració dels films, així com una pèrdua de transparència. El PVA, especialment PVA-B, va presentar una bona capacitat per a encapsular CA sense canvis rellevants en les propietats funcionals dels films, el que va permetre obtindre films actius mitjançant la incorporació d'aquest compost.

Paraules clau: Carvacrol, polinivil-alcohol (PVA), permeabilitat, resistència, extensibilitat, propietats òptiques, encapsulació, liposomes, lecitina.

ABSTRACT

Carvacrol (CA) is the main component of oregano and thyme essential oils, with antioxidant and antimicrobial properties. Its incorporation into biopolymer matrices would allow to obtain active and biodegradable materials for food packaging. In this study, PVA-based films with carvacrol were developed, using two types of PVA (A: Mw 89,000-98,000; 99-99.8% hydrolyzed and B: 13,000-23,000; 87-89% hydrolyzed) and two proportions of CA (5 and 10% regarding the polymer) incorporated by direct emulsification or previously encapsulated in lecithin-based (LEC) liposomal vesicles (CA:LEC 1:1 and 1:2). Microstructural, optical (colour and transparency), mechanical and water vapour and oxygen barrier properties were evaluated for the characterization of the films (10 formulations). The difference in molecular weight and hydrolysis degree of PVA considerably affected the microstructure of the films with CA, which was integrated more homogeneously in the PVA-B matrices, showing the chemical affinity of the compound with the polymer chains. PVA-A films displayed higher values for the modulus of elasticity (ME), tensile strength (TS) and elongation ($\% \epsilon$) due to the packing of longer molecules that gave more cohesive strength to the matrix. In PVA-A, the CA incorporated by emulsification did not have a remarkable effect in the mechanical properties, whether in films with LEC, the results were less rigid films. With PVA-B, the CA incorporated boosted the tensile strength and the elongation of the films. Regarding water vapour barrier properties, the incorporation of CA

was not a significant effect, but it increased oxygen permeability. The incorporation of LEC led to a slight change in the film's colour, as well as a loss of transparency. PVA, especially PVA-B, showed good capacity to encapsulate CA without significant changes in the film's functional properties, allowing to obtain active films by the encapsulation of this compound.

Key words: Carvacrol, Polyvinyl-alcohol (PVA), permeability, tensile strength, elongation, optical properties, encapsulation, liposomes, lecithin.

Alumna: Patricia Calatayud Campos

Tutora: Amparo Chiralt Boix

Cotutora experimental: Johana Andrade Chapal

Valencia, 9 de julio de 2018

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	7
2. OBJETIVOS	10
3. MATERIALES Y MÉTODOS	10
3.1. MATERIALES	10
3.2. PREPARACIÓN DE LIPOSOMAS CON CARVACROL	10
3.3. OBTENCIÓN DE LOS FILMS	10
3.4. CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS DE POLIVINILALCOHOL CON INCLUSIÓN DE SISTEMAS LIPOSOMALES PARA LA ENCAPSULACIÓN DE CARVACROL	11
3.4.1. Grado de retención de carvacrol	11
3.4.2. Microestructura de los films	11
3.4.3. Medida del espesor de los films	12
3.4.4. Determinación de las propiedades mecánicas	12
3.4.5. Permeabilidad al vapor de agua	12
3.4.6. Permeabilidad al oxígeno	13
3.4.7. Determinación de las propiedades ópticas	13
3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	13
4. RESULTADOS	14
4.1. GRADO DE RETENCIÓN DEL CARVACROL	14
4.2. MICROESTRUCTURA	14
4.3. PROPIEDADES MECÁNICAS	17
4.4. PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA Y AL OXÍGENO	18
4.5. PROPIEDADES ÓPTICAS	20
5. CONCLUSIONES	22
6. BIBLIOGRAFÍA	23

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. FORMACIÓN DEL PVA A PARTIR DEL ACETATO DE VINILO	7
FIGURA 2. ESTRUCTURA DEL CARVACROL	8
FIGURA 3. ENCAPSULACIÓN DE COMPUESTOS HIDROFÓBICOS EN LIPOSOMAS	9
FIGURA 4. IMÁGENES FESEM DE LA SECCIÓN TRANSVERSAL DE LOS DIFERENTES FILMS ELABORADOS	16
FIGURA 5. ESPECTROS DE TRANSMITANCIA INTERNA (T_I) ENTRE 400 Y 700 NM DE LONGITUD DE ONDA PARA LAS DIFERENTES FORMULACIONES DE LOS FILMS DE PVA-A	21
FIGURA 6. ESPECTROS DE TRANSMITANCIA INTERNA (T_I) ENTRE 400 Y 700 NM DE LONGITUD DE ONDA PARA LAS DIFERENTES FORMULACIONES DE LOS FILMS DE PVA-B	21

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. FORMULACIONES Y CONTENIDO EN COMPONENTES DE LOS FILMS	11
TABLA 2. GRADO DE RETENCIÓN DE CA EN LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS Y CONCENTRACIÓN FINAL EN LOS FILMS	14
TABLA 3. TENSIÓN DE FRACTURA (T_S), EXTENSIBILIDAD ($\% \epsilon$) Y MÓDULO DE ELASTICIDAD (ME) OBTENIDOS PARA LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS	18
TABLA 4. PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA Y AL OXÍGENO PARA LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS	19
TABLA 5. VALORES DE LUMINOSIDAD (L^*), CROMA (CAB^*), TONO (HAB^*) Y TRANSMITANCIA INTERNA A 460 NM (T_I) DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS	20

1. INTRODUCCIÓN

Los plásticos se han utilizado comúnmente como material de envase en distintos ámbitos industriales debido a sus propiedades (resistencia, maleabilidad y permeabilidad controlada) y bajo precio. Anualmente, se usan alrededor de 260 millones de toneladas de plástico (Thompson et al., 2009) y, en consecuencia, los residuos generados a partir de este material afectan radicalmente al medio ambiente, ya que permanecen en él por cientos de años debido a su falta de biodegradabilidad (Azahari et al., 2011). La industria de alimentos es la principal responsable de la generación acelerada de residuos plásticos, pues el continuo aumento de la demanda de bebidas y comidas preparadas implica el uso masivo de artículos desechables como bandejas, bolsas, platos, vasos, cubiertos y otros productos fabricados a partir de polímeros sintéticos.

Ante esta problemática, numerosos estudios se han enfocado en la generación de nuevos materiales biodegradables para la fabricación de envases (Tharanathan, 2003). Entre las fuentes de polímeros naturales renovables se destaca el almidón, la celulosa, el quitosano y las proteínas, mientras que entre los polímeros sintéticos biodegradables se tienen dos ejemplos importantes: la policaprolactona (PCL) y el polivinil alcohol (PVA). El PVA es un polímero sintético de gran flexibilidad y resistencia, proveniente de la hidrólisis controlada del polivinil acetato (PVA_c). El PVA se clasifica como de alta (≈99%), media (≈88%) y baja (≈78%) hidrólisis, en función de la cantidad de grupos acetato hidrolizados, siendo éste el porcentaje molar de unidades del grupo hidroxilo, dentro de la totalidad de unidades de la cadena. El grado de hidrólisis y el peso molecular en conjunto, determinan propiedades como la viscosidad, elasticidad, resistencia a la tracción y la capacidad de formación de los films, considerándose como las dos características más relevantes en la funcionalidad de este polímero (Muppalaneni S. y Omidian H., 2013).

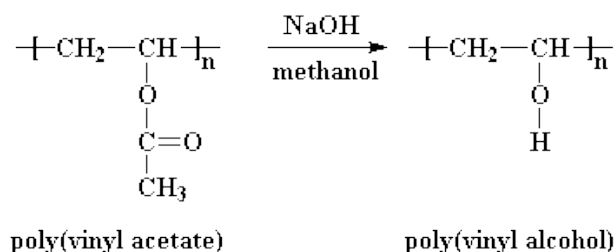


Figura 1. Formación del PVA a partir del polivinil acetato

Por otro lado, los films biodegradables con propiedades antimicrobianas y antioxidantes suponen una innovación en el concepto de envase, por su capacidad para reducir, inhibir o detener el crecimiento de microorganismos y evitar los fenómenos oxidativos, aumentando así la vida útil de los alimentos (Falaguera et al., 2011). En este sentido, se han identificado numerosos compuestos de origen natural como los aceites esenciales y extractos vegetales que exhiben propiedades antimicrobianas, antifúngicas y antioxidantes, que pueden ser aprovechadas en la elaboración de productos de alto valor agregado y de gran interés en el mercado actual, como son los envases activos.

Entre los agentes activos más investigados están los aceites esenciales (Bakkali et al., 2008). Los aceites esenciales son mezclas de numerosos compuestos químicos de mayor y menor volatilidad. Su fracción volátil está compuesta por terpenos, terpenoides y compuestos aromáticos y alifáticos de bajo peso molecular. Se obtienen por extracción con solventes orgánicos o mediante destilación de diferentes partes de las plantas. Su uso en productos

alimentarios está permitido, ya que han sido reconocidos por la FDA (Food and Drug Administration) como compuestos seguros (Generally Recognized as Safe, GRAS) (Viuda-Martos et al., 2010; Hyldgaard et al., 2012; Tognuanchan y Benjakul, 2014; Nazzaro et al., 2013).

