

# UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural



Grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

## **INFLUENCIA DE LOS ÁCIDOS FENÓLICOS ANTIMICROBIANOS EN LAS PROPIEDADES DE FILMS DE ÁCIDO POLILÁCTICO (PLA)**

Curso 2019-2020

**Alumno:** Francisco José Dasilva Guardia

**Tutora:** Amparo Chiralt Boix

**Cotutora:** Lorena Atarés Huerta

**Cotutor experimental:** Ramón Ordóñez Lagos

Valencia, 2020

# **Influencia de ácidos fenólicos antimicrobianos en las propiedades de films de ácido poliláctico (PLA)**

## **Influence of antimicrobial phenolic acids on the properties of polylactic acid (PLA) films**

## **Influència d'àcids fenòlics antimicrobians en les propietats de films d'àcid polilàctic (PLA)**

Valencia, junio de 2020

**Alumno:** Francisco José Dasilva Guardia

**Tutora:** Amparo Chiralt Boix

**Cotutora:** Lorena Atarés Huerta

**Director experimental:** Ramón Ordóñez Lagos

### **RESUMEN**

El uso de plásticos sintéticos no biodegradables derivados del petróleo ocasiona problemas por su acumulación y por el agotamiento de un recurso limitado como el petróleo. Los materiales biodegradables elaborados a partir de fuentes renovables pueden ser la solución a esta problemática. En la industria alimentaria, el plástico se encuentra presente en multitud de envasados. Esto, asociado a la creciente demanda de alimentos de mejor calidad y con menos aditivos, ha promovido el uso de compuestos activos incorporados al envase, dando lugar a lo que se conoce como envases activos. Algunos ácidos fenólicos poseen actividad antimicrobiana y antioxidante por lo que su incorporación a materiales de envase biodegradables puede conferirles un carácter activo. En este trabajo se han elaborado formulaciones de films para envasado a base de PLA con diferentes concentraciones de ácido ferúlico y ácido cinámico y se han caracterizado sus propiedades funcionales como material de envase. Los films se prepararon mediante la técnica de mezclado en fundido y termocompresión. En los films obtenidos, se caracterizaron las propiedades mecánicas (modulo elástico, tensión y elongación en ruptura), propiedades de barrera tanto al oxígeno como al vapor de agua, propiedades ópticas y comportamiento térmico (DSC y TGA). Se observó una mejora en las propiedades barrera en todas las formulaciones con ácidos fenólicos, mientras que las propiedades mecánicas mostraron una disminución en su valor independientemente de la concentración de compuesto activo. Se observó una mayor estabilidad térmica en los films con activos. Los materiales obtenidos presentaron propiedades adecuadas para la aplicación en envasado alimentario, y son necesarios estudios posteriores para confirmar su efectividad en cuanto a la liberación de compuesto activo y su capacidad para controlar el crecimiento microbiano.

**Palabras clave:** Ácido poliláctico, ácido ferúlico, ácido cinámico, biodegradable, envasado activo

## ABSTRACT

The use of petroleum based synthetic and non-biodegradable plastics causes many problems due to its accumulation, as well as the depletion of this resource. Biodegradable materials made from renewable resources can be the solution for this problem. Plastics are widely used as packaging in the food industry. This fact and the raising demand of products with better quality and less additives, have promoted the use of active packaging by incorporating active compounds into the packaging materials. Some phenolic acids have shown antimicrobial and antioxidant activity, so their incorporation into biodegradable packaging may provide it with these properties. In this study, film formulations for food packaging based on polylactic acid, with ferulic and cinnamic acids at two different concentrations were prepared. The films were produced using melt blending and thermocompression techniques, and characterized as to their functional properties as packaging materials, namely mechanical properties (elastic module, tension and elongation at break), barrier properties to oxygen and water vapour, optical properties and thermal behavior (DSC and TGA). Phenolic acid incorporation resulted in an improvement on the barrier properties, whereas the mechanical properties showed a decrease regardless the acid concentration. An improvement on the thermal stability was observed in the films with acids. The obtained materials show suitable properties to be used for food packaging, although further research is necessary to confirm their effectivity as regards to the release of the active compounds and their effectiveness as microbiological growth control.

**Key words:** Polylactic acid, ferulic acid, cinnamic acid, biodegradable, active packaging

## RESUM

L'ús de plàstics sintètics no biodegradables derivats del petroli ocasiona problemes per la seua acumulació i per l'esgotament d'un recurs limitat com el petroli. Els materials biodegradables elaborats a partir de fonts renovables poden ser la solució a aquesta problemàtica. En la indústria alimentària, el plàstic es troba present en multitud d'envasats. Això, associat a la creixent demanda d'aliments de millor qualitat i amb menys aditius, ha promogut l'ús compostos actius incorporats a l'envàs, donant lloc al que es coneix com a envasos actius. Alguns àcids fenòlics tenen activitat antimicrobiana i antioxidant pel que la seua incorporació a materials d'envàs biodegradables pot conferir-los un caràcter actiu. En aquest treball s'han elaborat formulacions de films per a envasament a base d'àcid polilàctic amb diferents concentracions d'àcid ferúlic i àcid cinàmic i s'han caracteritzat les seues propietats funcionals com a material d'envàs. Els films es van preparar mitjançant la tècnica de barrejat en fos i termocompressió. En els films obtinguts, es van caracteritzar les propietats mecàniques (mòdul elàstic, tensió i elongació en ruptura), propietats de barrera tant a l'oxigen com al vapor d'aigua, propietats òptiques i comportament tèrmic (DSC i TGA). Es va observar una millora en les propietats barrera a totes les formulacions amb àcids fenòlics, mentres que les propietats mecàniques van mostrar una disminució en el seu valor independentment de la concentració de compost actiu. Es va observar una major estabilitat tèrmica en els films amb actius. Els materials obtinguts van presentar propietats adequades per a l'aplicació en envasat alimentari, i són necessaris estudis posteriors per confirmar la seua efectivitat pel que fa a l'alliberament de compost actiu i la seua capacitat per a controlar el creixement microbià.

