

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

*Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural*



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



INSTITUTO DE INGENIERÍA DE  
ALIMENTOS PARA EL DESARROLLO

**INCORPORACIÓN DE ÁCIDOS FENÓLICOS EN  
FILMS ACTIVOS DE POLI-VINIL ALCOHOL  
OBTENIDOS POR TERMOPROCESADO  
MÁSTER EN CIENCIA E INGENIERÍA DE LOS ALIMENTOS**

**Curso 2018-2019**

**Autor:**

Miriam Durá Romero

**Tutor:**

Chelo González Martínez

**Co-tutor experimental:**

Johana Andrede Chapal

**Valencia, 30 de julio de 2019**

# INCORPORACIÓN DE ÁCIDOS FENÓLICOS EN FILMS ACTIVOS DE POLI-VINIL ALCOHOL OBTENIDOS POR TERMOPROCESADO

Miriam Durá, Chelo González-Martínez, Johana Andrade

*Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 48022, Valencia, España*

## RESUMEN

Los ácidos fenólicos presentan propiedades antioxidantes y antimicrobianas, que les confieren carácter bioactivo y potencian su inclusión en materiales de envase alimentario. Su incorporación en matrices de biopolímeros biodegradables, como el poli-vinil alcohol (PVA), permite además obtener materiales con menor impacto ambiental. En este estudio se desarrollaron películas a base de PVA (Mw 13,000-23,000; 87-89 % hidrolizado), utilizando glicerol como plastificante (10 % respecto al polímero), con la incorporación de ácido cinámico y ácido ferúlico en dos proporciones (1 y 2 % respecto al polímero). Las películas se elaboraron en dos etapas. En la primera se obtuvieron los pellets por mezclado en fundido y en la segunda, los pellets triturados y acondicionados se sometieron a termo-compresión para la obtención de las películas. Las películas acondicionadas (25 °C; 53 % de HR por una semana) se caracterizaron en su solubilidad en agua, propiedades microestructurales, mecánicas, térmicas, de barrera al vapor de agua y al oxígeno. La incorporación de los ácidos fenólicos aumentó la solubilidad en agua de las películas y mejoraron su capacidad de barrera al oxígeno, sin afectar a la temperatura de degradación del material. Por su parte, el ácido ferúlico, aumentó la permeabilidad al vapor de agua y afectó a las propiedades mecánicas del material, aumentando su extensibilidad (%E) y reduciendo su resistencia a la rotura (TS) y módulo de elasticidad (EM). Estos efectos sobre las propiedades mecánicas se observaron de forma más atenuada para el ácido cinámico cuando se encontraba al 2 %, sin que la permeabilidad al vapor de agua de las películas se viera afectada.

**PALABRAS CLAVE:** Poli(vinil) alcohol, ácido ferúlico, ácido cinámico, termo procesado, envasado para alimentos.

## RESUM

Els àcids fenòlics presenten propietats antioxidants i antimicrobianes, que els confereixen caràcter bioactiu i potencien la seua inclusió en materials d'envàs alimentari. La seua incorporació en matrius de biopolímers biodegradables, com el poli-vinil alcohol (PVA), permet a més, obtindre materials amb menor impacte ambiental. En aquest estudi es van desenvolupar pel·lícules a base de PVA (Mw 13,000-23,000; 87-89 % hidrolitzat), utilitzant glicerol com a plastificant (10 % respecte al polímer), amb la incorporació d'àcid cinàmic i àcid ferúlic en dues proporcions (1 i 2 % respecte al polímer). Les pel·lícules

es van elaborar en dues etapes. En la primera es van obtenir els pèl·lets per barrejat en fos i en la segona, els pèl·lets triturats i condicionats es van sotmetre a termo-compresió per a l'obtenció de les pel·lícules. Les pel·lícules condicionades (25 °C; 53 % de HR per una setmana) es van caracteritzar en la seua solubilitat en aigua, propietats microestructurals, mecàniques, tèrmiques, de barrera al vapor d'aigua i a l'oxigen. La incorporació dels àcids fenòlics va augmentar la solubilitat en aigua de les pel·lícules i va potenciar la seua barrera a l'oxigen, sense afectar la temperatura de degradació del material. D'altra banda, l'àcid ferúlic, va augmentar la permeabilitat al vapor d'aigua i va afectar a les propietats mecàniques del material, reduint la seua resistència a la fractura (TS) i mòdul d'elasticitat (EM) i augmentant la seua extensibilitat (%E). Aquests efectes sobre les propietats mecàniques es van observar de forma més atenuada per a l'àcid cinàmic quan es trobava al 2 %, alhora que no va influir la permeabilitat al vapor d'aigua de les pel·lícules.

PARAULES CLAU: Poli(vinil) alcohol, àcid ferúlic, àcid cinàmic, termo processat, envasat per a aliments.

## **ABSTRACT**

Phenolic acids have antioxidant and antimicrobial properties, which give them bioactive character and promote their inclusion in food packaging materials. Its incorporation in biodegradable biopolymer matrices, such as polyvinyl alcohol (PVA), also allows materials with less environmental impact to be obtained. In this study, films based on PVA (Mw 13,000-23,000; 87-89 % hydrolysed) were developed, using glycerol as a plasticizer (10 % with respect to the polymer), with the incorporation of cinnamic acid and ferulic acid in two proportions (1 and 2 % with respect to the polymer). The films were made in two stages: first, the pellets were obtained by melt blending and second, the crushed and conditioned pellets were subjected to thermo-compressing to obtain the films. The conditioned films (25 °C; 53 % RH per one week) were characterized in terms of water solubility, microstructural, mechanical, thermal and water vapour and oxygen barrier properties. The incorporation of phenolic acids increased the water solubility of the films and improved their oxygen barrier capacity, without affecting the material degradation temperature. On the other hand, ferulic acid, increased water vapour permeability and affected the mechanical properties of the material, reducing its resistance to break (TS) and elastic modulus (EM) and increasing its extensibility (% E). These effects on the mechanical properties were more attenuated when using 2% cinnamic acid, while the water vapour permeability of the films was not affected.

KEYWORDS: Poly(vinyl) alcohol, ferulic acid, cinnamic acid, thermo processing, food packaging.

## INTRODUCCIÓN

El almacenamiento y la conservación que asegura mantener la calidad y alargar la vida útil de los alimentos es tan importante como la producción de los mismos. Para ello, generalmente se utilizan envases elaborados a base de materiales plásticos debido a su gran disponibilidad, bajo coste y buenas propiedades tanto mecánicas como de barrera (González y Alvarez Igarzabal, 2013). Sin embargo, en los últimos tiempos, ha aumentado la preocupación colectiva acerca de la acumulación de plásticos, muchos de ellos procedentes de envases alimentarios. Mayoritariamente, estos acaban depositándose en mares y océanos, provocando que los microplásticos sean ingeridos por peces marinos y pudiendo así, ser una amenaza para la salud pública a través de la cadena alimentaria (Hossain et al., 2019). Además, al problema de la acumulación de residuos, se suma que dichos envases suelen fabricarse a base de materiales no biodegradables (González y Alvarez Igarzabal, 2013), aumentando todavía más la incidencia sobre el medio ambiente.

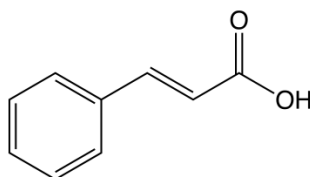
A fin de lidiar con esta problemática, actualmente se están utilizando materiales a base de polímeros biodegradables y desarrollando numerosas tecnologías como son los envases activos, que interactúan con el producto por la incorporación de componentes con propiedades antimicrobianas o antioxidantes (Fang et al., 2017). De esta forma, se busca reducir el impacto ambiental asegurando además la calidad del producto.

