

“EFECTO DE LA INCORPORACIÓN
DE ÁCIDOS FENÓLICOS
ANTIMICROBIANOS EN LAS
PROPIEDADES DE
FILMS DE ALMIDÓN DE YUCA”

MARIA DEL MAR ORTIZ GIMENO
TUTORA: AMPARO CHIRALT BOIX
COTUTORA: LORENA ATARES HUERTA
DIRECTOR EXPERIMENTAL: RAMÓN ORDOÑEZ LAGOS
VALENCIA, JULIO 2019

Efecto de la incorporación de ácidos fenólicos antimicrobianos en las propiedades de films de almidón de yuca

Efecte de la incorporació de àcids fenòlics antimicrobians en las propietats de films de midó de iuca

Effect of the incorporation of antimicrobial phenolic acids on properties of cassava starch films

Alumno: María del Mar Ortiz Gimeno

Tutora: Amparo Chiralt Boix

Cotutora: Lorena Atarés Huerta

Director experimental: Ramón Ordóñez Lagos

Valencia, Julio 2019

RESUMEN

El almidón es un material altamente estudiado como una alternativa a plásticos tradicionales para su aplicación al envasado alimentario. La incorporación de compuestos activos que puedan conferir propiedades antimicrobianas a este material ha sido estudiada anteriormente con la intención de obtener un material activo que, además de proteger el alimento, también permitan alargar su vida útil. El objetivo de este trabajo fue estudiar la influencia de la incorporación de ácidos fenólicos con poder antimicrobiano en diferentes proporciones, concretamente ácido ferúlico y cinámico, en las propiedades funcionales de películas biodegradables a base de almidón de yuca, con glicerol como plastificante. Las películas se obtuvieron mediante mezclado en fundido y posterior moldeo por compresión, obteniendo 5 formulaciones (película control de almidón sin compuesto activo y películas con 1 y 2% de ácido cinámico y 1 y 2% de ácido ferúlico). Se estudiaron las propiedades mecánicas, las propiedades barrera tanto al oxígeno como al vapor de agua, las propiedades térmicas, la solubilidad en agua y las propiedades ópticas, incluyendo color y transparencia. Dicha caracterización permitió concluir que las películas activas obtenidas pueden ser una alternativa interesante para el envasado de alimentos en combinaciones multicapa con poliésteres biodegradables de alta barrera al vapor de agua. El almidón actuaría como capa intermedia debido a su alta higroscopicidad, aportando los compuestos activos y una elevada barrera al oxígeno, lo cual es de gran interés para el envasado de alimentos sensibles a la oxidación.

Palabras clave: Películas activas; biodegradable; almidón; propiedades funcionales; ácidos fenólicos.

RESUM

El midó és un material altament estudiat com una alternativa a plàstics tradicionals per a la seua aplicació a l'envasament alimentari. La incorporació de compostos actius que puguen conferir propietats antimicrobianes a este material ha sigut estudiada anteriorment amb la intenció d'obtindre un material actiu que, a més de protegir l'aliment, també permeten allargar la seua vida útil. L'objectiu d'aquest treball va ser estudiar la influència de la incorporació d'àcids fenòlics de poder antimicrobià en diferents proporcions, concretament àcid ferúlic i cinnàmic, en les propietats funcionals de pel·lícules biodegradables a base de midó de iuca, amb glicerol com plastificant. Les pel·lícules es van obtindre per mitjà de mesclat en fos i posterior modelat per compressió, obtenint 5 formulacions (film control de midó sense compost actiu i films amb 1 i 2% d'àcid cinnàmic i 1 i 2% d'àcid ferúlic). Es van estudiar les propietats mecàniques, les propietats barrera tant a l'oxigen com al vapor d'aigua, les propietats tèrmiques, la solubilitat en aigua i les propietats òptiques, incloent color i transparència. La dita caracterització va permetre concloure que les pel·lícules actives obtingudes poden ser una alternativa interessant per a l'envasament d'aliments en combinacions multicapa amb polièsters biodegradables d'alta barrera al vapor d'aigua. El midó actuaria com a capa intermitja a causa de la seua alta higroscopicidad, aportant els compostos actius i una elevada barrera a l'oxigen, la qual cosa és de gran interès per a l'envasament d'aliments sensibles a l'oxidació.

Paraules clau: Pel·lícules actives; biodegradable; midó; propietats funcionals; àcids fenòlics.

ABSTRACT

Starch is a highly studied material as an alternative to traditional plastics for food packaging application. The incorporation of active compounds that can confer antimicrobial properties on this material has previously been studied with the intention of obtaining an active material that, in addition to protecting the food, also allows for shelf life extension. The objective of this work was to study the influence of the incorporation of antimicrobial phenolic acids (ferulic and cinnamic) at different proportions, on the functional properties of biodegradable cassava starch-based films, with glycerol as a plasticizer. The films were obtained by melt blending and compression moulding, obtaining 5 formulations (film control of starch without active compound and films with 1 and 2% cinnamic acid and 1 and 2% ferulic acid). Mechanical properties, water and oxygen barrier properties, thermal properties, water solubility and optical properties, as well as thermal behavior were studied. The active films obtained can be an interesting alternative for food packaging in multilayer combinations with biodegradable polyesters of high barrier to water vapour. The starch would act as an intermediate layer due to its high hygroscopicity, providing the active compounds and a high barrier to oxygen, which is of great interest for the packaging of oxidation-sensitive food.

Keywords: Active films; biodegradable; starch; functional properties; phenolic acids.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	5
1.1 Problema ambiental de los plásticos sintéticos derivados del petróleo.....	5
1.2 Polímeros biodegradables.....	6
1.3 Almidón	7
1.4 Envases activos. Compuestos fenólicos	8
1.5 Propiedades de los ácidos cinámico y ferúlico.....	9
1.5.1 Ácido cinámico	9
1.5.2 Ácido ferúlico	9
2. OBJETIVOS	10
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
3.1 Materiales	10
3.2 Preparación de las películas	10
3.3 Caracterización de las películas.....	11
3.3.1 Espesor	11
3.3.2 Propiedades mecánicas.....	11
3.3.3 Propiedades barrera al vapor de agua	12
3.3.4 Propiedades barrera al oxígeno	12
3.3.5 Solubilidad en agua	13
3.3.6. Recuperación de compuesto activo	13
3.3.7 Propiedades ópticas: color y transmitancia interna.	14
3.3.8 Comportamiento térmico: DSC y TGA.....	16
3.4 Análisis estadístico	16
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	16
4.1. Procesado del material.....	16
4.2 Propiedades mecánicas.....	17
4.3 Propiedades barrera: vapor de agua y oxígeno	19
4.4 Solubilidad en agua y recuperación del compuesto activo.....	20
4.5 Propiedades ópticas	21
4.6 Propiedades térmicas.....	23
5. CONCLUSIONES	26
6. BIBLIOGRAFÍA.....	27

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Problema ambiental de los plásticos sintéticos derivados del petróleo

En los últimos 50 años y concretamente en las últimas décadas, la producción de plásticos no ha dejado de crecer, siendo China el mayor productor seguido de Europa (GREENPEACE). Según un estudio realizado por Plastics Europe, en el año 2017 se alcanzó a nivel mundial una producción total de 348 millones de toneladas de plástico, lo que supuso un aumento del 1,04% respecto al año anterior.

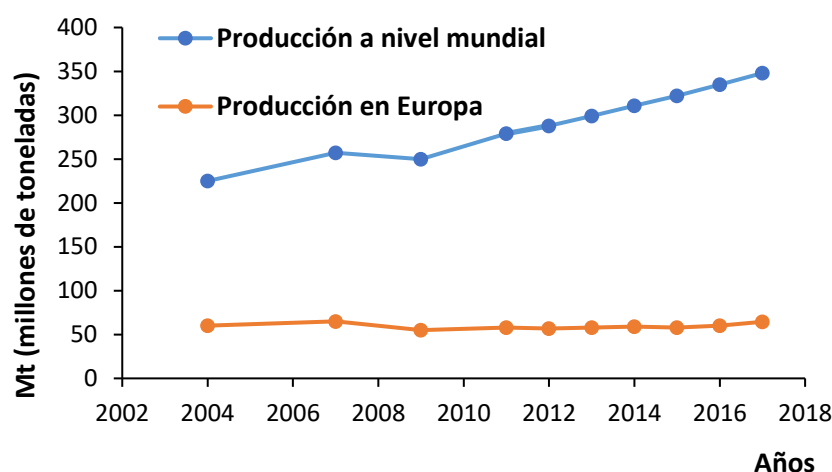


Figura 1.1 Evolución de la producción de plásticos a nivel mundial y en Europa (Plasticseurope).

La mayoría de los materiales plásticos se obtienen de materias primas fósiles como el petróleo o el carbón y son utilizados para infinidad de propósitos tales como la construcción y edificación, envases y embalajes, transporte, dispositivos electrónicos y eléctricos, agricultura, deporte y energía (PLASTICSEUROPE, 2017).

El sector de envases y embalajes es el que posee una mayor demanda de productos plásticos derivados del petróleo, destacando entre ellos la utilización del tereftalato de polietileno (PET), el cloruro de polivinilo (PVC), el polietileno (PE), el polipropileno (PP), el poliestireno (PS) y la poliamida (PA) debido a sus bajos costes y sus buenas propiedades barrera y mecánicas (Siracusa et al., 2008). En el sector alimentario, estos materiales protegen a los alimentos del espacio exterior, evitando así la aparición de oxidaciones y la penetración y desarrollo de agentes biológicos (Marsh y Bugusu, 2007; Ferreira et al., 2016).

A pesar de sus buenas condiciones para el envasado, los plásticos derivados de materias primas fósiles generan un gran impacto negativo en el ecosistema (Tharanathan, 2003), dado que suponen un riesgo potencial tanto para la vida marina como para el ser humano (Nirban y Upendra, 2019). Estos materiales plásticos tardan en descomponerse entre 100 y 450 años, dependiendo del tipo del material utilizado (Alvira, 2007).

Por tanto, teniendo en cuenta el aumento de consumo de combustibles fósiles y la limitación de sus recursos, la fluctuación de los precios, el impacto en el medio ambiente y la problemática ocasionada por la dificultad de reciclado o reutilización, surge la necesidad de sustituir los plásticos convencionales por plásticos biodegradables (Niaounakis, 2013).

1.2 Polímeros biodegradables

Los polímeros son macromoléculas formadas por un número determinado de monómeros unidos mediante enlaces covalentes. Las pequeñas variaciones entre las diferentes estructuras químicas del polímero dan lugar a grandes cambios en su biodegradabilidad, ya que ésta depende tanto del peso como de la estructura molecular. Por tanto, la biodegradabilidad disminuye conforme aumenta el peso molecular y aumenta cuando existen unidades repetitivas de monómeros (Ali Ashter, 2016).