Entre los componentes químicos de varios aceites esenciales, se ha demostrado que el carvacrol posee una acción antimicrobiana destacada (Verldhuizen et al., 2006). El carvacrol es el componente mayoritario del aceite esencial de orégano (del 60 al 74% de carvacrol) y de tomillo (45% de carvacrol) (Lagouri et al., 1993; Arrebola et al., 1994). Es un terpenoide, es decir, un terpeno con modificaciones bioquímicas a través de enzimas que agregan moléculas de oxígeno y mueven o eliminan grupos metilo (Caballero et al., 2003).

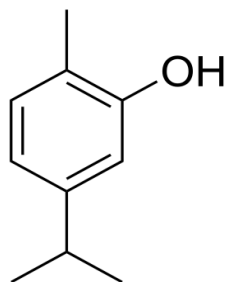


Figura 2. Estructura del carvacrol

Generalmente, los aceites esenciales se han incorporado en la formulación de películas activas a través de un proceso de homogeneización de la disolución polimérica con el activo, con la posterior extensión y secado en placa (casting) para la formación del film. Este procedimiento puede implicar importantes pérdidas de compuestos volátiles principalmente durante el proceso de secado. Es sobre todo en esta última etapa, con sistemas solventes acuosos, cuando las gotas de aceite esencial son susceptibles de sufrir procesos de desestabilización como floculación, coalescencia y cremado, que llevan a las gotas a la superficie del film donde evaporan los componentes por arrastre de vapor junto con el agua evaporada. Por ello, cuando se trata de sistemas acuosos, la capacidad activa de los films se ve significativamente afectada por pérdidas notables del componente activo (Jiménez et al., 2010).

Para contrarrestar dicha problemática, diferentes estudios han planteado varias técnicas de encapsulación de aceites esenciales, con el fin de aumentar su estabilidad y prolongar los beneficios de éstos mediante una liberación controlada (Hong and Park, 1999; Asbahani et al., 2015), lo que, además, contribuye a mitigar el impacto sensorial de estos compuestos aromáticos en los alimentos implicados.

El método de encapsulación debe ser generalmente simple, reproducible, rápido, efectivo y fácil (Carvalho et al., 2016). El método utilizado depende de diferentes aspectos como son las propiedades fisico-químicas del material a encapsular, el material encapsulante, la liberación del compuesto encapsulado, la función y el coste (Krishnan et al., 2005; Kanakdande et al., 2007). Algunos sistemas de encapsulación estudiados han sido la formación de nanoemulsiones (Severino et al., 2015), nanopartículas de quitosano o proteína vegetal (Wu et al., 2012), nanogeles (Abreu et al., 2012), microesferas de alginato (Benavides et al., 2016), nanofibras de PVA, ciclodextrinas injertadas en quitosano o liposomas (Boelter y Brandellu, 2016).

Los liposomas son vesículas esféricas de fosfolípidos organizadas en una o varias bicapas concéntricas, con un núcleo interno acuoso, capaces de autoensamblarse en disoluciones

acuosas. Los liposomas son biodegradables, no tóxicos, no inmunogénicos y biocompatibles (Anweker, Patel y Singhai, 2011). Suponen un enfoque eficiente a la incorporación de componentes naturales, como los aceites esenciales, mejorando su solubilidad y su estabilidad química (Coimbra et al., 2011). En otros estudios se ha verificado la importancia de la composición de los liposomas en el control de la liberación de los componentes activos (Jiménez y Chiralt, 2015). La liberación depende de la naturaleza lipídica, del agente bioactivo y de las interacciones compuesto-liposoma (Fernández-Pan et al., 2015). Aunque actualmente no existen muchos estudios que traten la liberación de compuestos activos encapsulados, se han descrito diferentes mecanismos de liberación entre los cuales se encuentran la difusión debida a un gradiente de concentración, el hinchamiento debido a la migración de agua, o el efecto de fuerzas externas como el pH o la temperatura (Zhang et al., 2015).

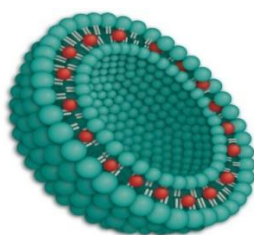


Figura 3. Encapsulación de compuestos hidrofóbicos (puntos rojos) en la estructura laminar de los liposomas

Las ventajas que presentan los liposomas son múltiples. Entre ellas, se encuentra la mejora de la biodisponibilidad del compuesto activo, la posibilidad de favorecer mecanismos de absorción celular, la reducción de la cantidad de compuesto activo incorporado y el aumento de la concentración de este en áreas del alimento donde los microorganismos se localicen preferentemente (Severino et al., 2015). La obtención de liposomas se puede llevar a cabo a través de diferentes técnicas, como extrusión, homogeneización a alta presión o sonicación (Boelter y Brandelli, 2016). La sonicación consiste en la aplicación de ultrasonidos de alta intensidad a dispersiones liposomales, lo que resulta en la formación de pequeñas vesículas lipídicas (Torchlin, 2003). La propagación de la onda de sonido a través de las muestras causa una generación espontánea de pequeñas cavidades, como resultado de unas condiciones de presión extrema, un aumento de la temperatura y la generación de un flujo muy turbulento. Las condiciones de flujo turbulento provocan grandes fuerzas de cizalla en vesículas multilamelares que causan la alteración de las estructuras de dichas vesículas, seguida de una reorganización en vesículas más pequeñas (Taylor et al., 2005).

La lecitina ha demostrado su efectividad en la formación de liposomas debido a su alto contenido en fosfolípidos, permitiendo la liberación controlada de los compuestos bioactivos en los alimentos y prolongando la vida útil de los mismos (Calviño, Sánchez y García, 2016).

Considerando la importancia de desarrollar nuevos materiales para el envasado de alimentos, en el presente estudio se han elaborado y caracterizado films activos de PVA y CA. El carvacrol fue incorporado en la matriz polimérica tanto por emulsificación directa, como encapsulado en sistemas liposomales, analizando su influencia en las características microestructurales, ópticas, mecánicas y de barrera de dos tipos de PVA, con diferente peso molecular y grado de hidrólisis.

2. OBJETIVOS

Objetivo general:

Encapsulación de carvacrol para la obtención de películas activas de polivinil-alcohol.

Objetivos específicos:

1. Encapsulación de carvacrol en sistemas liposomales.
2. Elaboración de los films activos de polivinil-alcohol con carvacrol libre o encapsulado.
3. Evaluación de la microestructura, las propiedades mecánicas, ópticas y de barrera de los diferentes films de polivinil-alcohol con carvacrol libre y encapsulado.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIALES

Para la obtención de los films se utilizaron dos tipos de PVA: PVA-A (M_w 89,000-98,000; 99-99.8% hidrolizado) y PVA-B (M_w 13,000-23,000; 87-89% hidrolizado) suministrados por Sigma (Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Alemania). Para la formación de liposomas se usó lecitina de soja Lipoid S75 con un contenido en fosfatidilcolina del 75% (Lipoid GmbH, Frigenstraße, Alemania). El compuesto activo seleccionado fue el carvacrol (Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Alemania). Para el acondicionamiento de los films se utilizó nitrato de magnesio y pentóxido de fósforo. Los solventes empleados fueron metanol grado HPLC de Panreac Química S.A. (Castellar de Vallès, Barcelona) y agua destilada.

3.2. PREPARACIÓN DE SISTEMAS LIPOSOMALES DE ENCAPSULACIÓN

La lecitina se dispersó al 5% (m/m) en agua destilada mediante agitación magnética durante 15 minutos a 700 rpm. Tras esa etapa, el CA fue incorporado en ratios de CA:LEC 1:1 y 1:2. Finalmente la mezcla se sometió a sonicación a 20 kHz durante 10 minutos, con pulsos de 1 segundo. Los tratamientos se mantuvieron en un baño de hielo para mitigar el calentamiento de la muestra.

3.3. OBTENCIÓN DE LOS FILMS

Los films fueron elaborados por el método de casting. Se prepararon soluciones poliméricas de cada tipo de PVA al 5% (m/m) en agua destilada, utilizando agitación magnética (1200 rpm) a 100°C durante 3h. Para la preparación de films con CA emulsionado directamente en la matriz se utilizó sonicación (20 kHz durante 10 min, con pulsos de 1 s) para incorporar el CA en proporciones de 5% (m/m) y 10% (m/m) respecto al polímero. En el caso del CA encapsulado, las mismas proporciones de CA se agregaron a la matriz polimérica a través de las suspensiones liposomales, para ello, las soluciones de PVA y los liposomas se mezclaron mediante agitación magnética a 600 rpm durante 15 min. Finalmente, los films se obtuvieron por vertido en placa de teflón de las disoluciones poliméricas con una masa equivalente constante de polímero por placa (2 g por placa) y se dejaron secar durante 48 horas en condiciones de humedad y temperatura controladas (HR: $45 \pm 2\%$ y T: $25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2$). La tabla 1 presenta las cantidades correspondientes de cada componente por film para cada una de las formulaciones estudiadas.