**Praules clau:** Àcid polilàctic, àcid ferúlic, àcid cinàmic, biodegradable, envasat actiu

*Gracias a mi hermana por ser un ejemplo a seguir,  
a mis padres por alentarme a seguir avanzando y  
a todas y cada una de las personas que han hecho  
posible este trabajo.*

# **ÍNDICE**

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	7
1.1. PROBLEMA MEDIOAMBIENTAL DE LOS PLÁSTICOS SINTÉTICOS DERIVADOS DEL PETRÓLEO .....	7
1.2. POLÍMEROS BIODEGRADABLES.....	8
1.3. VENTAJAS DEL PLA.....	9
1.4. PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS DE COMPUESTOS FENÓLICOS .....	10
1.5. PROPIEDADES DEL ÁCIDO FERÚLICO Y ÁCIDO CINÁMICO.....	11
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	12
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	13
3.1. MATERIALES .....	13
3.2. PREPARACIÓN DE LAS PELÍCULAS .....	13
3.3. CARACTERIZACIÓN DE LOS FILMS .....	13
3.3.1. GROSOR.....	13
3.3.2. PROPIEDADES MECÁNICAS.....	13
3.3.3. PROPIEDADES DE BARRERA.....	14
3.3.3.1. PERMEABILIDAD AL AGUA (WVP) .....	14
3.3.3.2. PERMEABILIDAD AL OXÍGENO (OP).....	14
3.3.4. PROPIEDADES ÓPTICAS.....	15
3.3.5. COMPORTAMIENTO TÉRMICO .....	15
3.3.6. CUANTIFICACIÓN DEL COMPUESTO ACTIVO RETENIDO EN EL FILM.....	16
3.3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	17
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	17
4.1. PROPIEDADES MECÁNICAS .....	17
4.2. PROPIEDADES DE BARRERA: OXÍGENO Y VAPOR DE AGUA.....	18
4.3. PROPIEDADES ÓPTICAS .....	19
4.4. COMPORTAMIENTO TÉRMICO.....	20
4.5. RECUPERACIÓN DEL COMPUESTO ACTIVO .....	23
<b>5. CONCLUSIÓN</b> .....	25
<b>6. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	26

## **ABREVIATURAS**

- AF: Ácido ferúlico
- AC: Ácido cinámico
- PLA: Ácido poliláctico
- %HR: % de humedad relativa

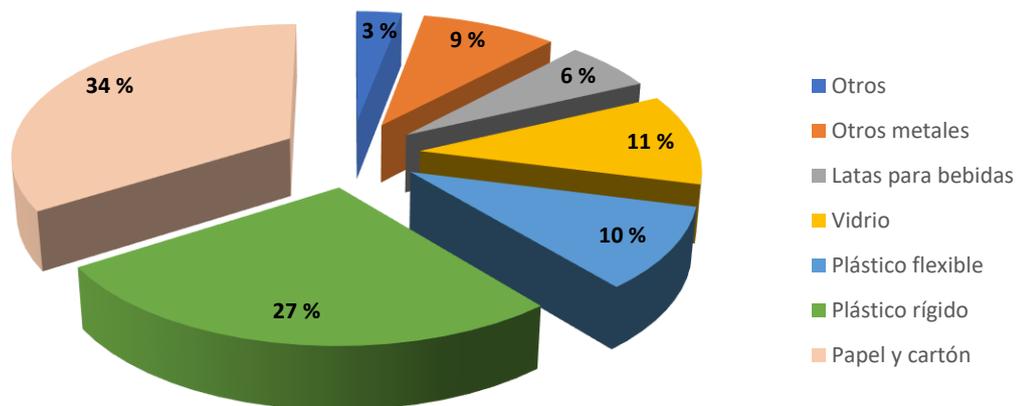
# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. PROBLEMA MEDIOAMBIENTAL DE LOS PLÁSTICOS SINTÉTICOS DERIVADOS DEL PETRÓLEO

De todos los materiales disponibles para el envasado de alimentos, el plástico ha incrementado su uso exponencialmente durante las pasadas dos décadas, con un incremento de un 5 % anual aproximadamente (Moreno, 2017). Este incremento se ve favorecido por sus múltiples formas de presentación, cada una con diferentes características (resistencia, transparencia-opacidad, permeabilidad al agua y al oxígeno...), lo que convierte al plástico en un material muy versátil y útil por sus múltiples aplicaciones (Muller, 2017). Adicionalmente, en los últimos años se ha producido un cambio en los hábitos y actitudes del consumidor, que actualmente tiende a comprar alimentos fáciles de preparar y transportar, o en su defecto, platos preparados, cuyo consumo aumentó un 6,5 %, siendo este el producto con mayor incremento en 2018 (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2018). Esta tendencia implica necesariamente la aplicación de plásticos de un solo uso.