Según la Norma Europea EN 13432-2000, se entiende por biodegradación a la degradación de un material orgánico por acción, principalmente enzimática, de microorganismos. Los productos finales obtenidos son CO₂, nueva biomasa y agua (condiciones aerobias) o metano (condiciones anaerobias).

Cómo se puede observar en la Figura 1.2, los polímeros biodegradables pueden provenir de diversas fuentes, tanto de polímeros naturales como sintéticos. Los polímeros naturales están disponibles en grandes cantidades a partir de fuentes renovables, mientras que los polímeros sintéticos se producen a partir de recursos petrolíferos no renovables (Shen et al., 2009).

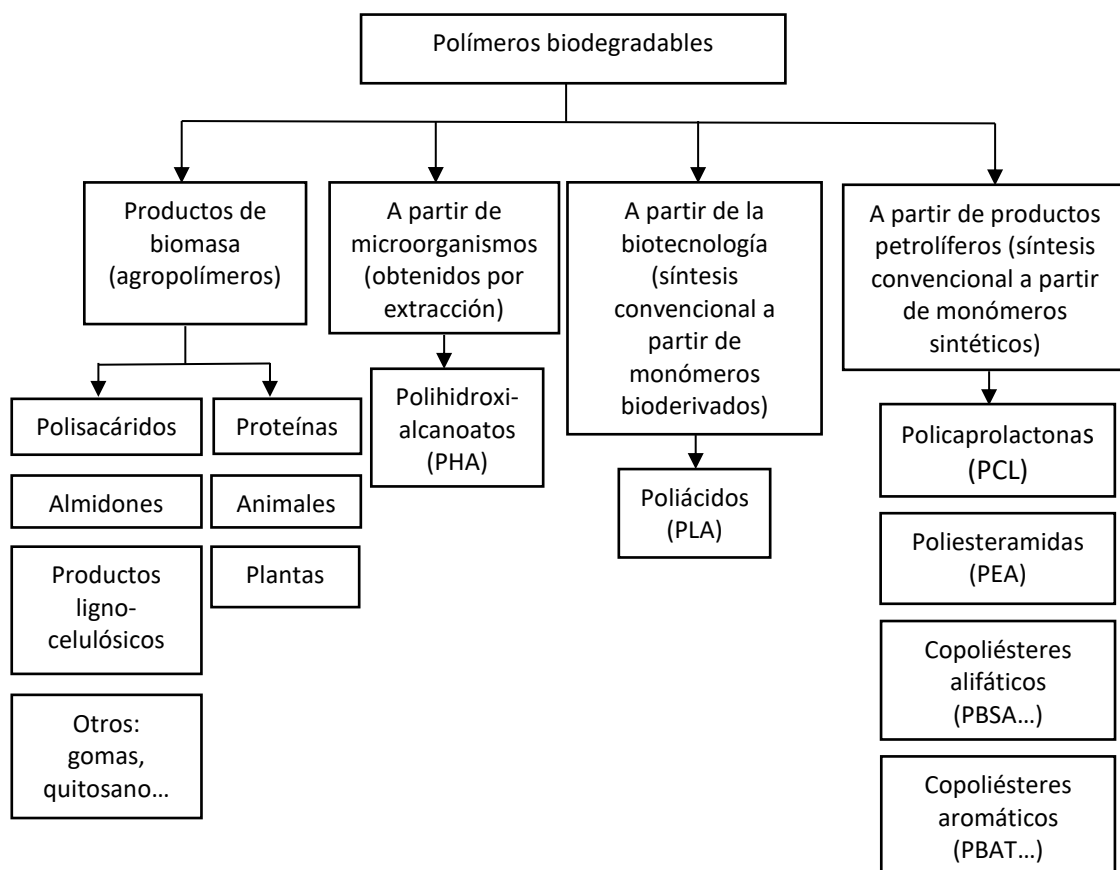


Figura 1.2 Clasificación de los principales polímeros biodegradables según su proceso de síntesis (Averous & Pollet, 2012).

1.3 Almidón

El almidón es un polisacárido formado por unidades de glucosa que se encuentra tanto en cereales, como en tubérculos y leguminosas (Wertz, 2011). Es una de las sustancias que aporta mayor cantidad de calorías a la alimentación del ser humano y uno de los polímeros renovables y biodegradables más abundantes en la tierra, junto con la celulosa y la quitina.

Esta macromolécula está constituida por dos fracciones, la amilopectina (unidades de glucosa unidas por enlaces α -1,4 con ramificaciones cada 15-30 glucosas mediante enlaces α -1,6) y la amilosa (cadena lineal de glucosas unidas por enlaces α -1,4). La Tabla 1.1, indica, en función del origen del almidón, el porcentaje de amilosa y amilopectina en cada caso, variando así ligeramente las propiedades fisicoquímicas de este polímero.

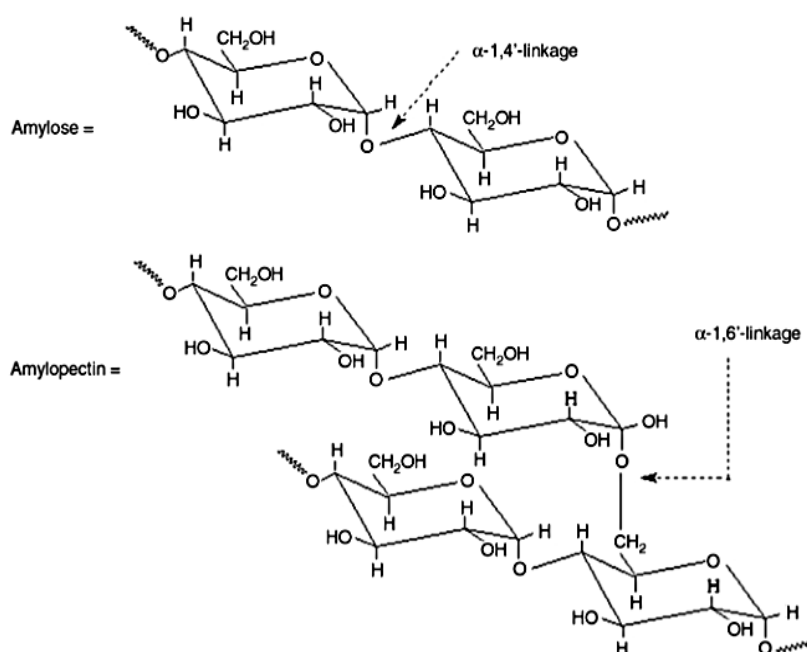


Figura 1.3 Estructura molecular de la amilosa y la amilopectina (Lu et al., 2009).

Tabla 1.1 Contenido de amilosa y amilopectina en almidón de diferentes fuentes (Carvalho et al., 2008).

ALMIDÓN	AMILOSA (%)	AMILOPECTINA (%)
Trigo	30	70
Maíz	28	72
Patata	20	80
Arroz	20-30	70-80
Yuca	16	84

Utilizando almidón como material de base se pueden obtener películas transparentes, inodoras y con buenas propiedades barrera al oxígeno (Acosta et al., 2015). Por otro lado, este polisacárido posee algunas desventajas como ser altamente hidrofílico e higroscópico, y poseer pobres propiedades barrera al vapor de agua (Averous y Boquillon, 2004). También cabe destacar que la cristalinidad de las películas puede verse alterada por la humedad relativa y la temperatura de almacenamiento (Bergo et al., 2010). En la obtención de películas de almidón es conveniente añadirles plastificantes como el glicerol, aumentando así la flexibilidad y mejorando las propiedades mecánicas (Parra et al., 2004; Vieira et al., 2011).

1.4 Envases activos. Compuestos fenólicos

La población, además de estar pendiente del medio ambiente, también se preocupa continuamente por consumir alimentos seguros y lo más naturales posible, a poder ser sin aditivos sintéticos de dudosa inocuidad (FUNDACIÓN MAPFRE, ALIMENTACIÓN, SOCIEDAD Y DECISIÓN ALIMENTARIA EN LA ESPAÑA DEL SIGLO XXI).

Por este motivo, se han diseñado las tecnologías de envasado activo, donde el producto, el entorno y el envase interactúan entre sí mejorando las propiedades sensoriales del producto o alargando su vida útil, manteniendo en todo momento la calidad (Suppakul et al., 2003). El desarrollo de este tipo de envases implica la selección del compuesto activo, los materiales y el diseño del método de incorporación, cuya efectividad debe demostrarse en el sistema alimentario (Muller et al., 2017).

Los compuestos activos (aceites esenciales, enzimas, ácidos orgánicos, extractos vegetales, nanopartículas metálicas...) pueden actuar de dos maneras: absorbiendo sustancias indeseables que deterioran el producto como puede ser el oxígeno, el etileno, la humedad o los olores; o liberando componentes beneficiosos que contribuyen a su conservación como agentes antimicrobianos, antioxidantes o algún sabor (AITIIP CENTRO TECNOLÓGICO, 2009).

En los últimos años, con la finalidad de alargar la vida útil de los alimentos y evitar brotes infecciosos entre la población, ha sido de gran interés la inclusión de elementos antimicrobianos en los envases para impedir el crecimiento de microorganismos o destruirlos (*Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* y *Staphylococcus*, entre otras) (Alkan & Yemenicioglu, 2016). Estos deben localizarse lo más cerca posible de la superficie del alimento e incluso pueden formar parte de él, como es el caso de las películas comestibles.

Compuestos fenólicos vegetales de diferentes fuentes (frutas, verduras, semillas, tallos, flores, té...) como los ácidos fenólicos, flavonoides y taninos, han demostrado tener una actividad antimicrobiana significativa (Moreno et al., 2006). Por ejemplo, el ácido cafeico y el ácido p-hidroxibenzoico contra *L. monocytogenes* (Pernin et al., 2019) o el ácido ferúlico contra *Botrytis cinerea* (Patzke & Schieber, 2018).

Respecto a los ácidos fenólicos, existen variaciones en su actividad antimicrobiana contra bacterias debido a las diferentes estructuras de las paredes celulares de estas, siendo más efectivos en las especies gram positivas (Cueva et al., 2010). Además, influye el número, el tipo y la posición de los sustituyentes en el anillo bencénico y la longitud de la cadena lateral de los ácidos fenólicos (Gill & Holley, 2006). Estos componentes, además de aportar carácter antimicrobiano a las películas, pueden modificar las propiedades físicas de las mismas, tales como su resistencia mecánica o su barrera a diferentes sustancias.

1.5 Propiedades de los ácidos cinámico y ferúlico

1.5.1 Ácido cinámico

El ácido cinámico, también llamado ácido 3-fenil-2-propenoico, es un compuesto orgánico con fórmula molecular $C_9H_8O_2$ y masa molecular 148,16 g/mol. Físicamente es de color blanco y carácter cristalino. Posee una densidad de 1,2475 g/cm³ y su punto de fusión se encuentra a 132-133 °C. Es soluble en muchos disolventes orgánicos (hexano, acetona...) y ligeramente en agua (0,23 g/L a 298 K). Su pKa es 4,55 a 298,2 K (Mota et al., 2008).