Tabla 1. Formulaciones y contenido en componentes de los films.

Tratamiento	PVA		Carvacrol (g)	Lecitina (g)
	Características	PVA (g)		
A		2	0	0
A-CA5	A (M _w 89,000-98,000; 99-99.8% hidrolizado)	2	0,1	0
A-CA10		2	0,2	0
A-L-CA5		2	0,1	0,2
A-L-CA10		2	0,2	0,2
B		2	0	0
B-CA5	B (M _w 13,000-23,000; 87-89% hidrolizado)	2	0,1	0
B-CA10		2	0,2	0
B-L-CA5		2	0,1	0,2
B-L-CA10		2	0,2	0,2

3.4. CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS ACTIVAS DE POLIVINILALCOHOL

3.4.1. Grado de retención de carvacrol

La cantidad de CA retenido en las diferentes películas, tras el proceso de vertido y secado, se cuantificó a través de extracción en una disolución acuosa de metanol al 50% (v/v). Se recortaron muestras de films de 4 cm² de área y se pusieron en contacto con 50 ml de la disolución de metanol durante 48 horas a temperatura ambiente y en agitación constante (300 rpm). La concentración de CA extraída de los films se cuantificó mediante espectrofotometría (Hulios Zeta UVeVis, Thermo Fisher Scientific, United Kingdom) a 274 nm, utilizando una recta patrón de calibrado ($Y = 0,0159X + 0,0069$ $R^2 = 0,998$). Se calculó el porcentaje de retención de CA en los films en base a la masa de CA extraído con la disolución de metanol respecto la masa de CA inicialmente incorporada (ecuación 1).

$$\text{Grado de retención} = \frac{\text{CA extraído en metanol (g)}}{\text{CA incorporado (g)}} \times 100$$

(1)

3.4.2. Microestructura de los films

La microestructura de las películas (sección transversal) se observó utilizando *Field Emission Scanning Electron Microscope* (FESEM) (JEOL, model JSM-5410, Japan). Las muestras fueron previamente acondicionadas en desecadores con pentóxido de fósforo (P₂O₅). Para la observación de la sección transversal, las muestras fueron sometidas a criofractura tras su inmersión en nitrógeno líquido. Todas las muestras se recubrieron con platino. La observación se realizó utilizando un voltaje de aceleración de 2 kV.

3.4.3. Medida del espesor de los films

Se determinó el espesor de los diferentes films en diez puntos aleatorios utilizando un micrómetro electrónico digital (Comecta S.A., Barcelona, España).

3.4.4. Determinación de las propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas se determinaron utilizando una máquina de ensayo universal (Stable Micro Systems, TA.XT plus, Haslemere, Inglaterra), siguiendo el método estándar ASTM D882-09 (ASTM 2009). Para cada formulación, se cortaron ocho probetas de ensayo (25 mm x 100 mm) y se acondicionaron durante una semana (HR: 53% y T: 25 °C). Una vez acondicionadas las muestras, se sometieron al ensayo de extensión. Los parámetros de separación inicial de las pinzas y velocidad de elongación fueron de 50 mm y 50 mm·min⁻¹, respectivamente. A partir de las curvas de tensión (σ) frente a deformación de Henky (ϵ_H) se obtuvieron los parámetros: módulo de elasticidad (ME), resistencia a la fractura (TS) y porcentaje de extensibilidad en el punto de fractura (% ϵ).

3.4.5. Permeabilidad al vapor de agua

La permeabilidad al vapor de agua (WVP) se determinó usando el método gravimétrico ASTM E96-65 (ASTM, 2005). Para el ensayo, las muestras se sometieron a un gradiente de humedad relativa (HR) 53-100%. Para ello, se utilizaron copas Payne (3.5 cm de diámetro, Elcometer SPRL, Hernelle/s Argentau, Belgium) que contenían 5 ml de agua destilada, exponiendo así los films al 100% de HR por una de sus caras. A su vez, las copas se introdujeron en desecadores con soluciones sobresaturadas de nitrato de magnesio para mantener la HR en 53%. El ensayo se realizó en el interior de una cámara de temperatura controlada (25 °C), con un ventilador en la parte superior de cada desecador para reducir la resistencia al transporte de vapor de agua. Transcurridas 16 horas se monitorizó la pérdida de peso con una balanza analítica (ME235P Sartorius, Alemania) en intervalos de 1,5 horas. Cada tratamiento se analizó por triplicado.

La pendiente de la representación de la pérdida de masa frente al tiempo en el estado estacionario se dividió entre el área expuesta para calcular la velocidad de transferencia del vapor de agua (WVTR). La presión de vapor de agua en la cara interior del film (p_2) se obtuvo con el método propuesto por (McHugh et al., 1993), para corregir el efecto de gradientes de concentración establecidos en el espacio de cabeza de la copa (ecuación 2).

$$WVTR = \frac{P \cdot D \cdot \ln\left[\frac{(P-p_2)}{(P-p_1)}\right]}{R \cdot T \cdot \Delta z} \quad (2)$$

Donde: P = presión total (atm); D = difusividad del agua en aire a 25 °C (m²/s); R = constante de los gases (82.057·10⁻³ m³·atm·kmol⁻¹·K⁻¹); T = temperatura (K); Δz = altura media del espacio de cabeza (m), considerando su altura inicial y final; p_1 = presión de vapor de agua en la superficie de la solución (atm); p_2 = presión de vapor corregida en la cara interior del film. Utilizando la ecuación 3, WVP se calculó a partir de p_2 y la presión de vapor de agua en la cara exterior del film (p_3).

$$WVP = \frac{WVTR}{p_2 - p_3} \cdot \text{espesor} \quad (3)$$

3.4.6. Permeabilidad al oxígeno

La permeabilidad al oxígeno (OP) se determinó siguiendo el método estándar ASTM F1927–07 (ASTM, 2010), con ciertas modificaciones. Se evaluaron films de 50 cm², manteniendo condiciones de temperatura (23 °C ± 1) y humedad relativa (53% ± 2%) durante el periodo del ensayo, utilizando el equipo Ox-Tran (Modelo 1/50, Mocon, Minneapolis, EE. UU.). Cada formulación se analizó por triplicado.

3.4.7. Propiedades ópticas

Las propiedades ópticas (transparencia y coordenadas psicométricas) fueron determinadas por triplicado midiendo el espectro de reflexión de las muestras a una longitud de onda de 400 a 700 nm usando un espectrocolorímetro Minolta (modelo CM-3600d, Minolta Co., Tokio, Japón). La transparencia se midió por medio de la transmitancia interna (T_i), ecuación 4, aplicando la teoría de Kubelka-Munk de la dispersión múltiple del espectro de reflexión (Hutchings, 1999) dados los espectros de reflexión de los films sobre fondo blanco (R) y negro (R_o) y el espectro del blanco (R_g).

$$T_i = \sqrt{(a + R_o)^2 - b^2} \quad (4)$$

$$R_\infty = a - b \quad (5)$$

Las coordenadas de color CIE $L^*a^*b^*$ se obtuvieron a partir de la reflectancia de una capa infinitamente gruesa del material (R_∞), ecuación 5, considerando un iluminante D65 y un observador 10°. El espacio de color CIE $L^*a^*b^*$ está formado por las coordenadas L^* , que representa la luminosidad de un color; a^* , que representa una medida del contenido de rojo o de verde de un color y b^* , que indica el contenido de amarillo o azul de un color; obtenidas mediante las ecuaciones 6 y 7.

$$a^* = \frac{1}{2} \left(R + \frac{R_o - R + R_g}{R_o R_g} \right) \quad (6)$$

$$b^* = (a^2 - 1)^{1/2} \quad (7)$$

A partir de los valores de L^* , a^* y b^* , se pueden obtener las coordenadas psicométricas o atributos de color percibido, que son la luminosidad (L^*), el tono (h^*_{ab}) y el croma (C^*_{ab}) que se obtienen mediante las ecuaciones 8 y 9. C^* es la medida de la saturación de un color y h^* es el ángulo que mide la tonalidad.

$$C^*_{ab} = \sqrt{(a^2 + b^2)} \quad (8)$$

$$h^*_{ab} = \arctg \frac{b^*}{a^*} \quad (9)$$

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los datos se llevó a cabo usando Statgraphics Centurion XVI.II. Se analizaron los datos mediante el Análisis de la Varianza (ANOVA), tanto simple como multifactorial y mediante la prueba de Rangos Múltiples.