El Poli(vinil) alcohol (PVA), es un polímero sintético totalmente biodegradable obtenido a partir de la hidrólisis controlada del polivinil acetato (PVAc) (Thong et al., 2016). Se trata de un polímero con potencial para ser utilizado en el campo alimentario por ser transparente, no tóxico, inodoro, soluble en agua y presentar buenas propiedades mecánicas tales como flexibilidad, resistencia a la tracción y capacidad de barrera al oxígeno. Además, sus características moleculares favorecen la compatibilidad con algunos compuestos activos (Cano et al., 2015).

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios producidos por las plantas que les proporcionan protección contra patógenos. Están constituidos por al menos un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilo, dando lugar a diferentes formas químicas según su estructura (Yábar et al., 2019). Los ácidos fenólicos (AF) presentan propiedades antibacterianas, antioxidantes, antivíricas, antiinflamatorias y vasodilatadoras (Zhang et al., 2019). Además, cuando están en contacto con los alimentos, contribuyen a su estabilidad oxidativa, olor, color y sabor. Los AF, se dividen en ácidos hidroxibenzoicos y ácidos hidroxicinámicos. Este último grupo posee una mayor actividad antioxidante debido a la presencia de más grupos hidroxilo y una mayor separación del grupo carboxilo al anillo aromático (Peñarrieta et al., 2014).

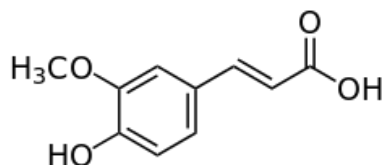
Entre los ácidos hidroxicinámicos se encuentran tanto el ácido cinámico como el ácido ferúlico. El ácido cinámico es un compuesto fenólico simple llamado fenilpropanoide por contener un anillo de benceno (C6) y una cadena lateral de tres carbonos (C3) (García y Carril, 2011). Se trata de un sólido

blanco cristalino y ligeramente soluble en agua que se puede obtener del aceite de canela, de bálsamos como el storax o de la manteca de karité, además de poder obtenerse también por síntesis (Molinero Merino, 2012).



**Figura 1.** Estructura del ácido cinámico

Por otro lado, el ácido ferúlico, es un derivado fenólico fitoquímico del ácido cinámico, presente en hojas y semillas, tanto en su forma libre como unido covalentemente a los componentes (polisacáridos) de la pared celular de la planta. Es un ácido que, además de poseer un alto efecto antioxidante, antimicrobiano, antivírico y antiinflamatorio, tiene aplicaciones en la conservación de alimentos como agente de reticulación y como aditivo alimentario ya que inhibe la peroxidación lipídica (Kumar y Pruthi, 2014). Debido a sus ventajosas propiedades, actualmente es uno de los compuestos fenólicos más investigados por sus aplicaciones tanto en alimentos como en la industria farmacéutica y de cosméticos (Bucci, Santos, y Zaritzky, 2019).



**Figura 2.** Estructura del ácido ferúlico

Con todo lo expuesto, el objetivo del presente estudio fue analizar el efecto de la incorporación de los ácidos fenólicos, ácido cinámico y ácido ferúlico, en películas de PVA mediante mezclado en fundido y moldeo por compresión a fin de obtener films activos para el envasado de alimentos. Las películas obtenidas se caracterizaron a nivel microestructural, comportamiento térmico y propiedades mecánicas y de barrera al vapor de agua y al oxígeno, para seleccionar la mejor formulación en base a sus propiedades funcionales como material de envase.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materiales

Para la obtención de las películas se utilizaron los siguientes materiales: PVA (Mw:13000-23000, grado de hidrólisis: 87-89 %) como matriz polimérica, ácido cinámico (C) y ácido ferúlico (F) como compuestos activos, glicerol como plastificante; todos suministrados por Sigma (Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Alemania). Metanol absoluto (grado UV/HPLC) utilizado para el

proceso de cuantificación de los ácidos fenólicos retenidos y pentóxido de fósforo (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) y nitrato de magnesio (Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) para el acondicionamiento de los films, fueron abastecidos por Panreac (Panreac Química S.L.U., Castellar del Vallès (Barcelona), España).

### Preparación de los films

Las películas se elaboraron mediante dos etapas. En la primera se obtuvieron los pellets por mezclado en fundido, utilizando un mezclador interno (HAAKE™ PolyLab™ QC, Thermo Fisher Scientific, Germany) a 160 °C, 50 rpm, por 5 min. Los pellets triturados y acondicionados (25 °C y 53 % de humedad relativa (HR) durante una semana) se sometieron a termo-compresión usando una prensa hidráulica (Modelo LP20, Labtech Engineering, Thailand). El proceso consistió en un precalentamiento a 160 °C, durante 3 min, seguido por compresión a 160 °C y 100 bares, durante 3 min y, finalmente, un ciclo de enfriamiento de 2 min, hasta 80 °C. Las películas fueron acondicionadas a 25 °C y 53 % de HR por una 1 semana antes de su caracterización. La **Tabla 1.** muestra las formulaciones y las respectivas fracciones másicas de los componentes.

### Caracterización de las películas

#### CUANTIFICACIÓN DE LA RETENCIÓN DE ÁCIDOS FENÓLICOS

Los ácidos fenólicos (AF) retenidos en las películas secas de diferentes formulaciones se determinaron por extracción total de los AF y su posterior cuantificación mediante espectrofotometría. La extracción se llevó a cabo a partir de muestras de película de 1 cm<sup>2</sup> de área sumergidas en 10 mL de metanol absoluto de grado UV, en viales ámbar, y bajo agitación a 300 rpm y 25 °C durante 48 h. Todas las formulaciones se analizaron por triplicado. Se extrajeron alícuotas de cada muestra y se midió la absorbancia ( $x$ ) a 270 nm para el ácido cinámico y 320 nm para el ácido ferúlico, utilizando un espectrofotómetro (Evolution 201 UV-Vis, Thermo Fisher Scientific). Las concentraciones de AF en las películas se determinaron utilizando curvas de calibración obtenidas a partir de diluciones metanólicas con concentraciones entre 2 y 10 µg/ml para cada ácido, obteniéndose las siguientes ecuaciones:

$$\text{ácido cinámico: } y = 0.1372X + 0.02, R^2 = 0.992;$$

$$\text{ácido ferúlico: } y = 0.0852X + 0.0049, R^2 = 0.995$$

Como blancos se utilizaron los extractos metanólicos de la matriz polimérica correspondiente sin AF. La retención de AF en las películas se determinó en base al cociente entre la masa de AF extraída ( $AF_r$ ) con respecto a la masa de AF inicialmente incorporada  $AF_i$ , ecuación 1.

$$\text{Retención AF} = \frac{AF_r}{AF_i} \times 100 \quad (1)$$

## SOLUBILIDAD EN AGUA

Para el ensayo de solubilidad las películas se acondicionaron durante una semana en desecadores con 0 % de HR, utilizando  $P_2O_5$ . Piezas de 2 x 2 cm de cada formulación se depositaron en una malla de peso conocido, la malla se colocó en un crisol que contenía 10 mL de agua destilada y se mantuvo durante 1 día a 25 °C. Transcurrido el tiempo, las mallas conteniendo la fracción de las películas que no se solubilizaron en el agua se retiraron del crisol y se introdujeron en una estufa de vacío a 60 °C durante 48 horas. Posteriormente, se transfirieron a un desecador con  $P_2O_5$  hasta alcanzar peso constante. El ensayo se realizó por triplicado y los resultados fueron expresados como porcentaje de sólidos disueltos respecto a la masa inicial (100 x masa de film solubilizado/masa film inicial).