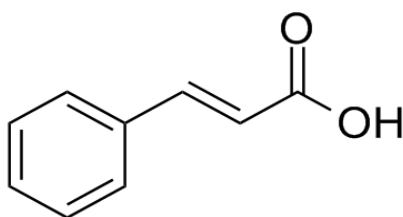


Figura 1.4 Estructura molecular del ácido cinámico.

De forma natural, se obtiene del aceite de la canela o de la manteca de karité (árbol de África). También se puede producir por síntesis, mediante la unión de cinamaldehído y cloruro de benzal o anhídrido acético y benzaldehído (reacción de Perkin) o benzaldehído y el ácido malónico. Asimismo, el ácido cinámico es un intermediario central en la biosíntesis de innumerables productos naturales como flavonoides, cumarinas, catequinas y fenilpropanoides.

1.5.2 Ácido ferúlico

El ácido ferúlico, también llamado ácido 3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-2-propenoico, es un fitoquímico fenólico perteneciente al grupo de los ácidos hidroxicinámicos, que junto al p-cumárico son los más abundantes en la pared celular vegetal destacando en brotes de bambú y salvado de cereales, en especial trigo y maíz (Naresh & Vikas, 2014). Se biosintetiza a partir del ácido cafeico por la acción de la enzima cafeico-O-metiltransferasa.

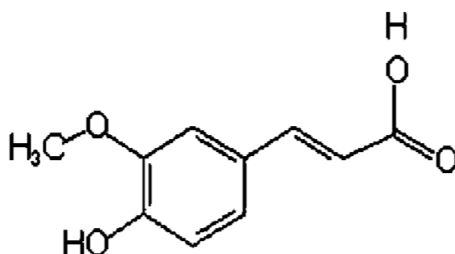


Figura 1.5 Estructura molecular del ácido ferúlico.

Su función en las plantas es otorgar resistencia microbiana y dar rigidez (Gelinas & Mckinnon, 2006). Generalmente, se encuentra enlazado covalentemente a polisacáridos mediante enlaces éster, aunque también puede entrecruzarse con proteínas (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH).

Su fórmula molecular es $C_{10}H_{10}O_4$, es un polvo cristalino de color blanco y tiene una masa molecular de 194,186 g/mol (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH). Su punto de fusión se encuentra a 168-171°C, siendo soluble en agua (0,78 g/L a 298 K). Su pKa es 4,61 a 298,2 K (Mota et al., 2008).

2. OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo es la incorporación de ácido ferúlico y ácido cinámico (compuestos activos) en películas biodegradables de almidón de yuca para evaluar su influencia en las propiedades funcionales de las mismas como material de envase.

Para alcanzar el objetivo general, se establecieron los siguientes objetivos específicos:

- Obtención de películas de almidón de yuca con glicerol como plastificante y con ácido cinámico o ferúlico a diferentes concentraciones, mediante mezclado en fundido y moldeo por compresión.
- Caracterización de las películas en cuanto a sus propiedades mecánicas, barrera al oxígeno y al vapor de agua, ópticas y comportamiento térmico.
- Comparación de estas propiedades con las de las películas de almidón sin la adición de compuestos activos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

Para la obtención de las películas biodegradables se utilizó almidón de yuca producido por Asia CO. LDT (Kalasin, Tailandia) y comprado a Quimidroga S.A (Barcelona, España), además de glicerol como agente plastificante (Panreac Química SLU, Barcelona, España) y ácidos cinámico y ferúlico (Sigma-Aldrich, Madrid, España) como sustancias naturales de carácter antimicrobiano.

Para el acondicionamiento de las películas obtenidas se utilizó cloruro de magnesio ($MgCl_2$), nitrato de magnesio ($Mg(NO_3)_2$) y pentóxido de fósforo (P_2O_5) suministrados por Panreac Química SLU (Barcelona, España). Se usó metanol absoluto (Panreac Química SLU, Barcelona, España) para la extracción de los activos de las películas y la determinación espectrofotométrica de sus concentraciones.

3.2 Preparación de las películas

Se mezclaron los componentes de las películas según las proporciones indicadas en la Tabla 3.1, y las mezclas se procesaron en un mezclador interno (Haake PolyLab QC, Thermo Fisher Scientific, Alemania) a 130 °C y 50 rpm durante 10 minutos, tras haber precalentado la cámara y los rodillos. Se registraron las curvas de torque (Nm) respecto al tiempo.

Tabla 3.1 Nomenclatura y composición de las formulaciones (S: almidón, F: ácido ferúlico, C: ácido cinámico).

NOMENCLATURA FORMULACIONES	COMPOSICIÓN (% P/P)			
	Almidón	Glicerol	F	C
S	76,92	23,08	-	-
S-1F	77,18	22,84	1	-
S-2F	77,38	22,62	2	-
S-1C	77,18	22,84	-	1
S-2C	77,38	22,32	-	2

Una vez obtenidos los pellets, se almacenaron en condiciones de humedad relativa controlada: S al 53% (con nitrato de magnesio) y el resto al 33% (con cloruro de magnesio). La humedad relativa estándar de acondicionamiento es 53% a 25°C, pero las formulaciones con ácidos se almacenaron a 33% puesto que la excesiva humedad daba lugar a pegajosidad.

Finalmente, se realizó el prensado por compresión en una prensa hidráulica (Labtech engineering, Tailandia, modelo LP20). Para ello, se depositaron 4 g de muestra en las láminas de acero, teniendo un molde de teflón entre la muestra y el acero con las dimensiones de la película deseada (15 cm de diámetro). Se precalentó la muestra a 160 °C durante 1 minuto, se realizó una primera compresión a 160 °C y 50 bares durante 2 min y una segunda compresión a la misma temperatura y 100 bares durante 6 minutos. Después, se llevó a cabo un ciclo de enfriamiento de 3 minutos hasta 70 °C aproximadamente. Las películas obtenidas se almacenaron a humedad relativa controlada (33%) en un desecador con cloruro de magnesio.

3.3 Caracterización de las películas

3.3.1 Espesor

El grosor se midió en seis posiciones aleatorias en dos películas de cada formulación, obteniendo así 12 valores de espesor por formulación. Se utilizó para ello un micrómetro digital electrónico (Palmer, Comecta S.A, Barcelona, España, ± 0.001 mm).

3.3.2 Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas se determinaron mediante un texturómetro universal (TA.XT. plus model, Stable Micro Systems, Haslemere, Inglaterra) según el método estándar ASTM D882-09. Se cortaron diez rectángulos (2,5 x 10 cm) de cada formulación y se acondicionaron al 33% de HR y 25 °C. Antes de cada medición, se determinó el espesor de cada muestra en seis puntos (micrómetro Palmer, Comecta, Barcelona). Las muestras se colocaron en las pinzas de ensayo (modelo A/TG, Stable Micro System, Haslemere, Inglaterra), con una distancia inicial de 50 mm, y se sometieron a extensión a una velocidad de elongación de 20 mm/seg hasta su rotura. De este modo, se obtuvieron las respectivas curvas de fuerza-distancia, que después se transformaron a curvas de tensión (σ)-deformación de Henky (ϵ_H), con el fin de cuantificar el módulo de elasticidad de Young (EM), la tensión de fractura (TS) y el porcentaje de elongación en el punto de rotura (%E).

3.3.3 Propiedades barrera al vapor de agua

La permeabilidad al vapor de agua de las películas se evaluó de acuerdo con una modificación del método gravimétrico ASTM E96-E96 (2005) mediante el uso de copas de permeabilidad (Payne, elcometer SPRL, Hermelle/SD Argenteau, Bélgica) de 3.5 cm de diámetro.

Se recortaron tres muestras por formulación de forma circular, sin defectos visibles, se acondicionaron al 53% de humedad y se midió su espesor en 6 puntos diferentes por muestra. Cada película se depositó sobre una copa con 5 ml de agua destilada para conseguir una humedad relativa en el interior del 100% y se fijó con una tapa circular. Se pesó la masa de cada montaje y se introdujeron en desecadores con humedad relativa controlada del 53%. Estos desecadores se almacenaron en una cámara a 25 °C. Se cuantificó la masa de las copas con una balanza analítica (± 0.00001 g) en intervalos de hora y media durante 25 horas.

Una vez acabado el ensayo, mediante los datos de pérdida de peso de la copa se obtuvo la tasa de transmisión del vapor de agua (WVTR) y a partir de esta la permeabilidad al vapor de agua (WVP).

$$WVTR = \frac{J}{A} \quad (\text{Ec. 1})$$

$$WVP = \frac{WVTR \times L}{P_{w1} - P_{w2}} \quad (\text{Ec. 2})$$

donde:

J: pendiente de la gráfica de pérdida de peso representada frente al tiempo (g/h)

A: área de la película (m²)

P_{w1}: presión parcial de vapor de agua por debajo de la película (Pa)

P_{w2}: presión parcial de vapor de agua por encima de la película (Pa)

L: grosor de la muestra de la película (m)

3.3.4 Propiedades barrera al oxígeno

Previamente al ensayo, se acondicionaron 2 muestras de cada formulación al 53% de humedad y se midió su espesor con ayuda de un micrómetro en 5 puntos diferentes. La permeabilidad de las películas al oxígeno se determinó según el método estándar ASTM F1927-07 con el equipo OX-TRAN (modelo 1/50, Mocon, Mineapolis, USA). El área de exposición de cada muestra al flujo de O₂/N₂ durante la prueba fue de 50 cm².

El equipo realizó mediciones de la tasa de transmisión de oxígeno en intervalos de 10 minutos hasta que se alcanzó el equilibrio. Posteriormente, se transformó esta propiedad intensiva a permeabilidad al oxígeno mediante los datos de espesor de las películas y presión de oxígeno en el interior del equipo.

$$OP = \frac{TR \times T}{PO_2} \quad (\text{Ec. 3})$$

donde:

OP: Permeabilidad al oxígeno (cm³ mm/m² atm día)

TR: Tasa de transmisión de oxígeno (cm³/m² día)

T: espesor (mm)

PO₂: Presión oxígeno (atm)

3.3.5 Solubilidad en agua

Se tomaron tres muestras por formulación (aproximadamente 100mg cada muestra) y se desecaron con P₂O₅ para eliminar toda la humedad. Cada muestra se introdujo en un vial con 10mL de agua bidestilada y se mantuvo en agitación durante 24 horas (250 rpm).