En la actualidad, la mayor parte de los plásticos utilizados para el envasado de alimentos se elaboran a partir de petroquímicos y no son biodegradables, por lo que terminan acumulándose y generando una importante fuente de contaminación medioambiental (Malathi et al., 2014). Se estima que por cada milla cuadrada del océano hay flotando 46.000 envases de plástico (SGAPS, 2014), que la fauna del ecosistema invadido podría ingerir, causando la muerte de estos animales y alterando el ecosistema en cuestión (Guzman et al., 2011). Este efecto se acentúa aún más debido a que la propia muerte de dicho animal no implica la destrucción del plástico, sino que este continúa su curso en el ecosistema que ha penetrado, pudiendo seguir afectando a más animales debido a los largos tiempos de descomposición que implican estos tipos de plástico.

La gestión de los residuos plásticos procedentes de envases de alimentos es una ardua tarea debido a que normalmente están contaminados con restos orgánicos de los alimentos, lo que provoca que solo una pequeña parte de estos plásticos pueda ser reciclada y gestionada adecuadamente (Requena, 2018). Esta dificultad se agrava por la gran cuota de mercado de los plásticos como material de envasado de los alimentos (**Figura 1.1**). Ante esta situación, se han realizado documentos legislativos que buscan reconducir la generación actual de plásticos. La norma más importante a nivel europeo es la Directiva 2008/98/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, sobre los residuos que en el Artículo 11 establece que antes de 2020 se debía aumentar, como mínimo hasta un 50 % de su peso global, la preparación para la reutilización y el reciclado de residuos materiales (plásticos entre otros), así como aumentarse hasta un mínimo del 70 % de su peso la preparación para la reutilización, el reciclado y otros tipos de valorización. Los plásticos biodegradables representan una importante alternativa a los plásticos convencionales, y la generalización de su uso puede suponer una buena herramienta para alcanzar los objetivos marcados.



**Figura 1.1.** Cuota de mercado del material de envasado de los alimentos. (Food Packaging Forum, 2016).

## 1.2. POLÍMEROS BIODEGRADABLES

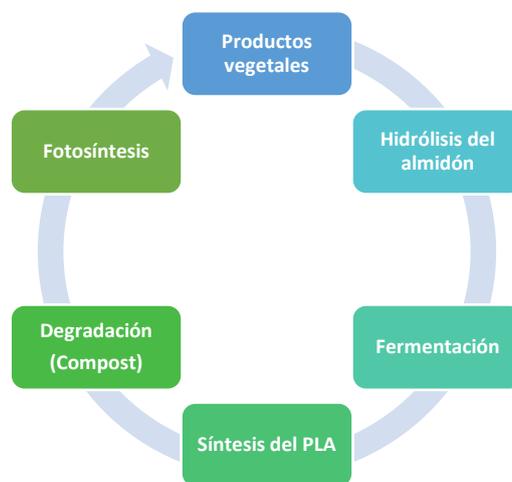
Los polímeros biodegradables son aquellos que pueden ser degradados por microorganismos en condiciones de humedad, temperatura y disponibilidad de oxígeno determinadas (Vert et al., 2012). La biodegradación de estos polímeros conduce a la fragmentación o incluso desintegración de los materiales formados por estos polímeros biodegradables. Es importante diferenciar entre plásticos biodegradables, que responden a la definición anterior, y los bioplásticos, que son tanto los biodegradables como los obtenidos total o parcialmente a partir de fuentes renovables, o ambas cosas (Moreno, 2017).

Entre los polímeros biodegradables de origen natural, o renovable, más estudiados se encuentran:

- La celulosa: muy abundante en la naturaleza ya que es el principal componente de la pared de las células vegetales (Ghanbarzadeh & Almasi, 2017).
- El almidón y sus derivados, que presentan diversas características dependiendo del origen y del tipo de procesado aplicado, que pueden determinar su aplicación (Moreno, 2017).
- La quitina y el quitosano, cuya fuente natural es el exoesqueleto de crustáceos (Xie et al., 2013).
- Proteínas tales como la proteína de soja, suero de leche, o proteína de guisante, que también pueden usarse para elaborar películas (Sánchez, 2011).