4. RESULTADOS

4.1. RETENCIÓN DEL CARVACROL

El porcentaje de retención de CA en los dos tipos de PVA se muestra en la Tabla 2. De manera general, el CA encapsulado en liposomas presentó un mayor grado de retención respecto al CA incorporado por emulsificación directa. Este hecho reitera el efecto de las vesículas liposomales frente a la protección del compuesto activo y el control de su volatilización durante la etapa de secado de las películas. Por su parte, el tipo de PVA influyó significativamente sobre el grado de retención del compuesto activo, pues la presencia de grupos acetato residuales en PVA-B le confiere un mayor carácter anfifílico al polímero, promoviendo la afinidad con compuestos lipídicos, especialmente con el CA. Como muestra de ello se observa el considerable nivel de retención del compuesto activo, inclusive incorporado por emulsificación directa.

Tabla 2. Grado de retención de CA en los diferentes tratamientos y concentración final en los films.

Tratamiento	X CA		Grado de retención
	mg CA/g PVA	mg CA/ g film	(%)
A-CA5	24± 1	23± 1	48 ± 2 ^a
A-CA10	51± 2	46± 2	51 ± 2 ^{ab}
A-L-CA5	28± 1	24± 1	55 ± 3 ^{bc}
A-L-CA10	57± 2	48± 2	57 ± 30 ^{cd}
B-CA5	29± 1	28± 2	58 ± 3 ^{cd}
B-CA10	63± 2	57± 2	63 ± 2 ^{de}
B-L-CA5	37± 2	32± 2	74 ± 2 ^f
B-L-CA10	67± 2	61± 2	67 ± 3 ^e

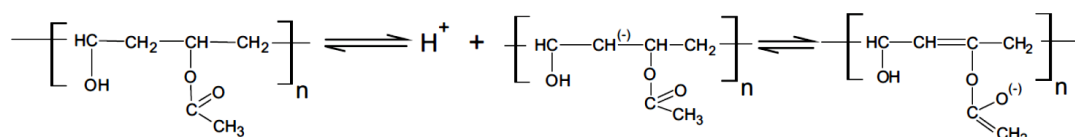
^{abcde} Letras diferentes en la misma columna implica una diferencia significativa entre las formulaciones ($p < 0.05$).

4.2. MICROESTRUCTURA

El estudio microestructural de los films permite conocer la disposición de los distintos componentes de la dispersión inicial una vez los films están totalmente secos, y correlacionar la información obtenida con las propiedades funcionales como la capacidad de barrera, propiedades mecánicas y ópticas (Cano, 2013). Durante el secado de los films, la evaporación del disolvente provoca cambios en las concentraciones de los componentes y la viscosidad de la fase líquida, lo que conduce a cambios, especialmente en la distribución de la fracción

lipídica, que generalmente se distribuye en gotas, afectando la estructura interna de la película, lo que, a su vez, afecta a otras propiedades (Jiménez et al., 2010).

El corte transversal de las películas tanto de PVA-A como PVA-B muestra diferencias estructurales significativas relacionadas a la diferente afinidad de los compuestos lipídicos que fueron adicionados en la matriz polimérica. En el caso del PVA-A, el CA incorporado directamente en la matriz se distribuyó de manera estocástica en gotas con alta variabilidad de tamaños, mientras que en el PVA-B no se observan gotas, lo que demuestra su enlazado a las cadenas poliméricas, generando una estructura homogénea. Este hecho, puede atribuirse al diferente grado de hidrólisis de los dos tipos de PVA. Por otra parte, el elevado grado de hidrólisis y el mayor tamaño de las cadenas del PVA-A potencian el incremento de las fuerzas intermoleculares y conducen a organización más cohesionada, limitando la inclusión del CA, lo que provoca su separación de fases (gotas) como se observa en la muestra PVA-A-CA (Figura 4). Por otro lado, el PVA-B cuenta con cadenas moleculares de menor tamaño que presentan algunos grupos acetato residuales que, en medio acuoso, son capaces de generar carga negativa en las cadenas, tal como describe Wiśniewska et al. (2016), a las cuales puede unirse el CA a través de la donación del protón fenólico con carácter de ácido débil. Esta interacción PVA-B con el CA potencia su afinidad, dando lugar a una estructura homogénea (muestra PVA-B-CA en la Figura 4.) y contribuyendo a la retención efectiva del compuesto en la matriz polimérica.



La misma tendencia se observa al incorporar CA encapsulado a las matrices poliméricas. El CA se distribuyó en la matriz del PVA-A en forma de gotas y de forma mucho más homogénea en la matriz del PVA-B. No obstante, el tamaño de las gotas, así como la variabilidad de su distribución de tamaños fue mucho menor que al incorporarlo por emulsificación directa. Este hecho indica que la encapsulación de CA en LEC, ralentizó los fenómenos de desestabilización de la emulsión como la coalescencia o la maduración de Ostwald, que originan el cremado del lípido a la superficie del film, asociado con la pérdida acelerada de compuestos activos durante la etapa de secado de los films. Los films de PVA-B presentaron una leve modificación estructural con la incorporación del carvacrol encapsulado en lecitina atribuible a los liposomas residuales en la matriz, mientras que el carvacrol liberado de las mismas durante la etapa de secado del film aparece también ligado a las cadenas poliméricas.

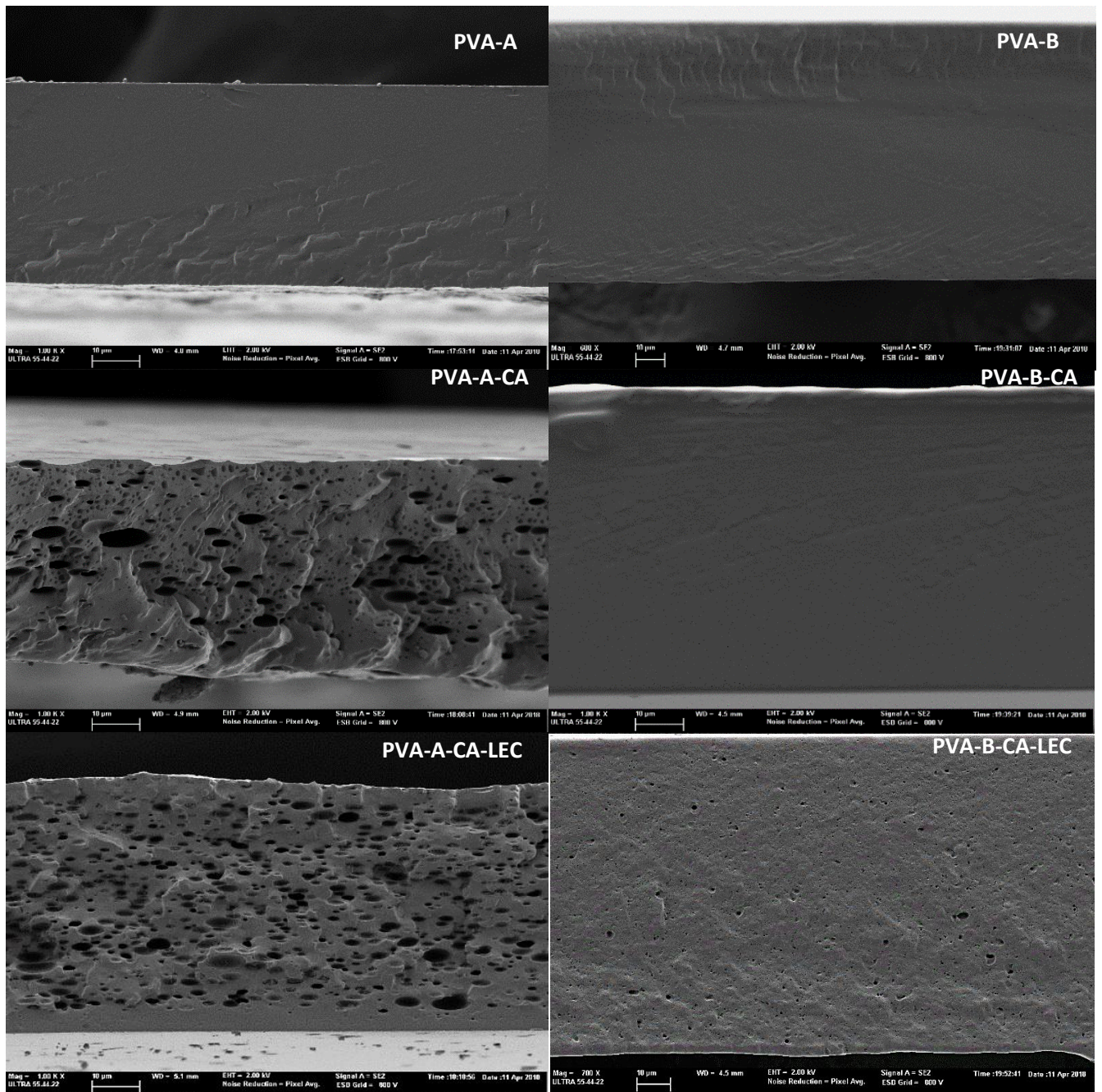


Figura 4. Imágenes FESEM de la sección transversal de films de PVA. El CA está presente al 10 % respecto al polímero

4.3. PROPIEDADES MECÁNICAS

La Tabla 3 muestra los valores obtenidos para la resistencia a la fractura (TS), extensibilidad (% ϵ) y el módulo de elasticidad (ME) de los diferentes films evaluados. Los films de PVA-A presentaron mejores propiedades mecánicas que los de PVA-B, pues las fuerzas intermoleculares en películas de PVA-A resultaron favorecidas por la presencia de cadenas moleculares más largas y con mayor grado de hidrólisis que en PVA-B. Este efecto también fue reportado por Marten (2002), quien observó que el incremento del peso molecular y del grado de hidrólisis mejoró las propiedades mecánicas de los materiales de PVA.