Finalizado este periodo, se filtró el contenido de cada vial con filtros previamente pesados que se introdujeron en estufa a vacío a 60 °C hasta alcanzar peso constante. Se cuantificó la fracción insoluble de cada película por diferencia de peso y se determinó el porcentaje de solubilidad respecto a la masa de película inicial.

$$F.I = m_{ff} - m_{fo} \quad (\text{Ec. 4})$$

$$\% \text{ Solubilidad} = \frac{m_o - F.I}{m_o} \times 100 \quad (\text{Ec. 5})$$

donde:

F.I: Fracción insoluble

m_{ff}: masa filtro final (g)

m_{fo}: masa filtro inicial (g)

m_o: masa inicial película (g)

3.3.6. Recuperación de compuesto activo

La cuantificación de compuesto activo presente en las películas se realizó a través de un método espectrofotométrico. La ley de Lambert-Beer (ecuación 6) establece que en disoluciones diluidas existe una relación proporcional entre la concentración y la absorbancia de la disolución.

$$A = \varepsilon \times c \times l \quad (\text{Ec. 6})$$

donde:

A: Absorbancia

ε : coeficiente de extinción molar característico de cada compuesto y longitud de onda (L/mol cm)

c: concentración de la sustancia en análisis (mol/L)

l: longitud de camino óptico o distancia que recorre la luz (cm)

Una vez determinado el espectro de absorción de los compuestos activos y seleccionadas las longitudes de onda con absorbancia máxima (320 nm para ácido ferúlico y 270 nm para ácido cinámico), se obtuvieron las rectas patrón para ambos compuestos a partir de sus disoluciones de concentración conocida en metanol y midiendo su absorbancia en un espectrofotómetro UV/VIS (Thermo Scientific Evolution 201, EEUU).

Para cuantificar los activos en las películas, se tomaron 3 muestras por formulación (aproximadamente 100 mg) previamente desecadas con pentóxido de fósforo. Cada muestra se introdujo en un vial con 10 ml de metanol, y se mantuvo en agitación durante 48 h a temperatura ambiente. Tras esta etapa, se filtró y se midió la absorbancia para determinar la concentración de activo (ppm) en el disolvente.

El resultado se expresó en gramos de activo liberado por cada 100 gramos de activo inicialmente incorporado en la formulación (ecuación 7).

$$\% \text{ Recuperación compuesto activo} = \frac{m_{\text{activo liberado}}}{m_{\text{muestra}} \times X_{\text{activo}_0}} \times 100 \quad (\text{Ec. 7})$$

donde:

$m_{\text{activo liberado}}$ - Masa del activo en el disolvente (g)

m_{muestra} - Masa de la muestra de película (g)

X_{activo_0} - Fracción másica inicial (g activo/g película)

3.3.7 Propiedades ópticas: color y transmitancia interna.

Este ensayo se basa en la teoría de Kubelka–Munk de la dispersión múltiple, la cual expone que una parte de la luz que atraviesa las películas es absorbida, mientras que la otra parte es parcialmente dispersada.

Las propiedades ópticas de cada formulación se obtuvieron por duplicado mediante un espectro colorímetro Konica Minolta modelo CM-5 (380-780 nm).

Se midieron los espectros de reflexión de las películas sobre fondo negro (R_0) y blanco (R) y también el propio espectro de reflexión del fondo blanco utilizado (R_g). A partir de estos datos se calculó el carácter translúcido de las muestras, parámetro relacionado con la transmitancia interna (T_i) y también R_∞ , reflectancia de una película de grosor infinito, suficiente para que el efecto del fondo fuera nulo (ecuaciones 8-11).

Por otro lado, se determinaron las coordenadas de color del espacio CIE- $L^*a^*b^*$ a partir de los espectros de R_∞ de las muestras, utilizando como referencia un observador 10º y un iluminante D65, donde L^* es la luminosidad ($L^*=0$ negro, $L^*=100$ blanco), a^* es la coordenada entre el rojo (+) y el verde (-), y b^* entre el amarillo (+) y el azul (-).

A partir de las coordenadas a^* y b^* se calcularon el tono (h_{ab}^*) y el croma (C_{ab}^*) utilizando las ecuaciones 12 y 13 (Marqués, 2010).

$$a = R + \left(\frac{R_0 - R + R_g}{R_0 \times R_g} \right) \quad (\text{Ec. 8})$$

$$b = \sqrt{a^2 - 1} \quad (\text{Ec. 9})$$

$$R_\infty = a - b \quad (\text{Ec. 10})$$

$$T_i = \sqrt{(a + R_0)^2 - b^2} \quad (\text{Ec. 11})$$

$$h_{ab}^* = \arctan \left[\frac{a^*}{b^*} \right] \quad (\text{Ec. 12})$$

$$C_{ab}^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (\text{Ec. 13})$$

3.3.8 Comportamiento térmico: DSC y TGA

Para analizar las transiciones de fase en las matrices de los polímeros se utilizó un calorímetro diferencial de barrido (DSC 1 Star^e System, Mettler-Toledo, Suiza). Las muestras (máximo 10mg) se acondicionaron en desecadores con pentóxido de fósforo y se colocaron en crisoles de aluminio, que se sellaron para comenzar los ensayos. Se realizó un primer barrido de calentamiento desde 25°C hasta 200°C a 10 °C/min donde se elimina la humedad ligada de la muestra, tras lo cual se mantuvo temperatura constante durante 5 min. Seguidamente, se llevó a cabo un enfriamiento desde 200 °C hasta -10 °C a 50 °C/min. Se mantuvo la temperatura a -10°C durante 5 min y se realizó un segundo calentamiento desde -10 °C hasta 200 °C a 10 °C/min. Para finalizar, se realizó un enfriamiento desde 200 °C hasta 25 °C a 50 °C/min. Se realizaron dos repeticiones de cada formulación.

Se analizó el proceso de descomposición térmica de los materiales mediante ensayos de análisis termogravimétrico (TGA 1 Star^e System, Mettler-Toledo, Suiza). Esta técnica consiste en medir la variación de masa de una muestra sometida a un calentamiento gradual en una atmósfera específica, representándola frente al tiempo o a la temperatura. Las muestras (máximo 3mg) se acondicionaron en desecadores con pentóxido de fósforo. Se depositaron en crisoles ligeramente perforados y se sometieron a un barrido de temperatura de 25 a 600°C, con una velocidad de calentamiento de 10 °C/min. Se analizaron dos muestras de cada formulación. En cada ensayo se obtuvo la correspondiente curva de masa en función de la temperatura, como resultado de la pérdida de componentes volátiles, la descomposición del polímero y la combustión, obteniendo los residuos finales (cenizas). A partir de estas curvas se obtuvieron las curvas derivadas (DTG) en función de la T, y los correspondientes valores de T_{onset} (temperatura a la que comienza la degradación térmica del polímero) y T_{máx} (temperatura de máxima velocidad de degradación).

3.4 Análisis estadístico

El análisis estadístico de la varianza (ANOVA) se llevó a cabo mediante el programa Statgraphics Centurion XVII (Manugistics Corp., Rockville, MD, EE. UU), en el cual todas las propiedades estudiadas fueron evaluadas de forma individual y atendiendo las concentraciones de los diferentes ácidos fenólicos añadidos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Procesado del material

La Figura 4.1 muestra las curvas de torque obtenidas durante el procesado del material. Curvas similares se obtuvieron en estudios anteriores con almidón de yuca (Versino et al., 2015) y de patata (Móscicki et al., 2012), aún con diferentes proporciones de plastificante y empleando diferentes condiciones. Al inicio del procesado, el torque aumenta rápidamente debido a las fuertes interacciones entre las moléculas del polímero y al hinchamiento de los gránulos de almidón (Qiao et al., 2011). Después los microcristales de almidón se funden bajo la acción de la cizalla mecánica y el calor, reduciéndose así el valor del torque. Finalmente, la fusión del almidón es homogénea y se alcanza un valor de equilibrio.

La incorporación de ácidos fenólicos afectó al torque durante el procesado, obteniéndose valores más bajos con la presencia de estos aditivos. Este efecto sugiere un cierto grado de hidrólisis en el material polimérico favorecido por estos ácidos, coherentemente con la proporción incorporada, y de modo más marcado en el caso del ácido cinámico.

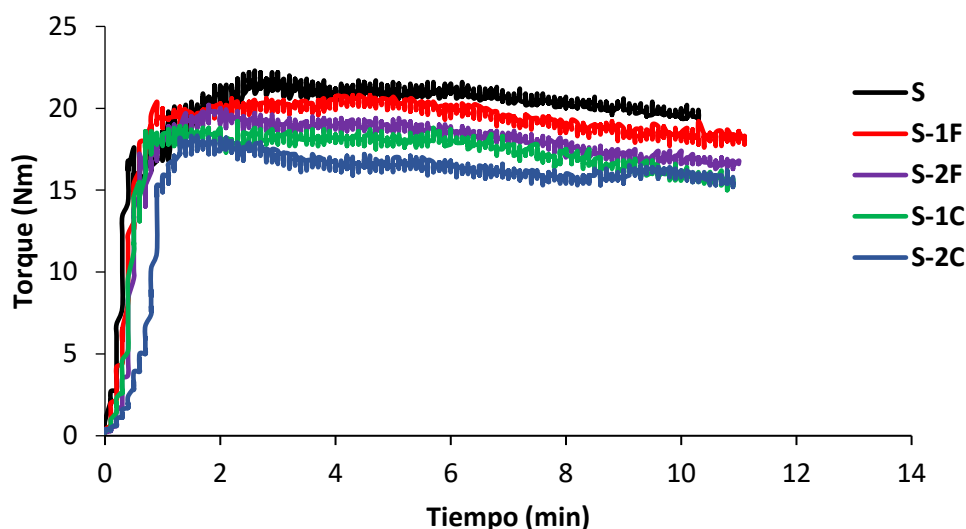


Figura 4.1 Curvas de torque en función del tiempo de procesamiento de las diferentes formulaciones.

4.2 Propiedades mecánicas

La Tabla 4.1 presenta los valores obtenidos para el espesor, el módulo de elasticidad (EM), la tensión de fractura (TS) y el porcentaje de elongación en el punto de rotura (%E) de las diferentes películas.

Las películas control (S) tuvieron un espesor y comportamiento mecánico similar al observado en estudios anteriores (Muller et al., 2017; Collazo et al., 2013; Requena et al., 2014). La incorporación de ambos ácidos fenólicos no tuvo un efecto estadísticamente significativo ($p > 0.05$) sobre el espesor de las películas, lo que indica una buena integración de los ácidos con el almidón y el plastificante. Por el contrario, sí que se observaron diferencias significativas en los parámetros mecánicos ($p < 0.05$). El módulo de elasticidad (EM) se vio notablemente reducido debido a la adición de ambos ácidos, de acuerdo con la proporción de estos en la formulación. La tensión en el punto de fractura (TS) mostró la misma tendencia que el módulo de elasticidad. Por otro lado, el porcentaje de elongación en el punto de rotura (%E) aumentó notablemente ($p < 0.05$) en coherencia con la proporción de ácidos fenólicos.