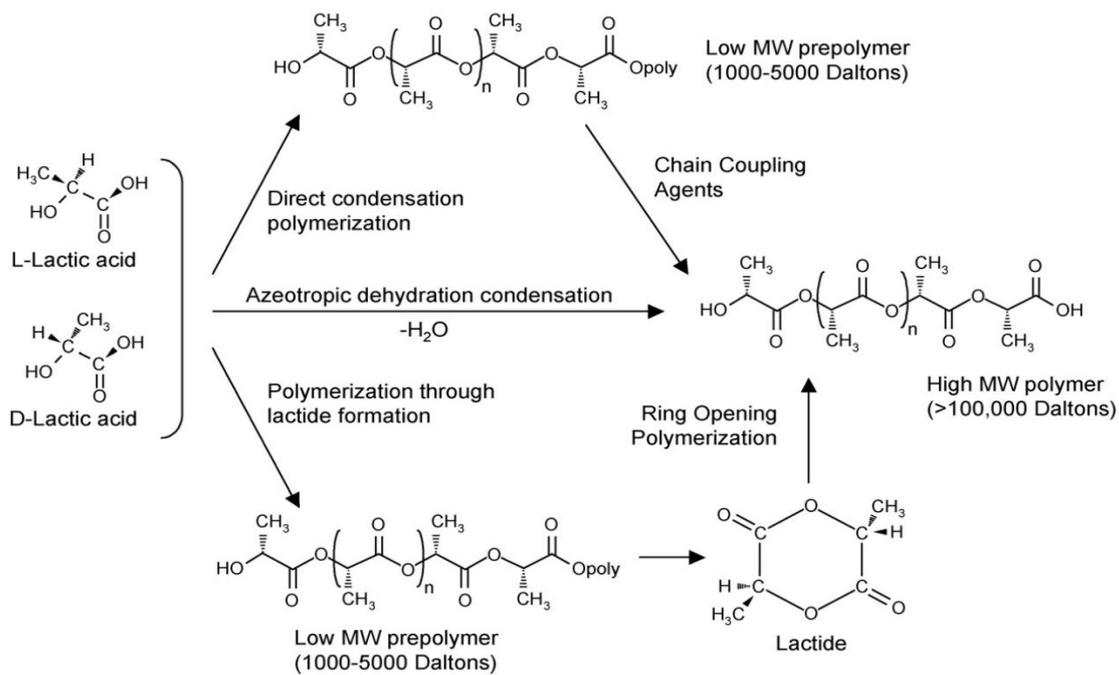
### 1.3. VENTAJAS DEL PLA

El PLA constituye una apuesta prometedora para su uso como biopolímero debido a sus características físicas y químicas (Guzman et al., 2011). Se trata de un poliéster termoplástico lineal y alifático, resultante de la polimerización del ácido láctico. Se obtiene a partir de fuentes renovables vegetales, como el almidón de maíz o de arroz. El almidón de estos vegetales se convierte en dextrosa mediante una hidrólisis. Esta dextrosa es posteriormente fermentada en condiciones controladas, produciendo ácido láctico, el cual se procesa de manera controlada para sintetizar finalmente el PLA. El PLA se degrada en medio compost por la acción de los microorganismos presentes, pero no en suelo o medio marino. A través del compostaje, puede incorporarse al ciclo de la materia orgánica (**Figura 1.2**) Dependiendo de la estereoquímica y peso molecular, el periodo de degradación del PLA oscila entre seis meses y dos años en compost (Armentano et al., 2013), mientras que en compost su degradación llega aproximadamente al 75 % al cabo de dos meses (Kale et al., 2007). Este proceso produce  $H_2O$  y  $CO_2$ , productos que no son tóxicos ni cancerígenos.



**Figura 1.2.** Ciclo del PLA en la naturaleza. Adaptado de (Xiao et al., 2012)

La síntesis del PLA se puede realizar por tres vías distintas: polimerización directa por condensación, condensación-deshidratación azeotrópica o polimerización a través de formación de lactida (**Figura 1.3**). Una vez obtenido, el PLA puede procesarse térmicamente, como los plásticos convencionales, para la elaboración de envases, películas, etc. (Muller, 2017). Además, en su procesado requiere de bajas cantidades de energía, entre un 25 y un 55 % menos de la energía que se consume al producir plásticos derivados del petróleo (Xiao et al., 2012).



**Figura 1.3.** Diferentes rutas químicas para la producción de PLA a partir de ácido láctico: polimerización directa por condensación, condensación-deshidratación azeotrópica y polimerización a través de formación de lactida. (Muller, 2017)

El PLA presenta diferentes características interesantes para el envasado de alimentos. Su carácter hidrófobo (sin afinidad química con el agua) es su ventaja principal, puesto que la gran mayoría de alimentos presentan un nivel de humedad medio o elevado. Esta hidrofobicidad se refleja en su baja permeabilidad al vapor de agua, aunque representa una peor capacidad de barrera a los gases. En cuanto a sus propiedades mecánicas, tiene una gran resistencia a la tracción (de 17 a 74 MPa), pero una elevada fragilidad, con una reducida elongación de fractura (menos del 10 %). La limitación en sus propiedades para el envasado de alimentos, requiere la adecuación de sus propiedades mediante la incorporación de plastificantes o materiales que mejoren su funcionalidad. La incorporación al PLA de compuestos bioactivos (antimicrobianos y antioxidantes) puede mejorar sus propiedades adaptándose mejor a los requerimientos del envasado (Collazo, 2019), a la vez que incrementa el valor añadido del envase, convirtiéndolo en un envase activo.

#### 1.4. PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS DE COMPUESTOS FENÓLICOS

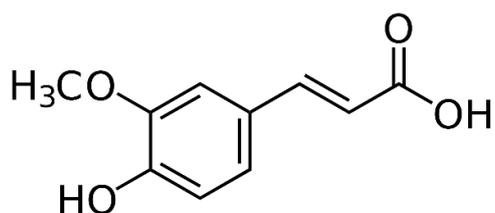
Los compuestos fenólicos constituyen uno de los grupos más diversos de los metabolitos secundarios en una gran variedad de plantas, ya que se conocen aproximadamente 8000 estructuras. Se caracterizan por poseer un anillo benzoico, un grupo carboxílico y uno o más grupos hidroxilo o metoxilo (Lima et al., 2016). Sus propiedades antimicrobianas son interesantes por su origen natural y la mejor aceptación del consumidor para este tipo de productos.