## MICROESTRUCTURA

La microestructura de las películas en su sección transversal se observó utilizando un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (FESEM) (ZEISS®, modelo ULTRA 55, Alemania). Las muestras fueron previamente acondicionadas en desecadores con pentóxido de fósforo ( $P_2O_5$ ). Posteriormente, se criofracturaron tras inmersión en nitrógeno líquido y su espesor se midió con un micrómetro electrónico digital (Palmer, COMECTA, Barcelona, España). Finalmente, se recubrieron con platino con el fin de aumentar su conductividad eléctrica y se observaron con una tensión de aceleración de 2 kV.

## PROPIEDADES MECÁNICAS

Las propiedades mecánicas de los films se evaluaron mediante el método ASTM estándar D882 (ASTM, 2001), utilizando una máquina de ensayo universal (Stable Micro Systems, TA.XT plus, Haslemere, Inglaterra) con pinzas integradas para ensayos de tensión (modelo A/TG, Stable Micro System, Haslemere, Inglaterra). 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. Cada una de las muestras se posicionó individualmente en las pinzas del equipo que se encontraban con una separación inicial de 50 mm. La velocidad de elongación fue de 50 mm·min<sup>-1</sup>. Con este procedimiento, se obtuvieron curvas de fuerza frente a distancia, que fueron convertidas a curvas de tensión ( $\sigma$ ) frente a deformación de Henky ( $\epsilon_H$ ) y a partir de las cuales, se obtuvieron los parámetros: tensión de fractura (TS, en MPa), elongación (%E) y el módulo de elasticidad o módulo de Young (ME, en MPa).

## PROPIEDADES BARRERA

La permeabilidad al vapor de agua (WVP) se midió utilizando una modificación del método gravimétrico E96/E95M-05 (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 durante 24 horas. Cada formulación 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 del gradiente de concentración establecido en el espacio de cabeza de la copa (ecuación 2).

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

Dónde: P = presión total (atm); D = difusividad del agua en aire a 25 °C (m<sup>2</sup>/s); R = constante de los gases (82.057 · 10<sup>-3</sup> m<sup>3</sup> · atm · kmol<sup>-1</sup> · K<sup>-1</sup>); T = temperatura (K);  $\Delta z$  = 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 ( $p_3$ ).

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

La permeabilidad al oxígeno (PO) de las películas se analizó mediante el método estándar ASTM F1927-07 (ASTM,) utilizando un equipo de medida de la transmisión de oxígeno (OX-TRAN, Oxtran System, Mocon, Mineapolis, USA). Para ello, se prepararon muestras de cada formulación de 50 cm<sup>2</sup> de superficie expuesta, manteniendo condiciones de temperatura de 23 °C y 53 % de HR. Cada formulación se analizó por triplicado.



## ANÁLISIS TÉRMICO

El comportamiento de degradación térmica y las transiciones de fase de las películas se caracterizaron mediante análisis termogravimétrico (TGA/SDTA 851e, Mettler Toledo, Schwarzenbach, Suiza) y por calorimetría diferencial de barrido (DSC StareSystem, Mettler-Toledo, Inc., Suiza), respectivamente. La técnica del TGA se basa en el cambio de peso que experimenta una muestra en función del calentamiento que se le aplica y del tiempo. Para ello, la muestra pesada (5 mg) en un crisol de alúmina se sometió a un calentamiento de 25 °C a 700 °C a 10 °C/min bajo una corriente de nitrógeno de 10 mL/min. Por su parte, las curvas de DSC se obtuvieron por barrido múltiple. Las muestras (10 mg) se colocaron en un crisol de aluminio sellado, utilizando un crisol vacío como referencia, y se sometieron a diferentes etapas de calentamiento-enfriamiento. En primer lugar, se calentaron de -25 °C a 250 °C a 10 °C/min y se mantuvieron durante 2 min a 250 °C. Posteriormente se enfriaron a -25 °C, manteniendo esa temperatura durante 2 minutos. Finalmente, el segundo calentamiento se realizó de -25 °C a 250 °C a 10 °C/min. En todos los casos las mediciones se realizaron por triplicado.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza simple (ANOVA), empleando Statgraphics Centurion XVI. El procedimiento que se siguió fue el de diferencia menos significativa (LSD) de Fisher con un nivel de confianza del 95 %.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### RETENCIÓN DE LOS ÁCIDOS FENÓLICOS

La retención de los AF en la matriz polimérica se evaluó mediante la determinación espectrofotométrica de la concentración de los ácidos liberados desde la matriz hacia el metanol. Los resultados se muestran en la **Tabla 1**.

La retención del ácido cinámico en la matriz del PVA rondó el 80 %, mientras que los valores para el ácido ferúlico fueron notablemente más bajos; del orden del 6 %. Esta diferencia tan significativa puede asociarse a una fuerte interacción entre el ácido ferúlico y la matriz polimérica, que pudo impedir su liberación al solvente durante la extracción ya que la termosensibilidad del compuesto en otros estudios fue similar a la del ácido cinámico (Andrade et al., 2019/datos propios no publicados).

El ácido ferúlico es un ácido dihidroxílico, condición que pudo favorecer la formación de puentes de hidrogeno con diferentes cadenas de PVA, dando lugar a un entrecruzado de la matriz polimérica. Además, la presencia de grupos acetato residuales en las cadenas poliméricas del PVA promueven la

presencia de cargas negativas en la cadena, y su función como base Lewis a través del par de electrones solitarios, tal como describe (Wiśniewska et al., 2016). Por otro lado, los grupos carboxilo del ácido ferúlico forman un aducto de Lewis con las cadenas a través los protones. Esta interacción a través de los dos carboxilos podría potenciar la afinidad entre el compuesto y el polímero, impidiendo su liberación hacia el metanol durante el proceso de extracción.

**Tabla 1.** Fracción másica de los compuestos de cada formulación y grado de retención de los ácidos fenólicos en las películas obtenidas por presión-compresión.