Este incremento del carácter plástico de las películas vinculado a la incorporación de los ácidos fenólicos puede ser debido a la hidrólisis parcial del almidón promovida por los mismos durante el procesado del material, reduciéndose así la longitud de las cadenas poliméricas y aumentando su movilidad molecular. Las diferencias entre formulaciones sugieren distintos grados de interacción molecular (iónica, hidrófoba, covalente e hidrógeno) entre las cadenas de polímeros y los ácidos incorporados (Choi et al., 2018).

En estudios previos (Mathew & Abraham, 2008) se observó el efecto contrario como consecuencia de la incorporación de ácido ferúlico en películas de almidón y quitosano. En ese caso, las películas se habían obtenido por casting, por lo que no se favoreció la hidrólisis del material a baja temperatura. El fenómeno de cross-linking entre las cadenas de polímero y el ácido fenólico tuvo como consecuencia un incremento de TS acompañado de una reducción de la extensibilidad. A partir de estas observaciones, se puede concluir que no sólo la combinación de materiales determina las propiedades finales de las películas, sino también el tipo de procesado empleado para la obtención de estas.

Tabla 4.1 Valores de espesor, módulo de elasticidad (EM), tensión de fractura (TS) y porcentaje de elongación en el punto de rotura (%E) de las formulaciones acondicionadas al 33 % HR. Valor promedio y desviación estándar.

Film	Espesor (μm)	EM (MPa)	TS (MPa)	E (%)
S	142 \pm 10 ^a	826 \pm 112 ^d	17 \pm 4 ^c	4 \pm 2 ^a
S-1F	137 \pm 14 ^a	723 \pm 90 ^e	17 \pm 3 ^c	6,1 \pm 1,7 ^a
S-2F	143 \pm 13 ^a	279 \pm 35 ^a	8,4 \pm 0,9 ^a	30 \pm 5 ^c
S-1C	135 \pm 12 ^a	549 \pm 105 ^c	11,1 \pm 1,7 ^b	12 \pm 5 ^b
S-2C	143 \pm 13 ^a	441 \pm 77 ^b	9,6 \pm 1,2 ^{ab}	14 \pm 3 ^b

Subíndices diferentes (^{abcde}) en la misma columna indican diferencias significativas entre formulaciones ($p < 0,05$).

El efecto de la proporción de los ácidos en el comportamiento mecánico de las películas se muestra en la Figura 4.2, donde las curvas de tracción típicas ejemplifican tanto la disminución de EM y TS como el incremento de la elongación respecto a la muestra control. La incorporación de la mayor proporción de ácido ferúlico tuvo un impacto mayor en el comportamiento mecánico del material, dando lugar a películas mucho más extensibles con mayor resistencia, lo que podría indicar un mayor grado de hidrólisis del almidón en estas condiciones. Por el contrario, las diferentes proporciones de ácido cinámico no afectaron en tanta proporción a las propiedades mecánicas de las películas.

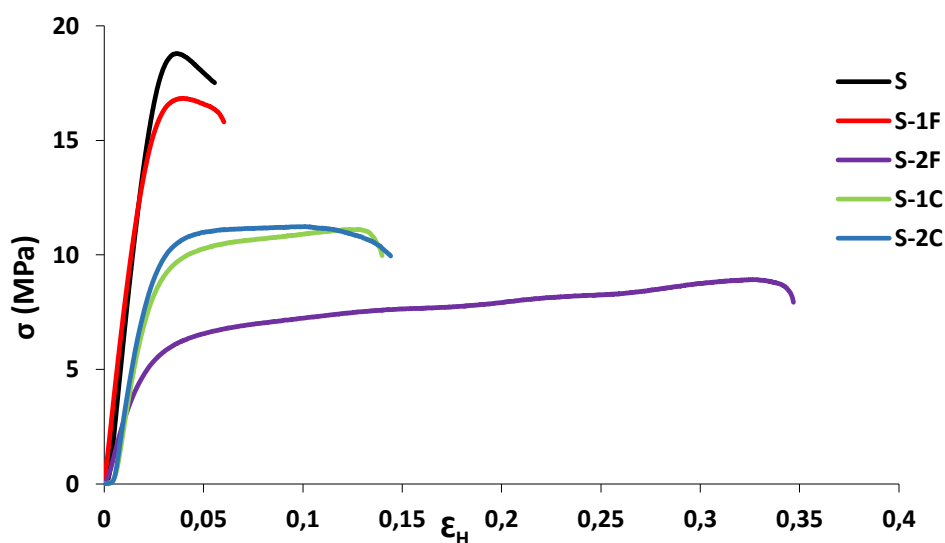


Figura 4.2 Curvas tensión (σ) -deformación de Henky (ϵ_H) de las diferentes formulaciones.

4.3 Propiedades barrera: vapor de agua y oxígeno

Las permeabilidades de las películas al vapor de agua y al oxígeno dependen de factores como la movilidad molecular de la matriz polimérica y las interacciones específicas entre los grupos funcionales de los polímeros y los gases (Milda & Kerry, 2009). En la Tabla 4.2 se muestran los valores de los parámetros permeabilidad al vapor de agua (WVP) y permeabilidad al oxígeno (OP) de las diferentes formulaciones de almidón.

Tabla 4.2 Permeabilidad al vapor de agua (WVP) y al oxígeno (OP) de las diferentes formulaciones. Valores promedio y desviación estándar.

Formulación	WVP (g·mm/kPa·h·m ²)	OP (x10 ¹⁴ ·cm ³ /m·s·Pa)
S	10,3 ± 1,9 ^{ab}	4,2 ± 0,4 ^a
S-1F	9,1 ± 1,4 ^a	5,2 ± 0,4 ^{bc}
S-2F	10,17 ± 1,07 ^{ab}	5,8 ± 0,5 ^c
S-1C	14 ± 2 ^c	4,7 ± 0,1 ^{ab}
S-2C	12,7 ± 1,5 ^{bc}	4,629 ± 0,001 ^{ab}

Subíndices diferentes (^{abc}) en la misma columna indican diferencias significativas entre formulaciones ($p < 0,05$).

La muestra control S mostró valores de WVP similares a estudios previos (Muller et al., 2017). La incorporación de ambos ácidos tuvo como resultado tendencias opuestas en los valores de WVP. Mientras que la adición de ácido ferúlico apunta a una leve mejora de las propiedades barrera ($p > 0,05$), el ácido cinámico tuvo el efecto contrario.

En estudios previos (Mathew & Abraham, 2008) se encontró una cierta mejora de las propiedades barrera al vapor de agua debida a la adición de ácido ferúlico en películas de almidón y quitosano obtenidas por casting. Este efecto se atribuyó al entrecruzamiento consecuencia de la formación de quinonas y radicales libres que tienden a promover la unión ácido-polímero (Oudgenoeg et al., 2001). En el presente trabajo, no solamente el fenómeno de entrecruzado, sino también la hidrólisis del material acontecida durante el procesado podría determinar las propiedades de las películas resultantes. En el caso concreto de las películas con ácido cinámico, el ligero incremento de WVP observado podría ser consecuencia de un mayor grado de hidrólisis en el procesado, como indican las curvas de torque.

En general, las películas de polisacáridos presentaron buenas propiedades barrera frente al oxígeno, debido a su estructura de alto empaquetamiento con baja solubilidad del gas. La capacidad de limitar la transferencia de gases es de gran importancia para la conservación de alimentos (Mathew & Abraham, 2008).

El valor de OP de las películas S determinado en el presente estudio fue similar al obtenido en estudios previos con almidón de guisante (Talón et al., 2017). La adición de ácido ferúlico tuvo un efecto negativo sobre las propiedades barrera al oxígeno de las películas, provocando un aumento estadísticamente significativo ($p < 0,05$). De nuevo, este resultado contradice al reportado por (Mathew & Abraham, 2008) para películas obtenidas por casting, donde se observó una mejora en la barrera al oxígeno al aumentar la proporción de ácido ferúlico en las películas de almidón y quitosano, debido al efecto de entrecruzamiento promovido por este aditivo. En el presente estudio, ese posible efecto parece enmascarse por la hidrólisis del polímero, de modo que el método de obtención de las películas y las modificaciones químicas acontecidas durante el procesado determinan las características finales de las películas.

Por el contrario, el ácido cinámico no tuvo un efecto significativo sobre este parámetro, y aunque no supuso una mejora en las propiedades barrera al oxígeno de las películas de almidón, se mantuvo esta característica.

Como conclusión de este apartado, se observa que las propiedades barrera que presentan las películas se ven influenciadas tanto por el entrecruzamiento como por la hidrólisis de las cadenas poliméricas con los diferentes agentes fenólicos, dónde la hidrólisis parece tener el mayor efecto.

4.4 Solubilidad en agua y recuperación del compuesto activo

La Tabla 4.3 muestra los porcentajes de solubilidad en agua y recuperación del compuesto activo de las películas en metanol, donde puede observarse que el ácido incorporado determinó el comportamiento de ambos parámetros.

Tabla 4.3 Solubilidad en agua (g / 100g película inicial) y recuperación del compuesto activo (g/100 g de activo inicial) de las películas. Valor promedio y desviación estándar.

Formulación	Solubilidad en agua (%)	Recuperación de compuesto activo (%)
S	85,7 ± 1,2 ^d	-
S-1F	73 ± 3 ^c	61 ± 3 ^a
S-2F	71 ± 5 ^{bc}	59,1 ± 1,4 ^a
S-1C	61,3 ± 1,4 ^a	90 ± 3 ^b
S-2C	67 ± 2 ^b	97 ± 4 ^c

Subíndices diferentes (abcd) en la misma columna indican diferencias significativas entre formulaciones ($p < 0.05$).

La solubilidad de las películas de S fue relativamente alta, de acuerdo con su naturaleza hidrofílica (Cano et al., 2015). La incorporación de los ácidos supuso un descenso de esta propiedad, probablemente debido a cierto grado de entrecruzamiento entre el polímero y el ácido, de manera más relevante en el caso del ácido cinámico. Un mayor grado de hidrólisis podría conllevar también mayor reactividad de entrecruzado con las moléculas más pequeñas con mayor movilidad y reactividad.

Por otro lado, en las películas con ácido cinámico el porcentaje de recuperación superó el 90% (muy superior al valor de las películas con ácido ferúlico), por lo que se puede deducir que prácticamente no hubo retención del ácido en la matriz por entrecruzado. Por su parte, el porcentaje de recuperación del ácido ferúlico fue comparativamente muy reducida, lo que probablemente es debido a la degradación del ácido en el mezclador PolyLab. Las elevadas temperaturas afectan a la estabilidad de los compuestos fenólicos debido a su sensibilidad frente a reacciones de degradación química y enzimática, pérdidas por volatilización o descomposición térmica. Según Pacheco (2015), a temperaturas superiores a 135°C puede tener lugar cierto grado de degradación del ácido ferúlico.

4.5 Propiedades ópticas

El aspecto general de las películas obtenidas fue homogéneo y transparente, excepto la formulación S-2C que presentó un tono blanquecino con mayor opacidad como se puede apreciar en la Figura 4.3.