Se han descrito diversos mecanismos antimicrobianos para los compuestos fenólicos. Actúan sobre la degradación de la pared celular, de la membrana citoplasmática o de las proteínas de la membrana, provocando la pérdida de elementos de la célula al exterior, la coagulación del citoplasma o el agotamiento de la fuerza motriz de los protones (Cetin-Karaca & Newman, 2015). Estos compuestos han demostrado ser efectivos contra bacterias patógenas tanto Gram positivas como Gram negativas, tales como *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* y *Salmonella Typhimurium* (Costa et al., 2017).

## 1.5. PROPIEDADES DEL ÁCIDO FERÚLICO Y ÁCIDO CINÁMICO

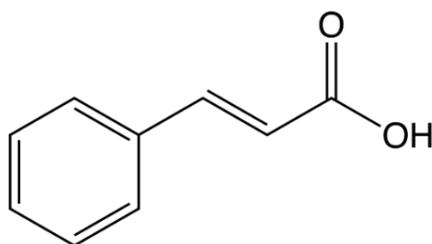
Los ácidos fenólicos constituyen prácticamente la tercera parte de todos los compuestos fenólicos que se consumen en una dieta normal (Meira et al., 2017). Estos ácidos tienen propiedades antimicrobianas, y presentan mayor actividad en su forma protonada, a pH bajo ya que los valores de sus  $pK_{AS}$  suelen oscilar entre 4,5 y 5,8: En la forma no disociada pueden atravesar más fácilmente la membrana plasmática. Una vez se han introducido en el citoplasma de la bacteria, se disocian, provocando un descenso del pH e inactivando multitud de rutas metabólicas, derivando en la muerte celular (Miyague et al., 2015).

El AF es un ácido orgánico, perteneciente al grupo de los ácidos hidroxicinámicos y es el más abundante en la pared celular vegetal. Su fórmula molecular es  $C_{10}H_{10}O_4$  y tiene un peso molecular de 194,18 gramos/mol. Presenta actividad antioxidante debido a los dos grupos hidroxilo de su estructura química (**Figura 1.4**). Se ve mucho menos afectado que otros compuestos fenólicos por los cambios de pH y posee capacidad inhibitoria del crecimiento de hongos, levaduras y bacterias. Su actividad antifúngica es mayor a la de otros compuestos fenólicos (Lattanzio et al., 1994). Raramente se encuentra en forma libre, ya que en las plantas se encarga de entrecruzar la lignina y los polisacáridos, otorgando la estructura rígida y la resistencia a la degradación por parte de los microorganismos (López, 2011). Por tanto, se suele encontrar unido a polisacáridos de las paredes celulares formando ésteres (Sánchez, 2011).



**Figura 1.4.** Estructura química del AF

El ácido cinámico (**Figura 1.5**) es un ácido orgánico, abundante en plantas, que posee multitud de propiedades: anticancerígenas, antimicrobianas, antioxidantes o antidiabéticas (Oishi et al., 2017). Su fórmula molecular es  $C_9H_8O_2$  y su peso molecular es 148,16 gramos/mol. En la naturaleza pueden coexistir las formas cis y trans de este ácido, pero la predominante es la forma trans pues es mucho más estable. Es extremadamente hidrófobo y con muy baja solubilidad en agua, del orden de 0,29 g/L (Letsididi et al., 2018). Se puede conseguir por síntesis química, pero tiene bajo rendimiento y se trata de un proceso más complejo y caro que la extracción con solvente directamente de la materia prima (Guo et al., 2019).



**Figura 1.5.** Estructura química del AC

## **2. OBJETIVOS**

El objetivo del presente trabajo es la incorporación de dos ácidos fenólicos (AF y AC) en las formulaciones de películas elaboradas a base de PLA, con el fin de conferirle poder antimicrobiano, analizando el efecto de esta incorporación en las propiedades funcionales de la película como material de envase: propiedades mecánicas, de barrera al vapor de agua y al oxígeno, ópticas (color y transparencia) y comportamiento térmico (transiciones de fase y termodegradación).

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. MATERIALES

Para la elaboración de las películas se empleó PLA como polímero base, suministrado por Naturewoks (EEUU). Para el acondicionamiento de los films a 53 % HR se utilizó nitrato de magnesio ( $Mg(NO_3)_2$ ), y para el acondicionamiento a 0 % HR se empleó pentóxido de fósforo ( $P_2O_5$ ), ambos suministrados por Panreac Química S.L.U. (Barcelona, España). Los compuestos activos usados (AF y AC) se obtuvieron Sigma-Aldrich (Madrid, España) y para la extracción del compuesto activo se utilizó metanol absoluto como disolvente (Panreac Química S.L.U., Barcelona, España).

#### 3.2. PREPARACIÓN DE LAS PELÍCULAS

La preparación de las películas constó del mezclado en fundido del polímero y los compuestos fenólicos y posterior moldeo por compresión de los pellets obtenidos. Ambos pasos se realizaron siguiendo el método descrito por González (2019) incluyendo algunas modificaciones. Para ello, el PLA con o sin ácidos fenólicos, según las formulaciones (**Tabla 1**) fueron introducidas en un mezclador interno con control del par de torsión (HAAKE™ PolyLab™ QC, Thermo Fisher Scientific, Alemania). Las condiciones de procesado fueron 160 °C a 50 rpm durante 10 min. La mezcla resultante fue triturada antes de la etapa de moldeo por compresión.