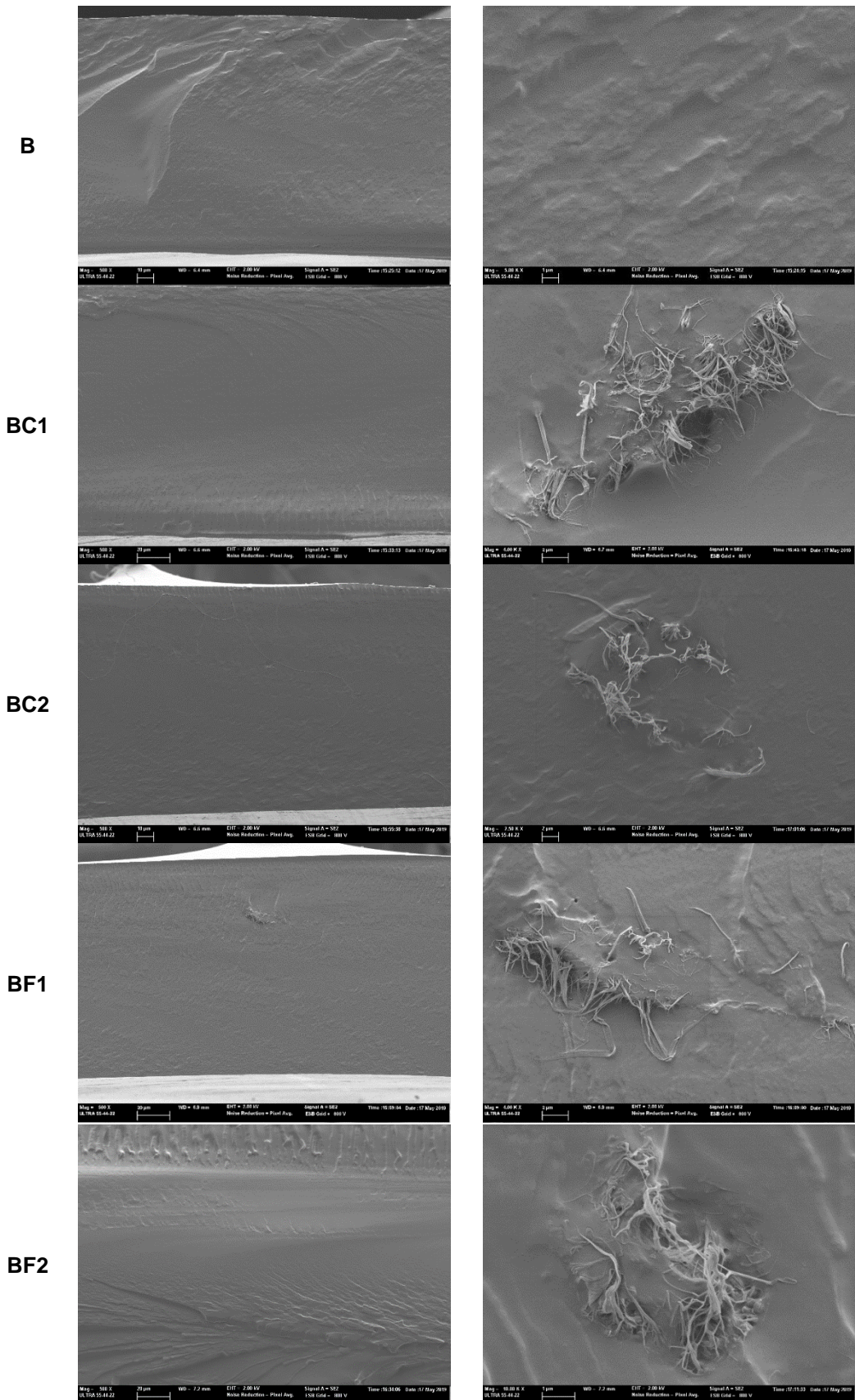
Tratamiento	X <sub>PVA</sub>	X <sub>GLI</sub>	X <sub>AF</sub>	Concentración en film (mg ácido/g inerte)	Retención (%)
B	0,91	0,09	0,00	-	-
BC1	0,90	0,09	0,01	7,6 (1,0)	84 (11) <sup>b</sup>
BC2	0,89	0,09	0,02	13,76 (0,19)	75,76 (1,04) <sup>b</sup>
BF1	0,90	0,09	0,01	0,58 (0,04)	6,3 (0,4) <sup>a</sup>
BF2	0,89	0,09	0,02	1,14 (0,04)	6,3 (0,2) <sup>a</sup>

Las diferentes letras (superíndices) indican estadísticamente diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las formulaciones.

## MICROESTRUCTURA

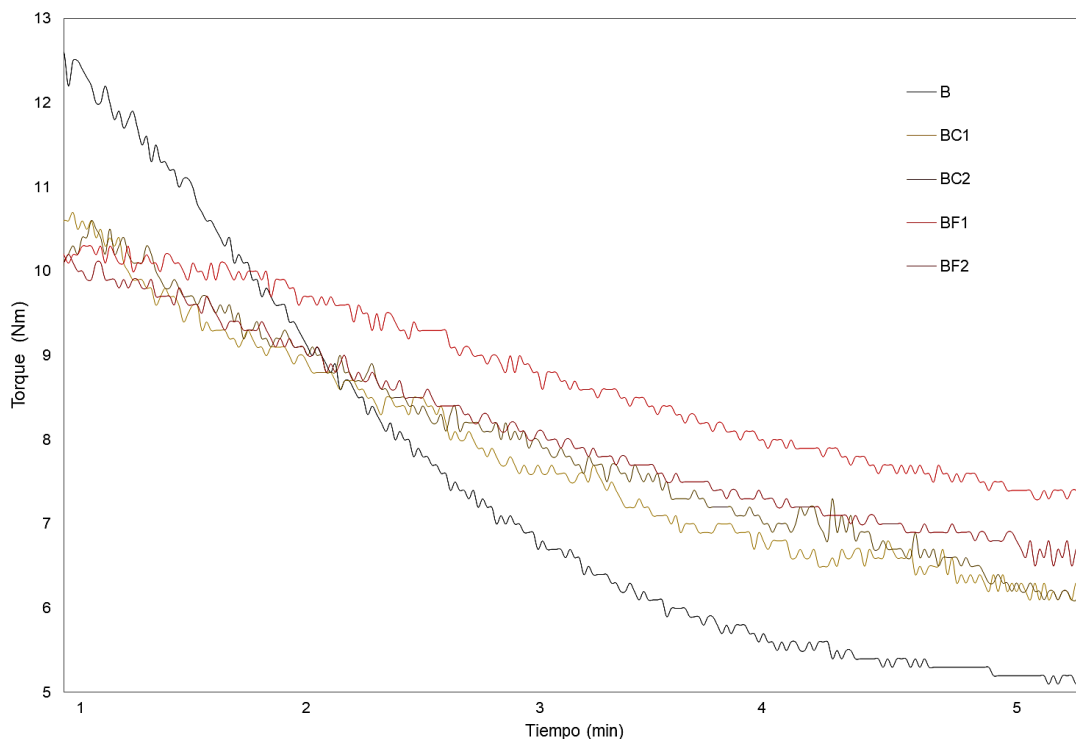
Las imágenes microestructurales reflejan el grado de homogeneidad en la distribución de componentes de la matriz del film, factor que se relaciona con las propiedades funcionales, mecánicas y de barrera de los materiales. Por lo tanto, su estudio se torna vital en el análisis de la funcionalidad de las películas desarrolladas.

La **Figura 3** presenta la sección transversal de las diferentes formulaciones. Las imágenes mostraron homogeneidad estructural interna en todos los casos, lo que refleja una buena miscibilidad de los componentes (ácidos y polímero). Sin embargo, la inclusión de los ácidos fenólicos aumentó la gomosidad del material, promoviendo la formación de filamentos en su criofractura, tal como se observa en las imágenes a mayor ampliación de las diferentes muestras con ácidos, en comparación con la matriz del polímero libre de ácidos, donde se observa una fractura vítrea o semicristalina.