La Tabla 4.4 presenta los valores obtenidos para las coordenadas de color de las películas: L^* , a^* , b^* , croma y tono. Los resultados correspondientes a la película control (S) son similares a los obtenidos en estudios previos (Gómez et al., 2018). Ambos ácidos tuvieron efectos sutiles sobre la coloración de las películas. Las formulaciones con ácido ferúlico mostraron un ligero incremento en tono y croma, obteniéndose películas más amarillentas y saturadas en color. Por otro lado, la adición de ácido cinámico en la mayor proporción dio como resultado películas de mayor luminosidad y menor tono (se obtuvieron películas más claras de tonalidad más rojiza).

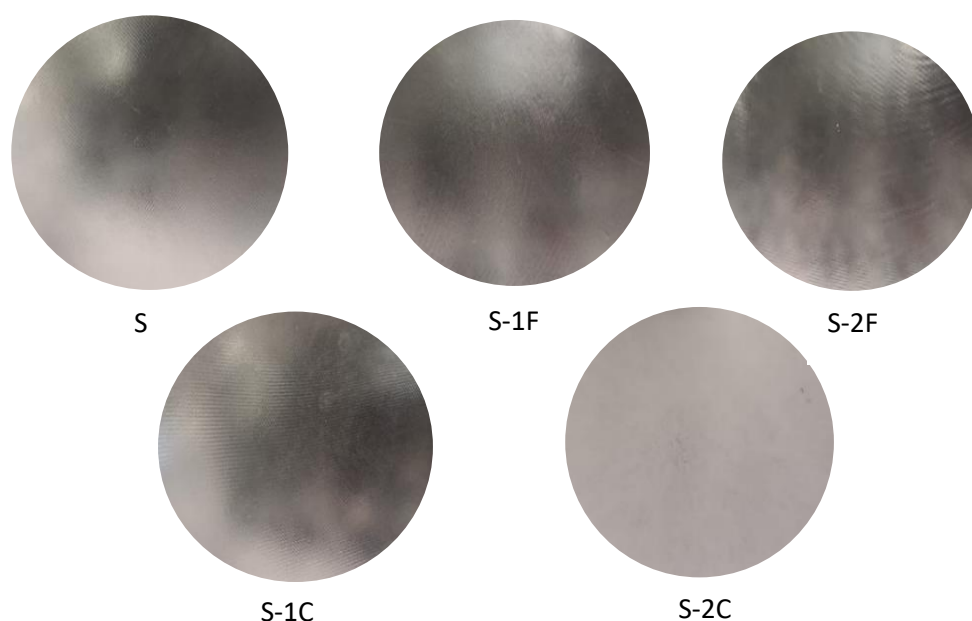


Figura 4.3 Aspecto visual de las películas.

Tabla 4.4 Valores de los parámetros ópticos (L^* , a^* , b^* , tono y croma). Valores promedio y desviación estándar.

Film	L^*	a^*	b^*	h_{ab}^*	C_{ab}^*
S	$76,4 \pm 0,7^a$	$2,6 \pm 0,4^a$	$11,2 \pm 0,7^b$	$76,8 \pm 1,2^c$	$11,5 \pm 0,8^b$
S-1F	$77,5 \pm 0,7^b$	$2,83 \pm 0,14^{ab}$	$11,9 \pm 0,5^c$	$76,7 \pm 0,5^c$	$12,3 \pm 0,5^c$
S-2F	$76,9 \pm 1,3^{ab}$	$3,01 \pm 0,10^{bc}$	$16,1 \pm 0,7^d$	$79,4 \pm 0,3^d$	$16,4 \pm 0,7^d$
S-1C	$77,0 \pm 0,7^{ab}$	$3,15 \pm 0,06^c$	$11,55 \pm 0,09^{bc}$	$74,7 \pm 0,2^b$	$12,0 \pm 0,6^{bc}$
S-2C	$79,9 \pm 0,8^c$	$3,13 \pm 0,12^c$	$9,6 \pm 0,3^a$	$72,0 \pm 0,2^a$	$10,1 \pm 0,3^a$

Subíndices diferentes (^{abcde}) en la misma columna indican diferencias significativas entre formulaciones ($p < 0,05$).

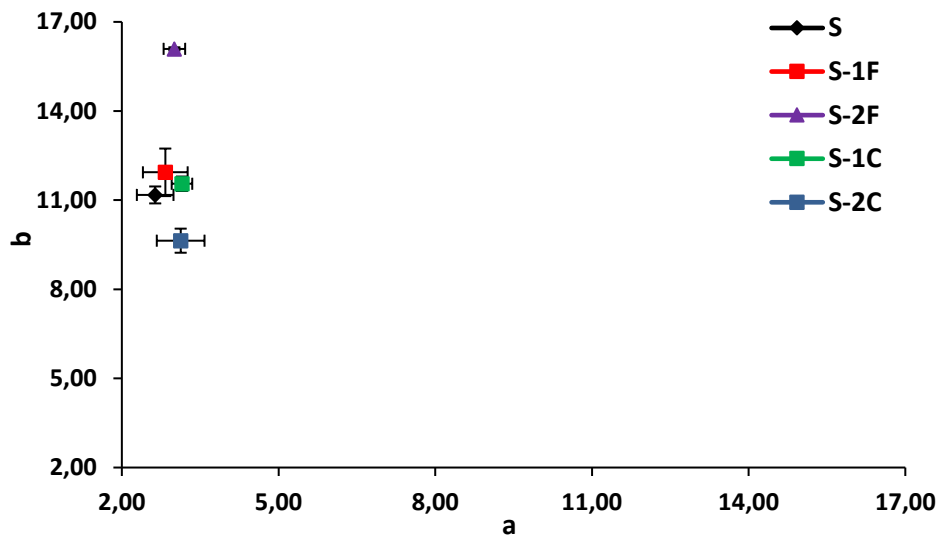


Figura 4.4 Proyección en el plano cromático de las diferentes formulaciones.

En la Figura 4.5 se han representado los espectros de transmitancia interna (T_i) de las distintas formulaciones, en el intervalo de luz visible (400-700 nm). El valor obtenido, tanto inicial como final, se encuentra en el rango de estudios previos realizados como Muller et al. (2017) y Peinado et al. (2015).

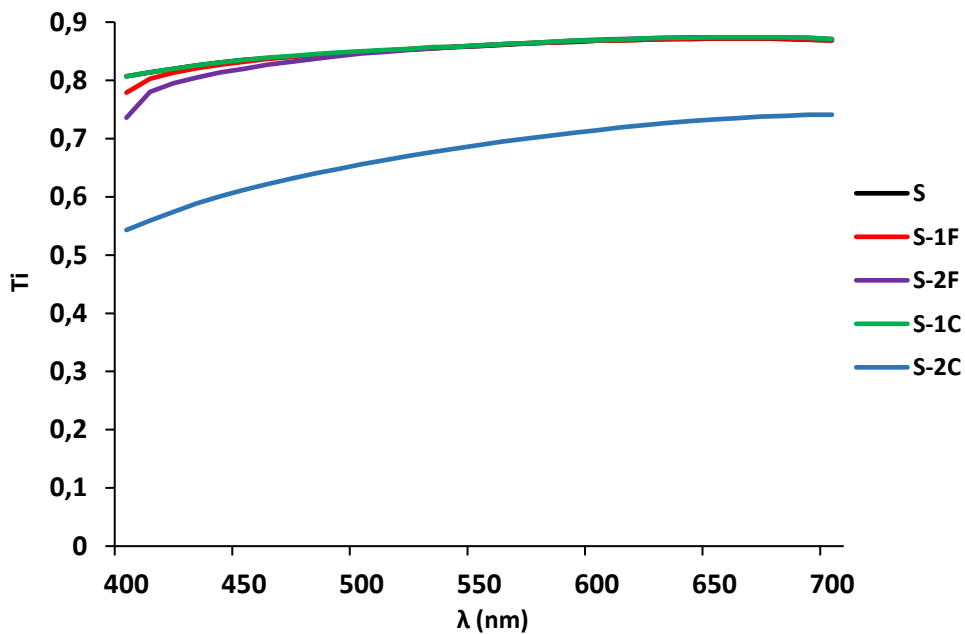


Figura 4.5 Espectros de transmitancia interna (T_i) entre 400 y 700 nm para las diferentes formulaciones.

Se observa que la adición de compuestos activos al 1% no supuso cambios significativos en la transmitancia de las formulaciones. Por otro lado, al incrementarse la proporción de ácidos fenólicos se observó una reducción de T_i a menores longitudes de onda. Coherentemente con su aspecto visual, la formulación S-2C es la que presenta menores valores de T_i para todo el intervalo de longitudes de onda.

4.6 Propiedades térmicas

Los estudios de estabilidad térmica de los materiales basados en almidón son de interés tanto desde una perspectiva científica como industrial (Liu et al., 2013). Conocer el patrón de descomposición del material sometido a calentamiento es altamente recomendable para la optimización de procesos (Mano et al., 2003). Con este fin, el análisis termogravimétrico (TGA) ha sido una herramienta ampliamente utilizada.

La Figura 4.6 muestra los termogramas correspondientes al primer barrido de calentamiento del ensayo de DSC. La Tabla 4.5 presenta los resultados de la temperatura de transición vítrea obtenidas en las dos etapas de calentamiento (T_{g1} y T_{g2}). Coherentemente con estudios anteriores (Cano et al., 2015) las películas no mostraron picos de cristalización ni de fusión, y la transición vítrea fue el único evento observado. Este comportamiento térmico indica que durante el procesado se logró la destrucción de los dominios cristalinos en los gránulos de almidón.

El termograma correspondiente a la formulación S reveló temperaturas de transición vítrea en torno a 90-100°C, similares a las habitualmente reportadas para almidón con termoprocesamiento (Ortega-Toro et al., 2014; Collazo et al., 2013) y bastante inferiores a las obtenidas para películas obtenidas por casting, en torno a 160°C (Cano et al., 2015). Este descenso es probablemente debido a la hidrólisis del polímero acontecida durante el procesamiento en seco.

Se observó una reducción significativa de la T_g debida a la presencia de ácido ferúlico, de manera mucho más marcada en las formulaciones con la mayor proporción incorporada. Este efecto es probablemente debido al mayor grado de hidrólisis al que se ve sometido el polímero a medida que la proporción de ácidos fenólicos aumenta en la formulación.

En el caso de las formulaciones con ácido cinámico, se observaron dos eventos de transición vítrea en el primer barrido de calentamiento, probablemente debido a una separación de fases en el seno de las películas de almidón con cinámico: una primera fase presenta una T_g elevada debido al fenómeno de entrecruzamiento entre la matriz polimérica y el ácido; una segunda fase presenta menores valores de T_g como consecuencia de la hidrólisis del polímero durante el procesado. A diferencia de las formulaciones con ácido ferúlico, en aquellas con ácido cinámico no se pudieron detectar transiciones de fase en el segundo barrido de calentamiento.