Por su parte, cada tipo de PVA presentó efectos diferentes ante la incorporación de CA libre o encapsulado en la matriz. El PVA-A incrementó su extensibilidad (% ϵ) de forma directamente proporcional a la fracción másica de lípidos del material, probablemente debido a la acción plastificante del CA y de la LEC, que favorecen el deslizamiento entre las cadenas poliméricas durante la extensión del film. El módulo de elasticidad no sufrió cambios significativos con la incorporación de CA emulsionado, no obstante, al agregarlo encapsulado se redujo considerablemente, probablemente por el efecto de la lecitina que contribuye a debilitar las uniones intercadena de la matriz. Las moléculas y asociaciones moleculares de LEC al debilitar las fuerzas de interacción intermolecular promueven la relajación de las cadenas, lo cual resulta en materiales menos rígidos. Efectos similares se obtuvieron en otros estudios con adición de lípidos a matrices poliméricas (Fabra et al., 2008 y 2009; Sánchez et al., 2010; Ortega-Toro et al., 2017; Bonilla et al., 2012).

En el caso de PVA-B, la incorporación de CA mejoró las propiedades mecánicas del material, probablemente debido al efecto de *cross-linking* entre el polímero y el CA, lo cual es coherente con la microestructura observada con FESEM, que revela películas (PVA-B-CA) de carácter monofásico y textura lisa, resultado de la afinidad e interacción entre los compuestos, previamente descrita. Las películas de PVA-B con CA incorporado de manera directa, presentaron un importante aumento de la resistencia del material y de la extensibilidad sin afectar el módulo de elasticidad. Por su parte, las películas con el compuesto activo encapsulado mantuvieron la misma tendencia en cuanto a la resistencia y la extensibilidad, pero presentaron pérdida de rigidez, debido a que la LEC no mostró la misma afinidad que el CA con el polímero, lo que repercute en una reducción de las fuerzas intercadena y, en consecuencia, de la cohesión de las películas.

Tabla 3. Tensión de fractura (TS), Extensibilidad (% ϵ) y módulo de Elasticidad (ME) obtenidos para los diferentes tratamientos.

Tratamiento	Tensión de fractura (MPa)	Extensibilidad (% ϵ)	Módulo de Elasticidad (MPa)
A	14 (2) ^e	132 (9) ^{cd}	7,9 (0,5) ^e
A-CA5	12 (2) ^{cd}	126 (11) ^{bc}	7,9 (0,6) ^e
A-CA10	15 (3) ^e	137 (10) ^{de}	8,2 (0,6) ^e
A-L-CA5	11 (2) ^c	137 (9) ^{de}	6,9 (0,6) ^d
A-L-CA10	14 (2) ^{de}	147 (12) ^e	6,3 (0,6) ^c
B	4 (1) ^a	97 (8) ^a	5,4 (0,6) ^b
B-CA5	7,1 (0,9) ^b	123 (9) ^{bc}	5,3 (0,4) ^b
B-CA10	6,9 (0,9) ^b	120 (6) ^{bc}	5,0 (0,3) ^b
B-L-CA5	5,6 (0,9) ^{ab}	122 (9) ^b	4,2 (0,2) ^a
B-L-CA10	7,4 (0,6) ^b	142 (5) ^{de}	4,0 (0,1) ^a

^{abcde} Letras diferentes en la misma columna implica una diferencia significativa entre las formulaciones ($p < 0.05$).

4.4. PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA Y AL OXÍGENO

La permeabilidad al vapor de agua (WVP) y al oxígeno (OP) son propiedades relevantes relacionadas con la aplicación de las películas como material de envase alimentario. Estas deben ser lo más bajas posible para prevenir la degradación acelerada de los productos a causa de la permeación de vapor de agua o gases (Valencia et al., 2016). Las propiedades de barrera de los dos tipos de PVA variaron como consecuencia de su diferencia en peso molecular y grado de hidrólisis. El PVA-A presentó mejores propiedades de barrera, tanto al vapor de agua como al oxígeno, que el PVA-B; efecto relacionado con la superioridad en el tamaño de sus cadenas poliméricas y su alto grado de hidrólisis. Estos factores favorecen las interacciones intermoleculares y crean una red más cohesionada, que actúa como una mejor barrera frente a los dos gases estudiados.

No obstante, los dos tipos de PVA presentaron respuestas diferentes en sus propiedades de barrera con la incorporación de compuestos lipofílicos. Por su parte, los films de PVA-A con incorporación de CA y LEC incrementaron la WVP, probablemente debido a la poca afinidad de la matriz polimérica con los compuestos apolares. Este hecho dio lugar a la pérdida de cohesión y compacidad de la matriz, lo que promueve la transferencia de vapor de agua. Sin embargo, los diferentes films de PVA-B no presentaron cambios significativos en la WVP con la incorporación de CA o LEC, probablemente debido a su mejor integración la matriz y su menor efecto sobre su compacidad, como se observa en las imágenes de FSEM (Figura 4).

En cuanto a la barrera al oxígeno, se observó un incremento en la OP tanto en films de PVA-A como de PVA-B tras la incorporación de compuestos lipofílicos. En el caso de PVA-A, el incremento se dio en los tratamientos que contenían CA encapsulado, lo que puede explicarse por el efecto acumulado de ambos compuestos apolares, los cuales favorecen la solubilidad del oxígeno en la matriz y, por tanto, la transferencia de las moléculas del gas. Para los films de PVA-B dicho efecto fue más acentuado en los tratamientos con mayor porcentaje de CA (10%), probablemente debido a una acción plastificante del compuesto como resultado de su alto grado de afinidad con la matriz. Adicionalmente, la interacción del fenol con las cargas negativas de la cadena puede generar un efecto neutralizante, incrementando el carácter hidrofóbico del material, donde las moléculas de oxígeno serían más solubles. Esto unido a la relajación de las cadenas poliméricas resultaría en el favorecimiento de la transferencia de oxígeno a través de la matriz.

Tabla 4. Permeabilidad al vapor de agua y al oxígeno para los diferentes tratamientos.

Tratamientos	WVP (g/m. h. kpa) x 10 ³	OP (cm ³ /m. h. kpa) x 10 ¹⁰
A	2,46 (0,03) ^a	38,5 (0,7) ^{ab 1}
A-CA5	2,6 (0,3) ^a	9,80 (0,07) ^a
A-CA10	3,1 (0,6) ^b	45,20(0,01) ^a
A-L-CA5	3,6 (0,4) ^c	544 (8) ^d
A-L-CA10	3,30 (0,02) ^{bc}	172 (3) ^{bc}
B	2,90 (0,02) ^{ab}	53,5 (5) ^{ab 2}
B-CA5	3,12 (0,03) ^b	140 (7) ^{abc}
B-CA10	2,45 (0,06) ^a	611 (6) ^f
B-L-CA5	3,3 (0,3) ^{ab}	249 (35) ^c
B-L-CA10	3,1 (0,1) ^b	1031 (75) ^e

^{abcdef} Letras diferentes en la misma columna implican una diferencia significativa entre las formulaciones ($p < 0.05$).

^{1 2} Números diferentes en la misma columna implican una diferencia significativa entre las formulaciones ($p < 0.05$).

4.5. PROPIEDADES ÓPTICAS

La Tabla 5 muestra las coordenadas psicométricas luminosidad (L^*), croma (C^*_{ab}) y tono (h^*_{ab}) y los valores de transmitancia interna (T_i) a 460 nm, relacionados con la transparencia, para las diferentes formulaciones elaboradas. El efecto de la encapsulación del CA en liposomas respecto a su emulsificación directa en el polímero puede observarse en la Tabla 5.