**Tabla 1.** Fracciones másicas de polímero base y ácidos fenólicos en las distintas formulaciones de los films (PLA: ácido poliláctico; AF: ácido ferúlico; AC: ácido cinámico).

Formulaciones	PLA	AF	AC
PLA	1	-	-
PLA-1F	0,99	0,01	-
PLA-2F	0,98	0,02	-
PLA-1C	0,99	-	0,01
PLA-2C	0,98	-	0,02

Se realizaron 10 films por formulación. Para cada uno de los films, se prensaron 4 g de pellets en una prensa hidráulica (Labtech Engineering, Tailandia, Modelo LP20) precalentada a 160 °C. Cada prensado constó en tres períodos: (1) precalentamiento sin presión a 160 °C durante 4 min, (2) calentamiento a 100 bares y 160 °C durante 4 min, y (3) enfriamiento sin presión hasta alcanzar 70 °C durante 3 min. Se obtuvieron películas de 15 cm de diámetro, utilizando láminas de teflón como molde. Las películas obtenidas se almacenaron en desecadores a 53 % de HR antes de su caracterización en las propiedades físicas y a 0 % HR antes de su caracterización térmica y cuantificación de compuestos activos.

#### 3.3. CARACTERIZACIÓN DE LOS FILMS

##### 3.3.1. GROSOR

Se tomaron 6 medidas del grosor en posiciones aleatorias de la película con un micrómetro digital (Palmer digital) con una precisión de 0,001mm, antes de llevar a cabo las medidas de las propiedades mecánicas y de barrera.

##### 3.3.2. PROPIEDADES MECÁNICAS

Para llevar a cabo la determinación de las propiedades mecánicas, se siguió el método estándar ASTM D882-09 (American Society for Testing Materials, 2009). Se cortaron diez rectángulos por formulación (2,5 x 10 cm), se colocaron y fijaron en las pinzas del texturómetro (Universal Testing Machine, TA.XTplus model, Stable Micro Systems, Haslemore, Inglaterra) para realizar el ensayo de

tracción hasta rotura, con una separación de las pinzas inicial de 50 mm y una velocidad de deformación de 20mm/s. Los experimentos se realizaron en las muestras acondicionadas a 25 °C y 53 % HR.

A partir de los datos de fuerza-deformación se obtuvieron las curvas de tensión vs. deformación de Hencky, para calcular la tensión de fractura (TS), el módulo de elasticidad de Young (EM) y el porcentaje de elongación en el punto de rotura (% E).

### 3.3.3. PROPIEDADES DE BARRERA

#### 3.3.3.1. PERMEABILIDAD AL AGUA (WVP)

Para la determinación de la WVP de las películas se empleó una modificación del método gravimétrico ASTM E96-E96 (2005) y la corrección de Gennadios *et al.* (1994), empleando copas de permeabilidad de 3,5 cm de diámetro (Payne, Elcometer SPRL, Hermelle/SD Argeneau, Bélgica). Para ello se obtuvieron círculos de las películas de 6,5 cm de diámetro que se ajustaron en la copa. La WVP se determinó en tres repeticiones de cada formulación, a una temperatura de 25 °C y un gradiente de HR de 53-100 %. El gradiente se consiguió utilizando agua destilada en el interior de la copa y una solución acuosa sobresaturada de  $Mg(NO_3)_2$  en el desecador, donde se introdujo la copa. Se emplearon ventiladores para homogeneizar la atmósfera del desecador y evitar la formación de capa límite en la superficie del film.

Se tomaron medidas de la masa durante cada 1,5 h durante un total de 25 h con una balanza analítica, cuya precisión era de cinco dígitos, hasta alcanzar el estado estacionario. Los datos obtenidos de pérdida de peso respecto al tiempo se emplearon para calcular en primer lugar la tasa de transmisión de vapor de agua (WVTR), y finalmente la permeabilidad al vapor de agua (WVP):

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

$$WVP = \frac{WVTR \cdot L}{P_{W1} - P_{W2}} \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde:

A: Área del film ( $m^2$ )

J: Pendiente de la gráfica de masa frente al tiempo (g/h)

L: Espesor de la película (mm)

$P_{W1}$ : Presión parcial del vapor de agua bajo el film (kPa)

$P_{W2}$ : Presión parcial del vapor de agua sobre el film (kPa)

#### 3.3.3.2. PERMEABILIDAD AL OXÍGENO (OP)

La permeabilidad al oxígeno (OP) se determinó aplicando la norma ASTM F1927 (2007) en condiciones de temperatura y HR controladas (25 °C y 50 % HR). Para ello, se empleó el equipo OX-TRAN SL 1/50 MOCON (Minneapolis, USA), tomando medidas de la permeabilidad cada 10 minutos hasta alcanzar la estabilidad. Se realizaron dos repeticiones de cada formulación.