**Figura 3.** Micrografías FESEM de las formulaciones a diferente amplificación, mayor a la derecha.

Este argumento, además puede sustentarse con la **Figura 4** en la que se muestran las curvas de torque obtenidas durante el proceso de mezclado en fundido para los diferentes tratamientos, que miden la resistencia al mezclado del material en estado fundido. Se observa que la inclusión de los AF generó cambios considerables en el torque, de tal modo, que su inclusión supuso una menor resistencia inicial que la del polímero libre de ácidos, pero esta resistencia se incrementó con el progreso del mezclado, como consecuencia de las reacciones ocurridas durante el mismo. El torque final fue mayor en el caso del ácido ferúlico que en el cinámico. Esto podría sugerir la formación de entrecruzado de cadenas, apuntada previamente, que aumentaría la viscosidad del fundido y su resistencia a la cizalla. Al mismo tiempo, la menor resistencia inicial con ambos ácidos podría estar asociada a una hidrólisis parcial de las cadenas de PVA por la acción de los ácidos, que reduciría su tamaño molecular promedio y su viscosidad. Por tanto, ambos fenómenos podrían darse en diferente proporción, dependiendo del ácido y su concentración, afectando a las propiedades funcionales de los films. La formación de una fracción de menor peso molecular en la matriz, como consecuencia del hidrólisis, daría lugar a una plastificación de la misma, tal como se observa en la fractura gomosa de las imágenes microestructurales.



**Figura 4.** Evolución del torque durante el mezclado en fundido de las diferentes formulaciones en el mezclador interno.

## SOLUBILIDAD EN AGUA Y PROPIEDADES DE BARRERA

La solubilidad involucra la penetración de las moléculas de agua en la matriz polimérica, seguido por la disrupción de las fuerzas de Van der Waals y puentes de hidrógeno entre las cadenas poliméricas. De acuerdo con los resultados presentados en la **Tabla 2**, la incorporación de los ácidos incrementó la solubilidad en agua de las películas, hecho que puede estar relacionado con la hidrólisis parcial de las cadenas poliméricas durante el mezclado en contacto con los AF, previamente mencionada. Las cadenas de menor peso molecular son más solubles en agua y potencian la solubilidad del film. El incremento en la solubilidad fue mayor para los films con ácido ferúlico, mientras que el cinámico sólo provocó un efecto comparable a la concentración más alta.

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 los efectos del vapor de agua u otros gases (Valencia-Sulca et al., 2016).

La barrera al oxígeno del material mejoró con la inclusión de los ácidos fenólicos, especialmente con el ácido ferúlico, como posible consecuencia de la reducción de la solubilidad de este gas en la matriz polimérica debido a cambios de polaridad en la matriz. El entrecruzado de la matriz, asociado al carácter dicarboxílico del ácido ferúlico, contribuiría también a potenciar la barrera al oxígeno al disminuir su coeficiente de difusión por incremento del factor de tortuosidad. Por su parte, la barrera al vapor de agua no se vio afectada por el ácido cinámico, aunque el ácido ferúlico redujo considerablemente la capacidad de barrera de este material. Por su carácter polar y alta afinidad con el agua, los films de PVA presentaron bajos valores de permeabilidad al oxígeno (con baja solubilidad en la matriz) y altos valores de permeabilidad al vapor de agua (con alta solubilidad en la matriz). La incorporación de los ácidos y los cambios estructurales asociados (hidrólisis y entrecruzado de cadenas en diferente proporción) modificó positivamente la permeabilidad al oxígeno, pero no la permeabilidad al vapor de agua debido a la alta solubilidad de estas moléculas en la matriz.

**Tabla 2.** Valores de solubilidad en agua y permeabilidad al vapor de agua y al oxígeno de las diferentes formulaciones acondicionadas a 53 % HR y 25 °C.

Tratamiento	Solubilidad en agua (%)	WVP (g/m.h. kPa) · 10 <sup>3</sup>	OP (cm <sup>3</sup> /m.h. kPa) · 10 <sup>8</sup>
B	68 (3) <sup>a</sup>	11,4 (0,8) <sup>a</sup>	30 (4) <sup>c</sup>
BC1	72 (3) <sup>ab</sup>	10,5 (0,3) <sup>a</sup>	23,6 (0,7) <sup>b</sup>
BC2	85 (1) <sup>c</sup>	9,1 (0,5) <sup>a</sup>	20 (2) <sup>ab</sup>
BF1	83 (7) <sup>c</sup>	102 (1) <sup>b</sup>	17 (2) <sup>a</sup>
BF2	81 (9) <sup>bc</sup>	96 (14) <sup>b</sup>	17 (2) <sup>a</sup>

Las diferentes letras (superíndices) en cada columna indican estadísticamente diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las formulaciones.

## PROPIEDADES MECÁNICAS

La inclusión de ácidos fenólicos en películas de PVA redujo ligeramente la resistencia a la fractura y la rigidez del material, incrementando significativamente su extensibilidad en el caso del ácido ferúlico al 2 %. Este comportamiento refleja la plastificación de las películas por acción de los ácidos, que podría estar asociada al efecto de la hidrólisis ácida, la cual reduce el peso molecular promedio del polímero, así como las fuerzas de cohesión entre cadenas. Este comportamiento fue más pronunciado en películas con ácido ferúlico y con ácido cinámico al 2 %.

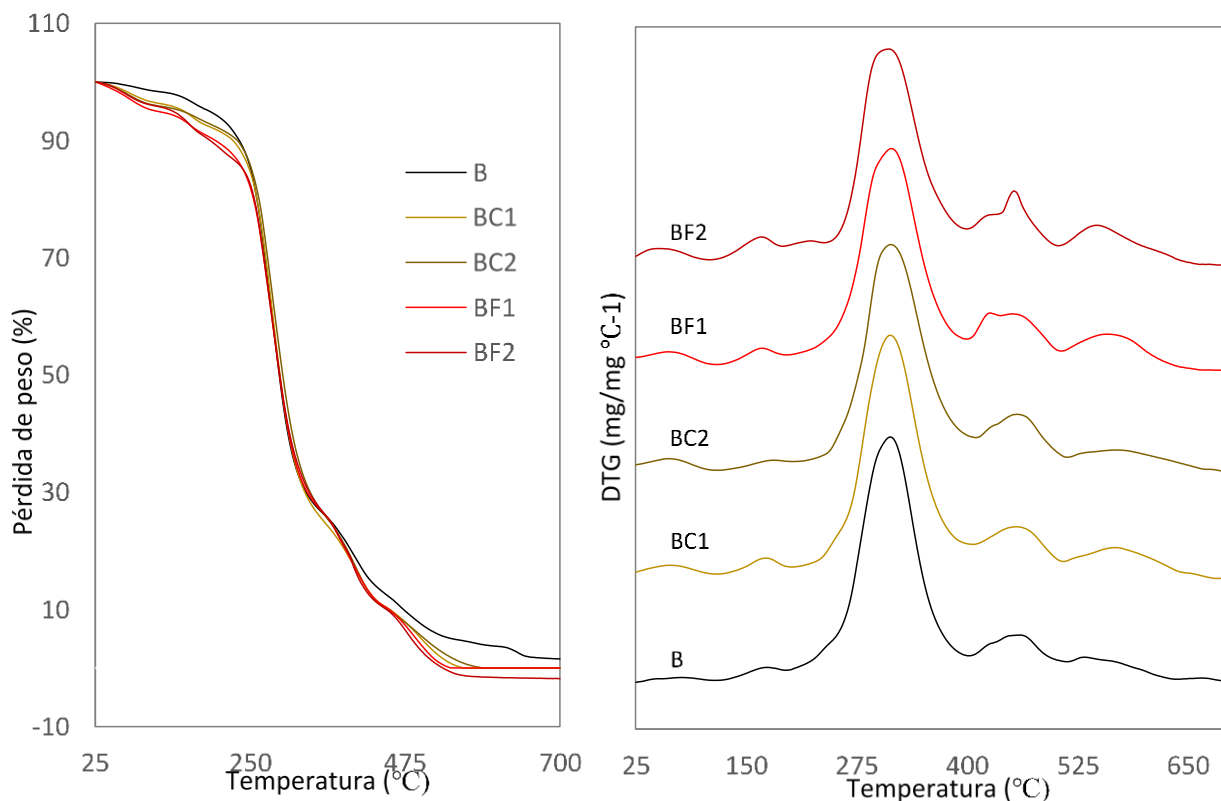
**Tabla 3.** Tensión de fractura (TS), Elongación (%E) y módulo de Elasticidad (ME) obtenidos para las diferentes formulaciones acondicionadas a 53 % HR y 25 °C.