En general, los resultados obtenidos para el parámetro de luminosidad (L^*) fueron altos, lo que significa que los films elaborados fueron claros. Para el PVA-A, los valores fueron menores que para el PVA-B, probablemente debido al mayor índice de refracción de las matrices con cadenas de mayor tamaño. La incorporación de LEC a los films supuso una pérdida significativa de claridad, mientras que la adición de CA sólo disminuyó la claridad de los films de PVA-A, obteniéndose films más oscuros cuanto mayor fue la cantidad de CA incorporada. Esto se explica por su efecto estructural, generando matrices heterogéneas con gotas de CA disperso, lo cual tiene un impacto notable en las propiedades de interacción con la luz. No se observó una variación significativa en el croma de los films de PVA debida al diferente peso molecular y grado de hidrólisis. Sin embargo, la presencia de LEC y CA dio lugar a films con un color más saturado (C^* más elevado). La presencia de LEC en los dos tipos de PVA analizados provocó cambios significativos en todas las propiedades medidas (L^* , C^*_{ab} y h^*_{ab}), dando lugar a films más oscuros y con un color más amarillento (valores más bajos de L^* y h^* respectivamente), así como más opacos (menor T_i).

Tabla 5. Valores de luminosidad (L^*), croma (C^*_{ab}), tono (h^*_{ab}) y transmitancia interna a 460 nm (T_i) de los diferentes tratamientos.

Tratamiento	L^*	Cab^*	hab^*	T_i (460 nm)
A	88 (2) ^c	3 (1) ^{ab}	114 (11) ^e	0,9 ^{de}
A-CA5	87 (2) ^c	3,5 (0,7) ^b	112 (3) ^{de}	0,9 ^d
A-CA10	82 (2) ^b	2,7 (0,4) ^a	120 (5) ^f	0,8 ^b
A-L-CA5	78 (2) ^a	8,7 (0,9) ^c	105 (2) ^c	0,8 ^b
A-L-CA10	78 (2) ^a	10,6 (0,9) ^d	100 (1) ^{ab}	0,8 ^a
B	92 (1) ^d	3,4 (0,5) ^{ab}	104 (2) ^{bc}	0,9 ^{de}
B-CA5	92 (2) ^d	2,7 (0,5) ^{ab}	108 (5) ^{cd}	0,9 ^e
B-CA10	92 (1) ^d	2,9 (0,4) ^{ab}	106 (2) ^c	0,9 ^e
B-L-CA5	81,8 (0,3) ^b	12 (1) ^e	98 (1) ^a	0,8 ^c
B-L-CA10	81,0 (0,8) ^b	13,4 (0,9) ^f	96 (1) ^a	0,8 ^{bc}

^{abcdef} Letras diferentes en la misma columna implica una diferencia significativa entre las formulaciones ($p < 0.05$).

Las Figuras 5 y 6 muestran las curvas de distribución espectral de la transmitancia interna (T_i) de las películas. Las formulaciones correspondientes a los polímeros (A y B) sin la adición de compuestos fueron las más transparentes (mayor T_i) y no presentaron diferencias notables entre ellas. La incorporación de LEC se reflejó en la pérdida parcial de transparencia en los films (valores de T_i más bajos), sobre todo a bajas longitudes de onda debido a la absorción selectiva de la lecitina en este intervalo. Este efecto también fue reportado por Sapper et al. (2018), relacionándolo con la coloración marrón de la LEC. Se destaca, además, que la incorporación de CA en las dos proporciones evaluadas no modificó la transparencia de las películas de PVA-B, en coherencia con la mayor afinidad entre el polímero y el compuesto activo y la obtención de matrices homogéneas sin gotas dispersas.

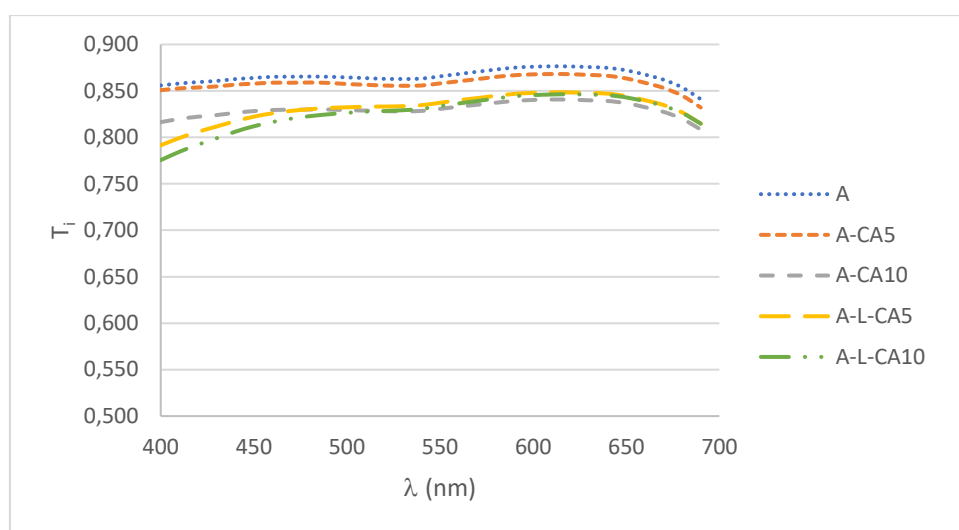


Figura 5. Espectros de transmitancia interna (T_i) entre 400 y 700 nm de longitud de onda para las diferentes formulaciones de los films de PVA-A.

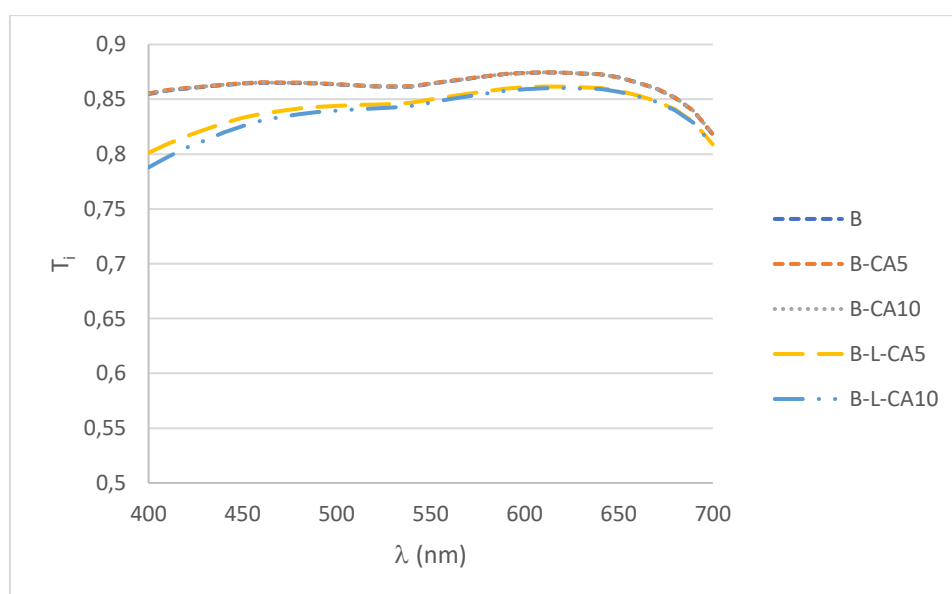


Figura 6. Espectros de transmitancia interna (T_i) entre 400 y 700 nm de longitud de onda para las diferentes formulaciones de los films de PVA-B.

5. CONCLUSIONES

El peso molecular y el grado de hidrólisis de los dos tipos de PVA influyeron directamente sobre las diferentes características de las películas desarrolladas, al igual que en la afinidad con el compuesto activo CA, siendo determinantes para el desarrollo de películas activas destinadas al envasado de alimentos. El PVA-B presentó una afinidad altamente marcada con CA, generando películas micro-estructuralmente homogéneas, con mayor grado de retención del compuesto activo que el PVA-A. El PVA-A presentó mejores propiedades mecánicas que el PVA-B, en coherencia con la superioridad tanto en el peso molecular como en el grado de hidrólisis, lo cual permitió la obtención de películas altamente cohesionadas por los enlaces intercadena de hidrógeno. Por su parte, las propiedades mecánicas del PVA-B mejoraron al incluir CA en la matriz, indicando procesos de entrecruzamiento entre los compuestos, favorecidos por los grupos acetilo residuales presentes en el PVA-B. Por su parte, la OP de los films de PVA-B fue considerablemente superior que la del PVA-A como resultado del carácter más apolar de sus cadenas, condición que facilitó la difusión del oxígeno a través de esta matriz. En ese sentido, la OP incrementó en las dos matrices con la incorporación de compuestos lipofílicos. Los films de PVA-A y B presentaron valores estadísticamente similares para la WVP, debido a que el PVA-A presentó una matriz estructuralmente más cohesionada, pero el PVA-B presentó grupos residuales acetato, que potencian la hidrofobicidad de matriz, limitando esto la transferencia de vapor de agua. Como conclusión general se deduce que el PVA-B es un polímero de alto potencial para la elaboración de películas activas con CA, pues presenta buenas características microestructurales, ópticas, mecánicas y de barrera. Así mismo, la encapsulación del CA con LEC incrementó la retención del compuesto activo, pero afectó las propiedades ópticas y la rigidez del material, por lo que la emulsificación directa del compuesto en la matriz de PVA-B resultó en la mejor opción para la incorporación del CA.