El equipo midió la tasa de transmisión de oxígeno (TR), que se transforma matemáticamente a permeabilidad al oxígeno (OP) empleando los datos de espesor de la muestra y la presión de oxígeno del equipo.

$$OP = \frac{TR \cdot L}{P_{O_2}} \quad (\text{Ec. 3})$$

Donde:

OP: Permeabilidad al oxígeno (cm<sup>3</sup>/m·Pa·s)

P<sub>O<sub>2</sub></sub>: Presión del oxígeno (Pa)

L: Espesor (m)

TR: Tasa de transmisión de oxígeno (cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>·s)

### 3.3.4. PROPIEDADES ÓPTICAS

Las propiedades ópticas se determinaron en dos películas de cada formulación, las cuales fueron previamente acondicionadas a 25 °C y 53 % HR. Se midieron las coordenadas en el espacio de color CIE-L\*a\*b\* empleando un espectrocolorímetro (CM-3600d, Minolta Co., Tokyo, Japan, 380-780nm) con una ventana de 10 mm de diámetro, considerando el iluminante D<sub>65</sub> y observador 10°.

Se realizaron las medidas de los espectros de reflexión de las películas con fondo blanco (R) y negro (R<sub>0</sub>), así como la medida del propio espectro de reflexión del fondo blanco (R<sub>g</sub>). Así, con estos datos, se calculó la reflectancia suponiendo una película de un grosor tal que el efecto del fondo fuera nulo (R<sub>∞</sub>), y la transparencia de las muestras, la cual está relacionada con la transmitancia interna (T<sub>i</sub>). Para esto, se aplicó la teoría de Kubelka-Munk (Hutchings, 1999) para la dispersión múltiple de la luz (Pastor et al., 2010).

A partir de R<sub>∞</sub> se obtuvieron las coordenadas de color CIE-L\*a\*b\* y se calcularon tanto el croma (C<sub>ab</sub><sup>\*</sup>, ecuación 8) como el tono (h<sub>ab</sub><sup>\*</sup>, ecuación 9).

$$a = R + \left( \frac{R_0 - R + R_g}{R_0 \cdot R_g} \right) \quad (\text{Ec. 4})$$

$$b = \sqrt{a^2 - 1} \quad (\text{Ec. 5})$$

$$R_\infty = a - b \quad (\text{Ec. 6})$$

$$T_i = \sqrt{(a + R_0)^2 - b^2} \quad (\text{Ec. 7})$$

$$C_{ab}^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (\text{Ec. 8})$$

$$h_{ab}^* = \arctan \left[ \frac{a^*}{b^*} \right] \quad (\text{Ec. 9})$$

### 3.3.5. COMPORTAMIENTO TÉRMICO

Se ha caracterizado el comportamiento térmico de las distintas formulaciones empleando dos técnicas, la calorimetría diferencial de barrido (DSC) y análisis termogravimétrico (TGA).

El análisis termogravimétrico se llevó a cabo para cuantificar la degradación térmica de las películas. Para ello se empleó un equipo TGA StareSystem, (Mettler Toledo, Suiza). Se tomaron muestras (3 mg) y se acondicionaron en un desecador con pentóxido de fósforo para eliminar toda la humedad. Cada muestra se introdujo en un crisol de cerámica sin tapar para permitir la salida de los gases generados. Durante el ensayo, se hizo un barrido de temperatura desde 25 °C hasta 600 °C con

una velocidad de calentamiento de 10 °C/min, obteniendo datos de masa vs. temperatura. Se realizaron dos repeticiones por cada formulación.

La técnica de DSC, se aplicó para estudiar los cambios de fase en las películas en función de la temperatura. Para ello, se tomaron de 5 a 10 mg de muestra, se introdujeron en un crisol de aluminio, se selló y se introdujo en el DSC (DSC 1 Star<sup>®</sup> System, Mettler-Toledo, Suiza). Se realizó un barrido de temperatura en seis etapas (Muller, 2017): calentamiento de 25 a 200 °C a 10 °C/min, periodo isoterma a 200 °C durante 5 minutos, enfriamiento de 200 a -10 °C a -50 °C/min., periodo isoterma a -10 °C 5 minutos, calentamiento de -10 °C a 200 °C a 10 °C/min., enfriamiento de 200 °C a 25 °C a -50 °C/min.

### 3.3.6. CUANTIFICACIÓN DEL COMPUESTO ACTIVO RETENIDO EN EL FILM

La determinación del compuesto activo retenido en los films se realizó por triplicado para cada formulación, empleando un método extracción con metanol y determinación espectrofotométrica. Se aplicó la Ley de Lambert-Beer (Ecuación 10), la cual establece que en disoluciones con una concentración baja de soluto se da una relación lineal entre la absorbancia y la concentración de la muestra.

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l \quad (\text{Ec. 10})$$

Donde:

A: Absorbancia

$\varepsilon$ : coeficiente de extinción molar de cada compuesto y longitud de onda (L/mol·cm)

l: sección de paso del haz de luz (cm)

Se recortaron dos tiras de película por cada formulación (masa total aproximadamente 100 mg) y se acondicionaron a 0 % HR en un desecador con P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Se introdujeron en viales junto con 10 mL de metanol y se mantuvieron en agitación constante a temperatura ambiente (20 °C) durante 48 h. El extracto se filtró con un filtro de membrana de nailon, con un tamaño de poro de 0,2 μm. Después se introdujo en cubetas de cuarzo para la determinación de su absorbancia en el espectrofotómetro UV/V (Thermo Scientific Evolution 201, EEUU). Esto se realizó por triplicado para cada una de las formulaciones.