Tratamiento	Espesor (µm)	Tensión de fractura TS (MPa)	Elongación E (%)	Módulo de Elasticidad ME (MPa)
B	200 (10) <sup>b</sup>	25 (2) <sup>b</sup>	58 (7) <sup>ab</sup>	68 (4) <sup>c</sup>
BC1	190 (20) <sup>a</sup>	23 (3) <sup>ab</sup>	55 (11) <sup>a</sup>	63 (2) <sup>b</sup>
BC2	190 (10) <sup>a</sup>	20 (2) <sup>a</sup>	57 (4) <sup>ab</sup>	55 (6) <sup>a</sup>
BF1	180 (10) <sup>a</sup>	22 (3) <sup>a</sup>	64 (7) <sup>ab</sup>	52 (2) <sup>a</sup>
BF2	200 (20) <sup>a</sup>	23 (3) <sup>ab</sup>	66 (5) <sup>b</sup>	53 (6) <sup>a</sup>

Las diferentes letras (superíndices) en cada columna indican estadísticamente diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las formulaciones.

## ANÁLISIS TÉRMICO

El análisis termo gravimétrico (TGA) es una técnica en la cual la variación de la masa de la muestra es determinada en función de la temperatura y el tiempo de calentamiento. Esta técnica posibilita conocer las alteraciones que el calentamiento puede provocar en los materiales, tales como, reacciones de deshidratación, oxidación, combustión y descomposición. En la **Figura 5** se presentan los termogramas de cada una de las muestras, así como su derivada (DTGA).



**Figura 5.** Curvas de TGA (izquierda) y DTGA (derecha) de las formulaciones de PVA a humedad cero.

En la degradación térmica se observan varias etapas que no fueron modificadas significativamente ( $p > 0.05$ ) por la inclusión de los AF en la matriz (**Tabla 4**). La primera etapa, corresponde a la pérdida del agua por vaporización (pico: 70 °C). La segunda etapa comienza a los 120 °C, presenta su pico a los 166 °C y corresponde a la degradación del plastificante (Collazo-Bigliardi et al., 2019) y oligómeros de bajo peso molecular. Por su parte, la degradación del material polimérico presentó tres picos, el principal (285 °C) que se asocia con el desprendimiento de grupos laterales, formando agua, ácido acético y acetaldehído como subproductos, mientras, los siguientes dos picos están relacionados con la formación de estructuras más pesadas procedentes de la degradación de la cadena principal, en línea con lo publicado por otros autores (Barrera et al., 2007).

La estabilidad térmica del PVA a altas temperaturas disminuyó ligeramente con la incorporación de los AF, tal y como se observa de la comparación de los porcentajes de masa residual que quedan a 650°C.

**Tabla 4.** Temperatura inicial (onset), final (endset) y pico de degradación (peak) de las diferentes formulaciones acondicionadas a 0 % HR y 25 °C.

Tto.	Agua			Glicerol		Degradación del polímero				
	Onset	Peak	Endset	Onset	Peak	Onset	Peak 1	Peak 2	Peak 3	Endset
B	45 (3) <sup>a</sup>	74 (15) <sup>a</sup>	105 (25) <sup>a</sup>	119 (13) <sup>a</sup>	167 (1) <sup>ab</sup>	235 (7) <sup>a</sup>	285 (3) <sup>a</sup>	404 (3) <sup>a</sup>	477 (11) <sup>a</sup>	645 (66) <sup>a</sup>
BC1	38 (10) <sup>a</sup>	69 (9) <sup>a</sup>	146 (95) <sup>a</sup>	129 (8) <sup>a</sup>	167 (1) <sup>ab</sup>	239 (2) <sup>a</sup>	285 (3) <sup>a</sup>	391 (23) <sup>a</sup>	491 (9) <sup>a</sup>	569 (22) <sup>a</sup>
BC2	38 (10) <sup>a</sup>	71 (6) <sup>a</sup>	104 (21) <sup>a</sup>	128 (8) <sup>a</sup>	170 (4) <sup>b</sup>	240 (5) <sup>a</sup>	288 (4) <sup>a</sup>	406 (3) <sup>a</sup>	486 (10) <sup>a</sup>	567 (53) <sup>a</sup>
BF1	36 (7) <sup>a</sup>	67 (9) <sup>a</sup>	104 (19) <sup>a</sup>	124 (7) <sup>a</sup>	163 (1) <sup>a</sup>	237 (3) <sup>a</sup>	288 (3) <sup>a</sup>	391 (13) <sup>a</sup>	485 (4) <sup>a</sup>	600 (63) <sup>a</sup>
BF2	33 (1) <sup>a</sup>	65 (8) <sup>a</sup>	99 (23) <sup>a</sup>	117 (8) <sup>a</sup>	166 (1) <sup>a</sup>	235 (7) <sup>a</sup>	285 (3) <sup>a</sup>	405 (5) <sup>a</sup>	481 (4) <sup>a</sup>	631 (56) <sup>a</sup>

Las diferentes letras (superíndices) en cada columna indican estadísticamente diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las formulaciones.

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) permite conocer los eventos térmicos que pueden ocurrir en el material, básicamente, transiciones de fase de primer y de segundo orden, relacionadas respectivamente con la fracción cristalina y amorfa del material. Las transiciones de primer orden presentan variación de entalpía y pueden ser endotérmicas como la fusión, o exotérmicas como la cristalización. Por su parte, las transiciones de segundo orden, como la transición vítrea, no presentan variación de la entalpía y se presentan como cambio en el calor específico del material que se refleja en un salto en la línea base del termograma. En este sentido, la presencia de transiciones de primer y segundo orden en todas las formulaciones estudiadas corrobora el carácter semicristalino del PVA (**Tabla 5.**).

**Tabla 5.** Temperatura de transición vítrea (Tg), temperatura de fusión (Tm), entalpía de fusión ( $\Delta H$ ) y cristalinidad obtenidas del análisis de DSC de las formulaciones de PVA.

Tratamiento	Tg <sub>1</sub> (°C) 1 <sup>er</sup> barrido	Tg <sub>2</sub> (°C) 2 <sup>o</sup> barrido	Tm <sub>2</sub> (°C) 2 <sup>o</sup> barrido	$\Delta H_2$ (J/g) 2 <sup>o</sup> barrido	Cristalinidad <sub>2</sub> (%) 2 <sup>o</sup> barrido
B	69 (1) <sup>b</sup>	36 (6) <sup>a</sup>	158 (1) <sup>b</sup>	27 (2) <sup>b</sup>	17 (1) <sup>b</sup>
BC1	68 (3) <sup>ab</sup>	50 (2) <sup>b</sup>	148 (1) <sup>a</sup>	17 (2) <sup>a</sup>	11 (1) <sup>a</sup>
BC2	64 (2) <sup>a</sup>	36 (2) <sup>a</sup>	161 (3) <sup>b</sup>	25 (3) <sup>ab</sup>	15 (2) <sup>ab</sup>
BF1	66,8 (0,1) <sup>ab</sup>	40 (1) <sup>ab</sup>	159 (1) <sup>b</sup>	29 (1) <sup>b</sup>	17,9 (0,5) <sup>b</sup>
BF2	65 (2) <sup>a</sup>	31 (8) <sup>a</sup>	159 (2) <sup>b</sup>	27 (5) <sup>b</sup>	17 (3) <sup>b</sup>

Las diferentes letras (superíndices) en cada columna indican estadísticamente diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las formulaciones.