6. BIBLIOGRAFÍA

ABD EL-KADER, K. A. AND ABDEL HAMIED, S. F. (2002). Preparation of poly(vinyl alcohol) films with promising physical properties in comparison with commercial polyethylene film. *Journal of Applied Polymer Science*, 86: 1219-1226.

ABREU, F., OLIVEIRA, E., PAULA, H. DE PAULA, R. (2012). Chitosan/cashew gum nanogels for essential oil encapsulation. *Carbohydrate Polymers*, 89:1277-1282.

AMERICAN SOCIETY STANDARD TESTING AND MATERIALS ASTM. (2005). Standard test method for water vapor transmission of materials. Standard Designations: E96 - E95.

AMERICAN SOCIETY STANDARD TESTING AND MATERIALS ASTM. (2001). Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. Standard Designations: D882.

AMERICAN SOCIETY STANDARD TESTING AND MATERIALS ASTM. (2010). Standard test method for determination of oxygen gas transmission rate, permeability and permeance at controlled relative humidity through barrier materials using a coulometric detector. Standard Designations: F1927-07

AMORATI, R & CONCETTO FOTI, M. (2017). Mode of antioxidant action of essential oils: chemistry, safety and applications. *Essential oils in food processing* 267-291.

ANWEKER, H., PATEL, S. & SINGHAI, A.K. (2011). Liposome as drug carriers. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2, 945-951.

ARREBOLA, ML., NAVARRO, MC., JIMÉNEZ, J. & OCAÑA, FA. (1994). Yield and composition of the essential oil of *Thymus serpylloides* subsp. *serpylloides*. *Phytochemistry* 36:67-72.

ASBAHANI, A.E., MILADI, K., BADRI, W., SALA, M., AÏT ADDI, E.H., CASABIANCA, H., MOUSADIK, A.E., HARTMANN, D., JILALE, A., RENAUD, F.N.R., & ELAISSARI, A. (2015). Essential oils: From extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 483: 220–243.

AZAHARI, N., OTHMAN, N. & ISMAIL, H. (2011). Biodegradation Studies of Polyvinyl Alcohol/Corn Starch Blend Films in Solid and Solution Media. *Journal of Physical Science*, Vol. 22(2), 15–31

AZBARZADEH, A., REZAEI-SADABADY, R., DAVARAN, S., WOO JOO, S., ZARGHAMI, N., HANIFEHPOUR, Y., SAMIEI, M., KOUHI, M. & NEJATI-KOSHKI, K. (2013). Liposome: classification, preparation and applications. *Nanoscale Research Letters*, 8:102.

BARRERA, J.E., ALEXANDER, RODRIGUEZ, J.A., PERILLA, J.E. & ALGECIRA, N.A. (2007). Estudio de la degradación térmica de poli(alcohol vinílico) mediante termogravimetría y termogravimetría diferencial. *Ingeniería e Investigación*, 27(2), 100-105.

BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., & IDAOMAR, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.

BENAVIDES, S., CORTÉS, P., PARADA, J. & FRANCO, W. (2016). Development of alginate microspheres containing thyme essential oil using ionic gelation. *Food Chemistry*, 204:77-83.

BOELTER, J. & BRANDELLI, A. (2016). Innovative bionanocomposite films of edible proteins containing liposome-encapsulated nisin and halloysite nanoclay. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 145:740-747.

BONILLA, J., ATARÉS, L., VARGAS, M., & CHIRALT, A. (2014). Physical, structural and antimicrobial properties of poly vinyl alcohol – chitosan biodegradable films. *Food Hydrocolloids*, 35, 463 – 470.

BONILLA, J., ATARÉS, L., VARGAS, M., CHIRALT, A. (2012). Effect of essential oils and homogenization conditions on properties of chitosan-based films. *Food Hydrocolloids*. 26(1):9–16.

CALVIÑO L., SÁNCHEZ M.E. & GARCÍA, D. (2016). Pharmacological aspects of soy phosphatidylcholine and its possible medical uses: A Review.

CAMPOS, ADRIANA DE, MARCONATO, JOSÉ CARLOS, & MARTINS-FRANCHETTI, SANDRA MARA. (2011). Biodegradation of blend films PVA/PVC, PVA/PCL in soil and soil with landfill leachate. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 54(6), 1367-1378.

CANO, A.I., CHÁFER, M., CHIRALT, A., GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. (2015). Physical and micro-structural properties of biodegradable films based on pea starch and PVA. *Journal of Food Engineering* 167(A) 59-64.

CANO, A., JIMÉNEZ A., CHÁFER M., GONZÁLEZ C. (2013). Efecto de la incorporación de salvado de arroz sobre las propiedades físicas y microestructurales de films biodegradables a base de almidón. Tesis de Máster. Universidad Politécnica de Valencia.

CABALLERO, B., TRUGO, L. C., AND FINGLAS, P. M. (2003). *Encyclopaedia of Food Sciences and Nutrition*. Amsterdam: Academic Press.

CARVALHO, I.T., ESTEVINHO, B.N., & SANTOS, L. (2016). Application of microencapsulated essential oils in cosmetic and personal healthcare products – a review. *International Journal of Cosmetic Science*, 38, 109– 119.

COIMBRA, M., ISACCHI, B., VAN BLOOIS, L., TORANO, J.S., KET, A., WU, X., BROERE, F., METSELAAR, J.M., RIJCKEN, C.J., STORM, G., BILIA, R. & SCHIFFELERS, R.M. (2011). Improving solubility and chemical stability of natural compounds for medicinal use by incorporation into liposomes. *International Journal of Pharmaceutics*, 416, 433-442.

FABRA, M.J., TALENS, P., Y CHIRALT, A. (2008). Tensile properties and water vapour permeability of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures. *Journal of Food Engineering*, 85, 393-400.

FABRA, M., HAMBLETON, A., TALENS, P., DEBEAUFORT, F., CHIRALT, A., VOILLEY, A. (2009). Influence of interactions on water and aroma permeabilities of ι -carrageenan-oleic acid-beeswax films used for flavour encapsulation. *Carbohydrate Polymers*. 76 (2):325–32.

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 & Technology*, 22(6), 292-303.

FERNÁNDEZ-PAN, I., MATÉ, J. I., GARDRAT, C., & COMA, V. (2015). Effect of chitosan molecular weight on the antimicrobial activity and release rate of carvacrol-enriched films. *Food Hydrocolloids*, 51, 60-68.

GOMES, A., DA SILVA, P., E MOURA, C., DA SILVA, C. & RICARDO, N. (2011). Study of the mechanical and biodegradable properties of cassava starch/chitosan/PVA blends.

- GUILBERT, S., GONTARD, N. & GORRIS, L. (1996). Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. *LWT – Food Science and Technology* 29(1-2) 10-17.
- HEJRI, Z., AKBAR SEIKFORDI, A., AHMADPOUR, A., MOYJABA SEBARJAD, S. & MASKOOKI, A. (2013). Biodegradable starch/poly(vinyl alcohol) film reinforced with titanium dioxide nanoparticles. *International Journal of Minerals, Metallurgy and Materials* (20) 10.
- HYLDGAARD, M., MYGIND, T. & MEYER, R.L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of actions, synergies and interactions with food matrix components. *Frontiers of Microbiology* (3) 12.
- HONG, KJ. & PARK, SM. (1999). Preparation and Characterization of Polyurea Microcapsules with different diamines. *Materials Research Bulletin* 34(6) 963-969.
- ISAILOVIC, B.D., KOSTIC, I.T., ZVONAR, A., DORDEVIC, V.B., GASPERLIN, M., NEDOVIC, A. & BUGARSKI, B.M. (2013). Resveratrol Loaded liposomes produced by different techniques. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, volume 19, 181-189.
- JAYASEKARA, R., HARDING, I., BOWATER, I., CHRISTIE, G.B.Y. & LONERGAN, G.T. (2004). Preparation, surface modification and characterisation of solutions cast starch PVA blended films. *Polymer Testing* 23(1) 17–27.
- JIMÉNEZ, A., FABRA, M. J., TALENS, P., CHIRALT, A. (2010). Effect of lipid self-association on the microstructure and physical properties of hydroxypropyl-methylcellulose edible films containing fatty acids. *Carbohydrate Polymers*, 82, 585-593.
- JIMÉNEZ, A., SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L., DESOBRY, S., CHIRALT, A., TEHRANY, E. (2014). Influence of nanoliposomes incorporation on properties of film forming dispersions and films based on corn starch and sodium caseinate. *Food Hydrocolloids*. 35(5):159–169.
- JIMÉNEZ, M., CHIRALT, A., VALENCIA-SULLCA, C & JIMÉNEZ, A. (2015). Encapsulación en liposomas de aceites esenciales para mejorar su retención en films de quitosano. Trabajo de Fin de Máster. Universidad Politécnica de Valencia.
- JOUKI, M., MORTAZAVI, S., YAZDI, F., KOOCHEKI, A. (2014). Characterization of antioxidant-antibacterial quince seed mucilage films containing thyme essential oil. *Carbohydrate Polymers*. 99(9):537–546.
- KANAKDANDE, D., BOSHAI, R. & SINGHAL, R. (2007). Stability of cumin oleoresin microencapsulated in different combination of gum Arabic, maltodextrin and modified starch. *Carbohydrate Polymers* 67(4) 536-541.
- KRISHNAN, K., BHOSALE, R. AND SINGHAL, R.S. (2005). Microencapsulation of cardamom oleoresin: evaluation of blends of gum Arabic, maltodextrin and modified starch as wall materials. *Carbohydrate Polymers* 61: 95-102
- LAGOURI, V., BLEKAS, G., TSIMIDOU, M., KOKKINI, S., BOSKOU, D.Z. (1993). Composition and antioxidant activity of essential oils from Oregano plants grown wild in Greece. *Lebensm. Unters. Forsch.* 197, 20-23.
- LANG K., SOURIRAJAN S., MATSUURA T. & CHOWDHURY G. (1996). A study on the preparation of polyvinyl alcohol thin-film composite membranes and reverse osmosis testing. Department of Chemical Engineering, Industrial Membrane Research Institute, University of Ottawa, Canada.