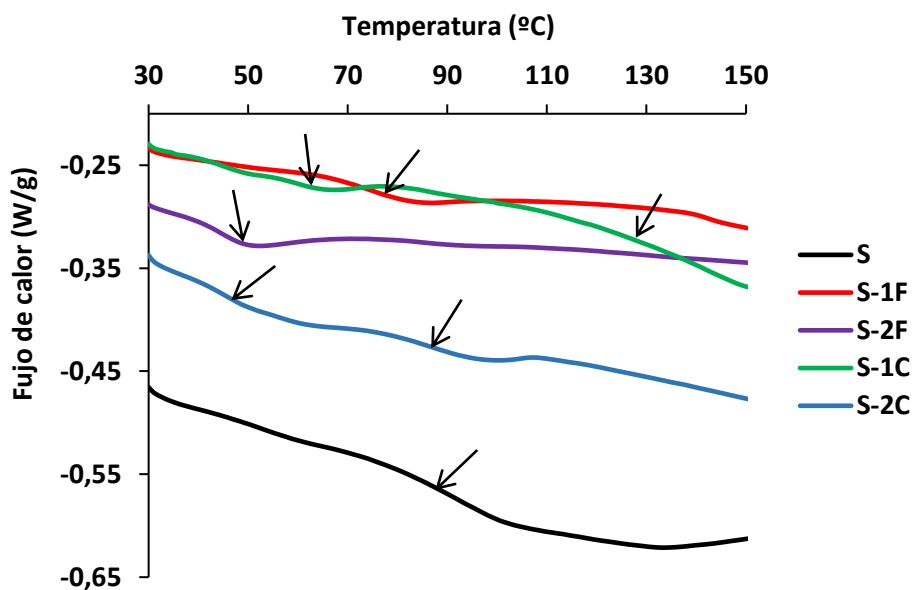


Figura 4.6 Curvas DSC de las películas del primer barrido de calentamiento.

La Tabla 4.5 muestra las temperaturas de degradación térmica (T_{onset} y T_{max}) obtenidas por TGA para las diferentes películas, donde se pueden observar pequeñas diferencias entre las formulaciones. Los resultados de T_{onset} oscilan entre 247 y 258 °C, y T_{max} entre 280 y 286 °C. La muestra control (S) presenta una T_{max} bastante similar a la reportada en estudios anteriores con termoprocesado (Muller et al., 2017), pero significativamente inferior a la obtenida para películas obtenidas por casting (Cano et al., 2015), posiblemente debido a la hidrólisis del almidón durante el procesamiento que reduce el peso molecular del polímero y, en consecuencia, su resistencia. Los valores de T_{onset} se desplazaron ligeramente en todas las formulaciones con ácidos, lo que indica, por otro lado, un pequeño efecto protector de los ácidos incorporados.

Tabla 4.5 Temperaturas de transición vítrea en el primer (T_{g1}) y segundo barrido (T_{g2}) y temperatura de inicio y del pico de la degradación térmica de las películas. Valor promedio y desviación estándar.

Film	T_{g1} (°C)	T_{g2} (°C)	T_{onset} (°C)	$T_{máx}$ (°C)
S	92,3 ± 0,9 ^d	98 ± 11 ^a	247,2 ± 1,4 ^a	282,25 ± 1,06 ^{ab}
S-1F	79,1 ± 0,4 ^c	74,74 ± 1,07 ^a	258 ± 2 ^c	286,50 ± 0,95 ^b
S-2F	47,85 ± 0,04 ^a	56 ± 2 ^a	251,94 ± 0,98 ^{ab}	285 ± 2 ^{ab}
S-1C	63 ± 2 ^b 130,82 ± 0,15 ^e	-	253 ± 3 ^b	281 ± 4 ^a
S-2C	46,89 ± 2,04 ^a 89,9 ± 1,7 ^d	-	254,70 ± 0,07 ^{bc}	283,7 ± 1,7 ^{ab}

Subíndices diferentes (^{abcd}) en la misma columna indican diferencias significativas entre formulaciones ($p < 0,05$).

La Figura 4.7 muestra el porcentaje de pérdida de peso (TG) y su derivada (DTG) en función de la temperatura para las diferentes muestras. El proceso de degradación comienza aproximadamente a los 150 °C y podría ser atribuido a la pérdida de glicerol como se indica en estudios previos (Mano et al., 2013). La mayor pérdida de peso ocurrió a unos 280 °C, y es atribuible a la degradación de las cadenas de almidón. En esta fase, se forman enlaces éter y estructuras insaturadas a partir de la condensación térmica de los grupos hidroxilo de las cadenas de almidón, eliminando así agua y moléculas de pequeño tamaño molecular (Ruseckaite & Jiménez, 2003).

En las películas con ácido cinámico, se observó un patrón diferente de comportamiento de las curvas DTG (Figura 4.7 b). En estos casos se apreció un hombro en el pico de degradación térmica, lo cual puede ser debido a la formación de una fracción hidrolizada de oligómeros de bajo peso molecular que se degradan a menor temperatura.

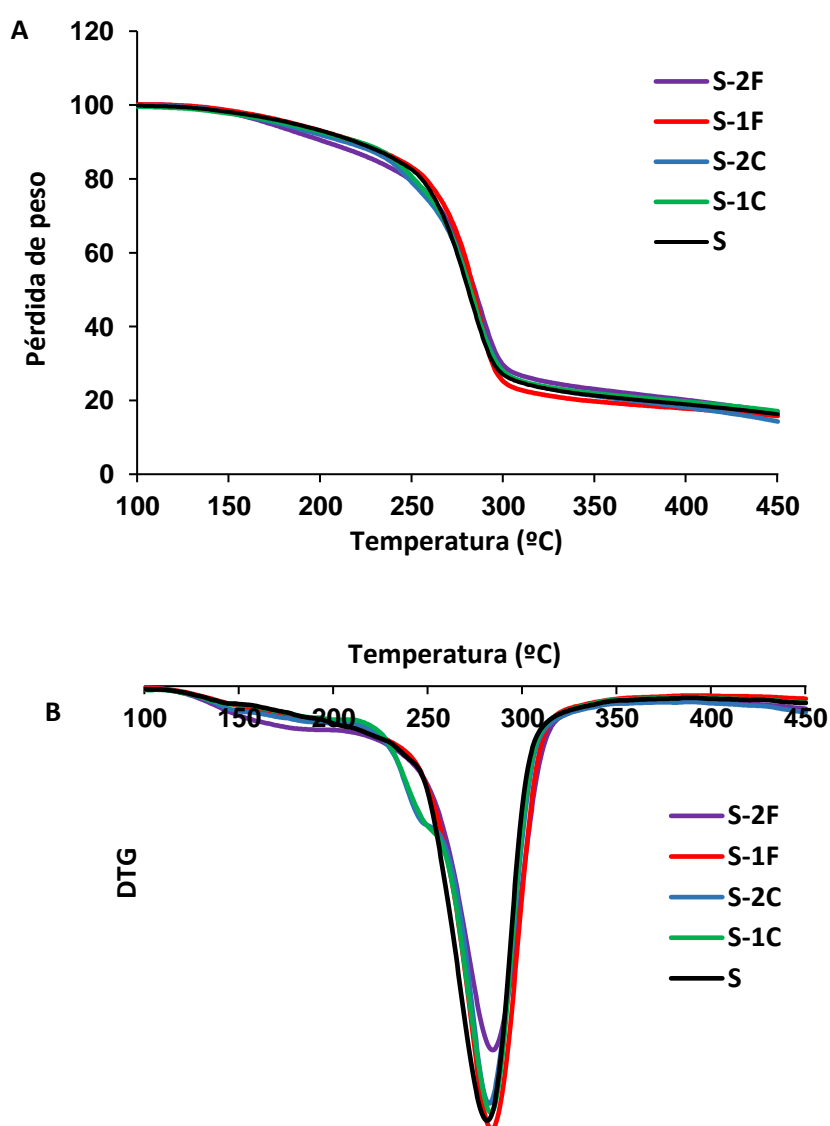


Figura 4.7 Análisis termogravimétrico. Curvas de pérdida de peso, TG (A) y curvas DTG (B) de las películas desde 100 hasta 450 °C.

5. CONCLUSIONES

En este trabajo se han elaborado películas de almidón de yuca y glicerol por mezclado en fundido y moldeo por compresión, con incorporación de ácido cinámico y ácido ferúlico en diferentes proporciones. La hidrólisis del polímero durante el proceso de elaboración, potenciada por la presencia de los ácidos fenólicos, afectó a las propiedades de las películas. La incorporación de los ácidos supuso una reducción de la rigidez y un aumento de la extensibilidad del material, especialmente con el 2 % de ácido ferúlico. Tanto el entrecruzamiento como la hidrólisis tuvieron efecto sobre las propiedades barrera de las películas. La presencia de los ácidos tuvo efectos sutiles sobre el color de las películas, y aquellas con la mayor proporción de ácido cinámico fueron más opacas que el resto, indicando la presencia de dos fracciones de material parcialmente miscibles. Al incorporar los ácidos, se observó una reducción de la solubilidad en agua en las películas, como consecuencia del entrecruzado del polímero. La recuperación del compuesto activo en metanol fue superior en el caso del ácido cinámico, probablemente debido a pérdidas mayores de ácido ferúlico durante el procesado del material. En las películas con ácido cinámico, el análisis térmico reveló separación de fases asociada al entrecruzado e hidrólisis del material, con valores diferentes en su temperatura de transición vítrea. Estas mismas películas tuvieron un patrón particular en su degradación térmica, probablemente debido a la formación de una fracción de oligómeros de bajo peso molecular que se degradan a menor temperatura. Por todo lo anterior, la integración de estos compuestos fenólicos en películas de almidón se presenta como una alternativa interesante en la mejora de las propiedades funcionales de los materiales de envase alimentario. Sin embargo, en el caso del ácido cinámico y en aquellas ocasiones que se requiera un carácter incoloro del material plástico, su uso en elevadas proporciones se vería limitado. Como propuesta de investigación futura, estos ácidos se podrían utilizar en el diseño de materiales multicapa, como ingrediente de una capa intermedia de almidón, entre capas de poliésteres biodegradables de alta barrera al vapor de agua que mitigarían la elevada higroscopicidad del almidón. Esta capa actuaría cediendo los compuestos activos al sistema alimentario, y además aportaría una elevada barrera al oxígeno al material.