Los números 1 y 2 (subíndices) representan la primera y la segunda etapa de calentamiento respectivamente.

$\Delta H = 161,6$  J/g es el calor de fusión para PVA cristalino al 100 %, dato obtenido de Athas data bank reportado por Roohani et al. (2008).

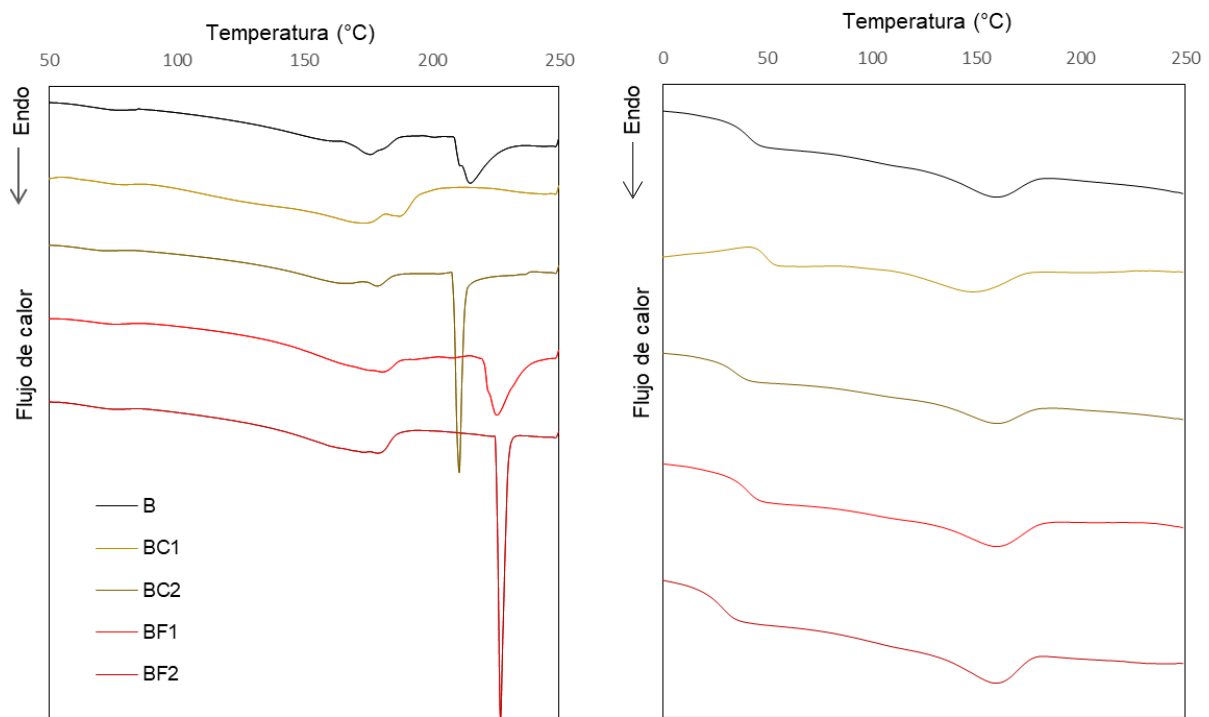
El primer barrido de calentamiento, refleja el estado del material después del proceso de elaboración al que fue sometido, mientras que el segundo refleja las propiedades térmicas del material, una vez que la historia térmica ha sido



borrada. En la primera etapa de calentamiento representada en la parte izquierda de la **Figura 6** se observa la transición vítrea de la fracción amorfa del material (65-70 °C) y transiciones de primer orden con gran irregularidad y aleatoriedad, lo cual es atribuible a sucesivos eventos exo y endo-térmicos relacionados con una cristalización incompleta del material obtenido, debido al enfriamiento rápido de las películas, que dificultó la organización de las cadenas poliméricas. Durante el calentamiento en el DSC, se produce la recrystalización del material cuando se supera la temperatura de transición vítrea y las cadenas de la fracción amorfa ganan movilidad. Los eventos endotérmicos podrían estar también asociados a reacciones de degradación como la vaporización del glicerol o reacciones de reducción en las cadenas poliméricas de carácter endotérmico (Canevarolo JR., 2004), tal como se desprende de las temperaturas iniciales de degradación observadas en el TGA. Por su parte, la temperatura de transición vítrea ( $T_{g1}$ ) se redujo con la inclusión de los ácidos fenólicos, especialmente a concentraciones del 2 % para ambos ácidos (Tabla 5). Esta disminución refleja la plastificación, ya comentada, de las películas por efecto de los ácidos grasos y que afectó a las propiedades mecánicas: reducción de la rigidez (EM) y la resistencia (TS).

En la segunda etapa de calentamiento (**Figura 6**) se observó un pico endotérmico, asociado a la fusión de la fracción cristalina del material, sin fenómenos de cristalización solapados, lo que resultó en un endotermo más claro que permitió la estimación de la cristalinidad a través del cociente entre la entalpia determinada (J/g polímero) y la entalpia reportada para PVA completamente cristalino. Esta fue del orden del 16 % en todos los casos excepto para la muestra con 1 % de ácido cinámico en que las películas tuvieron menos carácter cristalino. No obstante, teniendo en cuenta los eventos termodegradativos observados en el primer calentamiento es probable que la estructura del material haya sufrido cambios relevantes. Al comparar la temperatura de transición de la primera ( $T_{g1}$ ) y segunda etapa de calentamiento ( $T_{g2}$ ) se observó una reducción considerable, debido a cambios en la composición de la fracción amorfa presente en la muestra al comienzo de cada etapa de calentamiento. Tal como se ha apuntado, los films procesados presentan una gran fracción amorfa que recrystaliza durante el calentamiento a  $T > T_{g1}$ . Esta fracción amorfa presenta un mayor peso molecular promedio, y por tanto mayor  $T_g$ , que la fracción amorfa residual después de la cristalización ocurrida en la etapa de enfriamiento del DSC, tras borrar la historia térmica del material. Es remarcable el hecho de que la  $T_{g2}$  del segundo barrido es notablemente más alta para las muestras con 1 % de ácido cinámico o ferúlico que para el PVA sin ácidos o con 2 % de estos, cuyos valores fueron similares y del orden de 35 °C. Sin embargo, con 1 % de ácidos la  $T_g$  es de 10-15 °C mayor. Este resultado apunta a que la fracción amorfa en presencia de 1% de ácido presenta un mayor peso molecular efectivo, lo cual podría estar relacionado con el predominio de cadenas entrecruzadas por la acción de los ácidos en esta fracción, con mayor dificultad para la

cristalización. Con 2 % de ácido, el efecto combinado de la hidrólisis (descenso del peso molecular) y el entrecruzado de cadenas (aumento del peso molecular efectivo) parecen llevar la Tg de la fracción amorfa a un valor similar a la del film sin ácidos. Por otro lado, la posible degradación de compuestos amorfos de bajo peso molecular durante el primer calentamiento en el DSC tendría también un efecto en la Tg final de la fracción amorfa.