- LAXMESHWAR, S., MADHU KUMAR, D., VIVEKA, S. & NAGARAJA, G. (2011). Preparation and Properties of Biodegradable Film Composites Using Modified Cellulose Fibre-Reinforced with PVA. *Polymer Science*. Volume 2012, article ID 154314.
- LEE, SY., MOHAN, D.J., KANG, IA., DOH, GH., LEE, S & OK HAN, S. (2009). Nanocellulose reinforced PVA composite films: Effects of acid treatment and filler loading. *Fibers and Polymers* 10(1), 77-82.
- LLANA-RUIZ-CABELLO, M., PICHARDO, S., BAÑOS, A., NÚÑEZ, C., BERMÚDEZ, J.M., GUILLAMÓN, E., AUCEJO, S. & CAMEÁN, A.M. (2015). *LWT – Food Science and Technology* 64(2) 1354-1361.
- LÖRCKS, J. (1998). Properties and applications of compostable starch-based plastic material. *Polymer Degradation and Stability* 59, 245-249.
- MALI, S., SAKANAKA, L.S., YAMASHITA, F. Y GROSSMANN, M.V.E. (2005). Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relations to plasticizing effect. *Carbohydrate Polymers* (60), 283-289.
- MARTEN, F.L. (2002). Vinyl Alcohol Polymers. *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*, (Ed.).
- MCHUGH, T. H., AVENA-BUSTILLOS, R., KROCHTA, J. M. (1993). Hydrophilic edible films: modified procedure for water vapour permeability and explanation of thickness effects. *Journal of Food Science*. 58(4): 899–903.
- MC HUGH, T. H. Y KROCHTA, J. M. (1994). Water vapour permeability properties of edible whey protein-lipid emulsion films. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 71, 307-312.
- MUPPALANENI S, OMIDIAN H (2013). Polyvinyl Alcohol in Medicine and Pharmacy: A Perspective. *Journal of Developing Drugs* 2: 112.
- OJAGH, S., REZAEI, M., RAZAVI, S., HOSSEINI, S. (2010). Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry*. 122(1):161–166.
- ORTEGA-TORO, R., COLLAZO-BIGLIARDI, S., ROSELLÓ, J., SANTAMARINA, P., CHIRALT, A. (2017). Antifungal starch-based edible films containing Aloe vera. *Food Hydrocolloids*. 72(5):1–10.
- PRIYA, B., KUMAR, V., PATHANIA, D. & SINGH, A. (2014). Synthesis, characterization and antibacterial activity of biodegradable starch/PVA composite films reinforced with cellulosic fibre. *Carbohydrate Polymers* (109) 171-179.
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L., VARGAS, M., GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C., CHIRALT, A. Y CHÁFER, M. (2009). Characterization of edible films based on hydroxypropylmethylcellulose and tea tree essential oil. *Food Hydrocolloids*, 23 (8), 2102-2109.
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L., CHÁFER, M., CHIRALT, A., GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. (2010). Physical properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on *Penicillium italicum*. *Carbohydrate Polymers*. 82(2):277–283.
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L., CHIRALT, A., GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C., CHÁFER, M. (2011). Effect of essential oils on properties of film forming emulsions and films based on hydroxypropylmethylcellulose and chitosan. *Journal of Food Engineering*. 105(2):246–253.

- SAPPER, M., WILCASO, P., SANTAMARINA M., ROSELLO, J., CHIRALT, A. (2018). Antifungal and functional properties of starch-gellan films containing thyme (*Thymus zygis*) essential oil. *Food Control*, 92, 505-515.
- SEVERINO, R., FERRARI, G., VU, K. D., DONSI, F., SALMIERI, S., & LACROIX, M. (2015). Antimicrobial effects of modified chitosan based coating containing nanoemulsion of essential oils, modified atmosphere packaging and gamma irradiation against *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella Typhimurium* on green beans. *Food Control*, 50, 215-222.
- SHEN, Z., KAMDEM, D. P. (2015). Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils. *International Journal of Biological Macromolecules*, 74, 289-296.
- SILVA, G., SOBRAL, P. CARVALHO, R., BERGO, P., MENDIETA-TABOADA, O. & HABITANTE, A. (2008). Biodegradable Films Based on Blends of Gelatin and Poly(Vinyl Alcohol): Effect on PVA Type or Concentration on Some Physical Properties of Films. *Springer Science and Business Media*, LLC 2008.
- SOLER BEATTY, J. (2016). Films activos de quitosano para la conservación de carne. Trabajo final de grado. Universidad Politécnica de Valencia.
- TAKAHASI, M., INAFUKU, K., MIYAGI, T., OKU, H., WADA, K., IMURA, T. & KITAMOTO, D. (2007). Efficient preparation of liposomes encapsulating food materials using lecithins by a mecanochemical method. *Journal of Oleo Science*, 56 (1) 35-42.
- TAYLOR, J., TAYLOR, J. R. N., DUTTON, M. F., & DE KOCK, S. (2005). Identification of kafirin film casting solvents. *Food chemistry*, 90(3), 401-408.
- THARANATHAN, R.N. (2003). Biodegradable films and composite coating: Past, present and future. *Trends in Food Science and Technology* 54(3):343-351.
- THOMPSON, R., SWAN, S., MOORE, C. & VOM SAAL, F. (2009). Our plastic age. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* (2009) 364 1973-1976.
- TONGNUANCHAN, P. & BENJAKUL, S. (2014). Essential Oils: Extraction, Bioactivities and their uses for Food Preservation. *Journal of Food Science*, 79.
- TORCHILIN, V. & WEISSIG, V. (2003). *Liposomes*. Second Edition, Oxford University Press.
- VALENCIA-SULLCA, C., JIMÉNEZ, M., JIMÉNEZ, A., ATARÉS., VARGAS, M. & CHIRALT, A. (2015). Influence of liposome encapsulated essential oils on properties of chitosan films. *Society of Chemical Industry*.
- VALENCIA-SULLCA, C., JIMÉNEZ, M., JIMÉNEZ, A., ATARES, L., VARGAS, M, CHIRALT A. (2016). Influence of liposome encapsulated essential oils on properties of chitosan films. *Polymer International*. 65(5):979-987.
- VARGAS, M., ALBORS, A., CHIRALT A., GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. (2009). Characterization of chitosan-oleic acid composite films. *Food Hydrocolloids*. 23(2):536–547.
- VELDHUIZEN, EJ., TJEERDSMA-VAN BOKHOVEN, JL., ZWEIJTZER, C., BURT, SA. & HAAGSMAN, HP. (2006). Structural requirements for the antimicrobial activity of carvacrol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 (5) 1874-1879.

VERGIS, J., GOKULAKRISHNAN, P., AGARWAL, R. K., & KUMAR, A. (2013). Essential Oils as Natural Food Antimicrobial Agents: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(10), 1320-1323.

VIUDA-MARTOS, M., RUIZ-NAVAJAS, Y., FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. & PÉREZ-ÁLVAREZ, J.A. (2010). Effect of added citrus fibre and spice essential oils on quality characteristics and shelf-life of mortadella. *Meat Science*, 85 (3) 568-576.

Wiśniewska, M., Bogatyrov, V., Ostolska, I. (2016). Impact of poly(vinyl alcohol) adsorption on the surface characteristics of mixed oxide $Mn_x O_y-SiO_2$. *Adsorption*, 22, 417-423.

WU, Y., LUO, Y. & WANG, Q. (2012). Antioxidant and antimicrobial properties of essential oils encapsulated in zein nanoparticles prepared by liquid-liquid dispersion method. *LWT - Food Science and Technology*, 48:283-290.

ZHANG, H., JUNG, J., & ZHAO, Y. (2017). Preparation and characterization of cellulose nanocrystals films incorporated with essential oil loaded β -chitosan beads. *Food Hydrocolloids*, 69, 164-172.