6. BIBLIOGRAFÍA

- ACOSTA, S.; JIMÉNEZ, A.; CHÁFER, M.; GONZÁLEZ, C. & CHIRALT, A. (2015). *Physical properties and stability of starch-gelatin based films as affected by the addition of esters of fatty acids*. Food Hydrocolloids, 49, 135-143.
- AITIIP CENTRO TECNOLÓGICO (2009). Zaragoza (España). Visto el 1 de mayo de 2019. <https://www.aitiip.com/noticias/envases-activos-e-inteligentes.html>
- ALI ASHTER, S. (2016). *Introduction to Bioplastics Engineering*. Editorial Elsevier.
- ALKAN, D. & YEMENICIOGLU, A. (2016). *Potencial application of natural phenolic antimicrobials and edible film technology against bacterial plant pathogens*. Food Hydrocolloids, 55, 1-10.
- ALVIRA, M.I. (2007). *Los plásticos como residuos Antecedentes y Problemática Ambiental*. Boletín Ambiental IDEA, Universidad Nacional de Colombia.
- ASTM (2005). *Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials*. Designation: E 96/E 96M – 05.
- ASTM (2007). *Standard Test Method for Determination of Oxygen Gas Transmission Rate, Permeability and Permeance at Controlled Relative Humidity Through Barrier Materials Using a Coulometric Detector*. Designation: F1927 – 07.
- ASTM (2009). *Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting*. Designation: D882 – 09.
- AVEROUS, L. & BOQUILLON, N. (2004). *Biocomposites based on plasticized starch: thermal and mechanical behavior*. Carbohydrate Polymers, 63, 61-71.
- AVEROUS, L. & POLLET, E. (2012). *Environmental silicate nanobiocomposites*. Green energy and technology. Editorial Springer-Verlag. London,13-39.
- BERGO, P.; SOBRAL, P.J.A. & PRISON, J.M. (2010). *Effect of glycerol on physical properties of cassava starch films*. Journal of Food Processing and Preservation, 34, 401–410.
- CANO, A.I.; CHÁFER, M.; CHIRALT, A. & GONZÁLEZ, C. (2015a). *Physical and Antimicrobial Properties of Starch-PVA Blend Films as Affected by the Incorporation of Natural Antimicrobial Agents*. Institute of Food Engineering for the Development, Polytechnic University of Valencia.
- CANO, A.I.; FORTUNATI, E.; CHÁFER, M.; KENNY, J.M.; CHIRALT, A. & GONZÁLEZ, C. (2015b). *Properties and ageing behaviour of pea starch films as affected by blend with poly(Vinyl Alcohol)*. Food Hydrocolloids, 48, 84-93.
- CHOI, I.; EUN LEEA, S.; CHANGB, Y.; LACROIXC, M. & HANA, J. (2018). *Effect of oxidized phenolic compounds on cross-linking and properties of biodegradable active packaging film composed of turmeric and gelatin*, 93, 427–433.
- COLLAZO, S.; ORTEGA, R.; TALENS, P. & CHIRALT, A. (2013). *Films biodegradables a base de almidón de maíz y policaprolactona: efecto del ácido cítrico como agente de entrecruzamiento*.
- CUEVA, C.; MORENO-ARRIBAS, M. V.; MARTIN-ALVAREZ, P. J.; BILLS, G.; VICENTE, M. F. & BASILIO, A. (2010). *Antimicrobial activity of phenolic acids against commensal, probiotic and pathogenic bacteria*. Research in Microbiology, 161, 372–382.

- FERREIRA, A. R.; ALVES, V. D. & COELHO, I. M. (2016). *Polysaccharide-Based Membranes in Food Packaging Applications*, 6, 22.
- GELINAS, P. & MCKINNON, C. M. (2006). *Effect of wheat variety, farming site, and bread-baking on total phenolics*. *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 329–332.
- GILL, A. O. & HOLLEY, R. A. (2006). *Inhibition of membrane bound ATPases of Escherichia coli and Listeria monocytogenes by plant oil aromatics*. *International Journal of Food Microbiology*, 111, 170–174.
- GÓMEZ, M.; CHIRALT, A. & ALINA TAMPAU (2017). *Encapsulación de Carvacrol en nanofibras de PCL y su aplicación en materiales para envasado activo de alimentos*.
- LIU, X.; WANG, Y.; YU, L.; TONG, Z.; CHEN, L.; LIU, H. & LI, X. (2013). *Thermal Degradation and Stability of Starch under Different Processing Conditions*, 65, 48–60.
- LU, D.R.; XIAO, C.M. & XU, S.J. (2009). Starch-based completely biodegradable polymer materials. *Editorial Express Polymer Letters*. Volumen 3, Nº 6, 366-375.
- MANO, J.F.; KONIAROVA, D. & REIS, R.L. (2003). *Thermal properties of thermoplastic starch/synthetic polymer blends with potential biomedical applicability*. *Journals of materials science materials in medicine*, 14, 127-135.
- MARQUÉS, A. (2010). *Estudio de la reproducción del color en rotuladores profesionales usados en diseño gráfico*. Universidad Pública de Navarra (Pamplona).
- MARSH, K. & BUGUSU, B. (2007). *Food Packaging-Roles, Materials and Environmental Issues*. *Journal of Food Science*, 72, 39-55.
- MATHEW, S. & ABRAHAM, T.E. (2008). Characterisation of ferulic acid incorporated starch–chitosan blend films. *Food Hydrocolloids*, 22, 826–835.
- MILDA, E. EMBUSCADO & KERRY, C. HUBER (2009). *Edible Films and Coatings for Food Applications*. Chapter 6, 169-211.
- MORENO, S.; SCHEYER, T.; ROMANO, C.S. & VOJNOV, A.A. (2006). *Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition*. *Free Radical Research*, 40, 223–231.
- MÓSCICKI, L.; MITRUS MARCIN WÓJTOWICZ, A.; ONISZCZUK, T.; REJAK, A. & JANSSEN, L. (2012). *Application of extrusion-cooking for processing of thermoplastic starch (TPS)*. *Food Research International*, 47, 291–299.
- MOTA, F.L.; QUEIMADA, A. J.; PINHO, S. P. & MACEDO, E. A. (2008). *Aqueous Solubility of Some Natural Phenolic Compounds*. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 47, 5182–5189.
- MULLER, J.; GONZALEZ, C. & CHIRALT, A. (2017). *Active films for food packaging based on poly (lactic) acid and starch*. *European Polymer Journal*.
- NARESH, K. & VIKAS, P. (2014). *Potential applications of ferulic acid from natural sources*. *Biotechnology Reports*, 4, 86-93.
- NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH). National centre for biotechnology information. PubChem. Visto el 15 de abril de 2019.
- NIAOUNAKIS, M. (2013). *Biopolymers reuse, recycling and disposal*. Introduction to biopolymers. Editorial William Andree Publications. Boston.

- NIRBAN, L. & UPENDRA, K. (2019). *Plastics and microplastics: A threat to environment*. Environmental Technology & Innovation, 14.
- ORTEGA-TORO, R.; JIMÉNEZ, A.; TALENS, P. & CHIRALT, A. (2014). *Films de almidón termoplástico. influencia de la incorporación de hidroxipropil-metil-celulosa y ácido cítrico*. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, vol 12, Nº 2, 134-141.
- OU, S.; WANG, Y.; TANG, S.; HUANG, C. & G. JACKSON, M. (2005). Role of ferulic acid in preparing edible films from soy protein isolate. Journal of Food Engineering, 70, 205–210.
- OUDGENOEG, G.; HILHORST, R.; PIERSMA S. R.; BOERIU, C.; GRUPPEN, H.; HESSING, M; VORAGEN, A.G.J. & LAANE, C. (2001). *Peroxidase-mediated cross-linking of a tyrosine-containing peptide with ferulic acid*. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 49, 2503-2510.
- PACHECO, M. I. (2015). *Obtención de ácido ferúlico a partir de un concentrado de la hidrólisis alcalina del maíz*. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD).
- PARRA, D.F.; TADINI, C.C.; PONCE, P. & LUGÃO, A.B. (2004). *Mechanical properties and water vapor transmission in some blends of cassava starch edible films*. Carbohydrate Polymers, 58, 475-481.
- PATZKE, H. & SCHIEBER, A. (2018). *Growth-inhibitory activity of phenolic compounds applied in an emulsifiable concentrate - ferulic acid as a natural pesticide against Botrytis cinerea*. Food Research International, 113, 18-23.
- PEINADO, M.; GONZÁLEZ, C.; CHÁFER, M. & CANO, A.I. (2015). *Estudio de la biodegradabilidad y desintegración de películas a base de almidón y PVA que incorporan diferentes sustancias antimicrobianas*.
- PERNIN, A.; GUILLIERC, L. & DUBOIS-BRISSONNETA, F. (2019). *Inhibitory activity of phenolic acids against Listeria monocytogenes: Deciphering the mechanisms of action using three different models*. Food Microbiology, 80, 18-24.
- PLASTICS EUROPE, Productores de Materias Plásticas, visto el 6 de abril de 2019. <https://www.plasticseurope.org/es>
- QIAO, X.; TANG, Z. & SUN, K. (2011). *Plasticization of corn starch by polyol mixtures*. Carbohydrate Polymers, 83, 659–664.
- REQUENA, R.; VARGAS, M. & CHIRALT, A. (2014). *Propiedades mecánicas de films de almidón obtenidos por moldeo por compresión. Efecto de los plastificantes*.
- RUSECKAITE, R.A. & JIMENEZ, A. (2003). *Thermal degradation of mixtures of polycaprolactone with cellulose derivates*. Polymer Degradation and Stability, vol 81, 353–358.
- SHEN, L.; HAUFE, J. & PATEL, M.K. (2009). *Product Overview and Market Projection of Emerging Bio-Based Plastics*. Utrecht University, The Netherlands.
- SIRACUSA, V.; ROCCULI, P.; ROMANI, S. & DALLA ROSA, M. (2008). *Biodegradable polymers for food packaging: a review*. Trends in Food Science & Technology, 19, 634-643.
- SUPPAKUL, P.; MILTZ, J.; SONNEVELD, K. & BIGGER, S. W. (2003). *Active packaging technologies with an emphasis on antimicrobial packaging and its applications*. Journal of food science, 68, 408-420.
- TALÓN, E.; TRIFKOVIC, K. T.; NEDOVIC, V. A.; BUGARSKI, B. M.; VARGAS, CHIRALT, A. & GONZALEZ, C. *Antioxidant edible films based on chitosan and starch containing polyphenols from thyme extracts*.

- THARANATHAN, R.N. (2003). *Biodegradable films and composite coatings: past, present and future*. Food Science & Technology, 14, 71-78.
- UNIIQUIM. Unidad de Informática del Instituto de Química, visto el 14 de abril de 2019. <https://uniiquim.iquimica.unam.mx/>
- VERSINO, F.; LÓPEZ, O. & GARCIA, M.A (2015). *Sustainable use of cassava (Manihot esculenta) roots as raw material for biocomposites development*. Industrial Crops and Products, 65, 79-89.
- VIEIRA, M.; ALTENHOFEN, M.; OLIVEIRA, L. & MASUMI, M. (2011). *Natural-based plasticizers and biopolymer films: a review*. European Polymer Journal, 47, 254-263.
- WERTZ, J.L. (2011). *Starch and PLA: two biopolymers on the market*. ValBiom Document-Gembloux Agro-Bio Tech.