**Figura 6.** Termogramas obtenidos por DSC de las formulaciones de PVA durante el primer calentamiento (izquierda) y el segundo calentamiento (derecha).

## CONCLUSIONES

La incorporación de los ácidos cinámico y ferúlico a films de PVA mediante mezclado en fundido y moldeado por compresión parece modificar la estructura de las cadenas del polímero mediante hidrólisis parcial y entrecruzado, dando lugar a films con mayor plasticidad, sobre todo con 2 % de ácido ferúlico. Estos cambios se reflejan en la microestructura de los films donde aparecen regiones con fractura filamentosa, típica de la estructura gomosa, y en el descenso de la Tg del material. El entrecruzamiento de cadenas y la alta viscosidad del fundido parecen dificultar la cristalización durante el enfriamiento de los films termoprocados. Los cambios estructurales provocados por los ácidos afectaron a las propiedades de barrera y mecánicas de los films. El entrecruzamiento mejoró la capacidad de

barrera al oxígeno, pero no al vapor de agua, que disminuyó sustancialmente en los films con ácido ferúlico, que también mostraron mayor plasticidad y extensibilidad, especialmente al 2 %. La hidrólisis de cadenas aumentó la solubilidad en agua de los films. Este efecto hidrolítico parece superior para el ácido ferúlico, tal como se deduce de su efecto sobre las propiedades funcionales, aunque también parece estar más fuertemente ligado a las cadenas del PVA. Son necesarios estudios de distribución de pesos moleculares en los films procesados, así como los espectros de infrarrojos y rayos X para confirmar algunas de las hipótesis que explican el comportamiento observado para los films. No obstante, las modificaciones introducidas por los AF no limitan su uso como material de envase alimentario y habría que corroborar en ensayos in vivo e in vitro la capacidad antimicrobiana y antioxidante de los materiales obtenidos.

## REFERENCIAS

- Andrade, J. González-Martínez, Ch. & Chiralt, A. (2019). Desarrollo de películas multicapa biodegradables para el envasado activo de alimentos. Tesis de doctorado en ciencia, tecnología y gestión alimentaria, Universidad Politécnica de Valencia, España, (*en proceso*).
- Barrera, J. E., Rodríguez, J. A., Perilla, J. E., & Algecira, N. A. (2007). Estudio de la degradación térmica de poli ( alcohol vinílico ) mediante termogravimetría y termogravimetría diferencial thermogravimetry and differential thermogravimetry. *Revista Ingeniería e Investigación*, 27(2), 100–105.
- Bucci, P., Santos, M. V., & Zaritzky, N. (2019). *Extracción de ácido ferúlico a partir de subproductos de la industria cervecera: bagazo de cerveza. In V Jornadas de Investigación, Transferencia y Extensión de la Facultad de Ingeniería (La Plata, 2019)*. 629–634.
- CANEVAROLO JR., S. V. (2004). *Técnicas de Caracterização de Polímeros*. 232. Retrieved from [www.artliber.com.br](http://www.artliber.com.br)
- Cano, A., Fortunati, E., Cháfer, M., Kenny, J. M., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2015). Properties and ageing behaviour of pea starch films as affected by blend with poly(vinyl alcohol). *Food Hydrocolloids*, 48, 84–93. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.01.008>
- Collazo-Bigliardi, S., Ortega-Toro, R., & Chiralt, A. (2019). Using grafted poly( $\epsilon$ -caprolactone) for the compatibilization of thermoplastic starch-poly(lactic acid) blends. *Reactive and Functional Polymers*, 142, 25–35. <https://doi.org/10.1016/J.REACTFUNCTPOLYM.2019.05.013>
- Fang, Z., Zhao, Y., Warner, R. D., & Johnson, S. K. (2017). Active and intelligent packaging in meat industry. *Trends in Food Science & Technology*, 61, 60–71. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2017.01.002>
- García, A. A., & Carril, E. P.-U. (2011). Metabolismo secundario de plantas. *REDUCA (Biología)*, 2(3), 119–145. Retrieved from <http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/798>

- González, A., & Alvarez Igarzabal, C. I. (2013). Soy protein – Poly (lactic acid) bilayer films as biodegradable material for active food packaging. *Food Hydrocolloids*, 33(2), 289–296. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2013.03.010>
- Hossain, M. S., Sobhan, F., Uddin, M. N., Sharifuzzaman, S. M., Chowdhury, S. R., Sarker, S., & Chowdhury, M. S. N. (2019). Microplastics in fishes from the Northern Bay of Bengal. *Science of The Total Environment*. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2019.07.065>
- Kumar, N., & Pruthi, V. (2014). Potential applications of ferulic acid from natural sources. *Biotechnology Reports*, 4, 86–93. <https://doi.org/10.1016/J.BTRE.2014.09.002>
- McHugh, T. H., Avena-Bustillos, R., & Krochta, J. M. (1993). Hydrophilic Edible Films: Modified Procedure for Water Vapor Permeability and Explanation of Thickness Effects. *Journal of Food Science*, 58(4), 899–903. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb09387.x>
- Molinero Merino, L. (2012). *Producción de monoglicéridos por esterificación de glicerina con ácidos cinámico y p-metoxicinámico*. Retrieved from <https://eprints.ucm.es/18041>
- Peñarrieta, J., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J., & Bravo, J. (2014). Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Bolivian Journal of Chemistry*, 31(2), 68–81. <https://doi.org/10.1007/s00394-008-2002-2>
- Roohani, M., Habibi, Y., Belgacem, N. M., Ebrahim, G., Karimi, A. N., & Dufresne, A. (2008). Cellulose whiskers reinforced polyvinyl alcohol copolymers nanocomposites. *European Polymer Journal*, 44(8), 2489–2498. <https://doi.org/10.1016/J.EURPOLYMJ.2008.05.024>
- Thong, C. C., Teo, D. C. L., & Ng, C. K. (2016). Application of polyvinyl alcohol (PVA) in cement-based composite materials: A review of its engineering properties and microstructure behavior. *Construction and Building Materials*, 107, 172–180. <https://doi.org/10.1016/J.CONBUILDMAT.2015.12.188>
- Valencia-Sullca, C., Jiménez, M., Jiménez, A., Atarés, L., Vargas, M., & Chiralt, A. (2016). Influence of liposome encapsulated essential oils on properties of chitosan films. *Polymer International*, 65(8), 979–987. <https://doi.org/10.1002/pi.5143>
- Wiśniewska, M., Bogatyrov, V., Ostolska, I., Szewczuk-Karpisz, K., Terpiłowski, K., & Nosal-Wiercińska, A. (2016). Impact of poly(vinyl alcohol) adsorption on the surface characteristics of mixed oxide Mn x O y --SiO2. *Adsorption*, 22(4), 417–423. <https://doi.org/10.1007/s10450-015-9696-2>
- Yábar, E., Chirinos, R., & Campos, D. (2019). Phenolic compounds and antioxidant capacity in three maca (*Lepidium meyenii* Walp.) ecotypes during pre-harvest, harvest and natural post-harvest drying. *Scientia Agropecuaria*, 10(1), 85–97. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.01.10>
- Zhang, L., Li, Y., Liang, Y., Liang, K., Zhang, F., Xu, T., ... Lu, B. (2019). Determination of phenolic acid profiles by HPLC-MS in vegetables commonly consumed in China. *Food Chemistry*, 276, 538–546. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2018.10.074>