Las absorbancias obtenidas se compararon con rectas patrón (una por cada activo) previamente determinadas. Una vez seleccionadas las longitudes de onda del máximo de absorción (270 nm para el AC y 320 nm para el AF), se realizaron diferentes disoluciones de cada compuesto activo para obtener la recta patrón. Las rectas patrón obtenidas (concentración (C) vs. Absorbancia (A)) para la cuantificación del contenido en AF (Ec. 15) y AC (Ec. 16) fueron las siguientes:

$$C = 0,0934 + 10,115A \quad (\text{Ec. 11})$$

$$C = -0,015 + 7,5209A \quad (\text{Ec. 12})$$

De las medidas de absorbancia de los extractos se obtuvieron las cantidades de compuesto activo en el film, con la recta patrón correspondiente. El resultado se expresó en g de compuesto activo liberado por 100 g de compuesto activo inicialmente incorporado en la elaboración de la película. Esta proporción se denominó porcentaje de recuperación del compuesto activo (Ec. 13).

$$\% \text{ Recuperación del compuesto activo} = \frac{m_{\text{compuesto activo liberado}}}{m_{\text{muestra}} \cdot X_{\text{activo}_0}} \quad (\text{Ec. 13})$$

Donde:

$m_{\text{compuesto activo liberado}}$ : masa del compuesto activo en el disolvente (g)

$m_{\text{muestra}}$ : masa de la muestra de película (g)

$X_{\text{activo}_0}$ : fracción másica inicial ( $\text{g}_{\text{compuesto activo}}/\text{g}_{\text{película seca}}$ )

### 3.3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

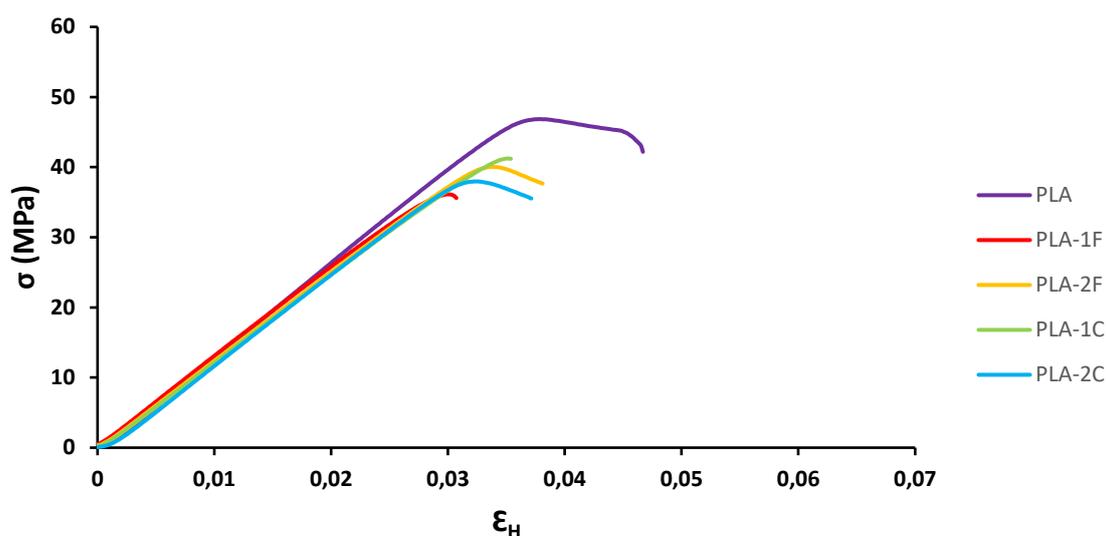
Se realizó un análisis estadístico de la varianza (ANOVA) empleando el programa estadístico Statgraphics Centurion XVII (Manugistics Cop., Rockville, EEUU), analizando cada propiedad por separado y analizando las diferencias entre formulaciones con cada compuesto activo y nivel de concentración.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. PROPIEDADES MECÁNICAS

En la **Figura 4.1** se observa el efecto de la adición de los ácidos en el comportamiento mecánico de tracción de los films de PLA. Los films control (PLA) presentaron un comportamiento mecánico similar al mostrado de estudios previos (Muller, 2017). En general, la adición de ácidos fenólicos provocó una ligera disminución de la pendiente inicial de la curva (módulo de elasticidad), similar en todos los casos, y una ruptura del film más rápida en el comienzo de la zona de comportamiento plástico, lo que repercutirá en una menor extensibilidad de los films, con una menor resistencia a la fractura. El espesor de las películas, así como los parámetros mecánicos determinados (módulo de elasticidad, tensión de fractura y porcentaje de elongación en el punto de rotura) se muestran en la **Tabla 4.1**. La incorporación de los ácidos fenólicos no tuvo un efecto significativo sobre el espesor de las películas, lo que indica que no afectó a la fluencia del material durante la compresión. No obstante, las propiedades mecánicas disminuyeron en sus valores. El módulo de elasticidad (EM), tal como se deduce la curvas tensión-deformación, presentó un descenso estadísticamente significativo ( $p < 0.05$ ) en todas las formulaciones con activos, sin diferencias significativas debidas al tipo de ácido incorporado ni a su nivel de concentración. También se observaron menores valores de tensión de fractura (TS) y extensibilidad (% E). Esta pérdida de rigidez de las películas podría ser consecuencia del efecto de dilución en la matriz por la presencia de los compuestos fenólicos que disminuye las fuerzas de cohesión entre cadenas y la compacidad del empaquetamiento polimérico. No obstante, con la variabilidad de los valores no se observa un efecto claro del tipo de ácido o concentración de este.

Se han reportado interacciones de los ácidos fenólicos con las matrices poliméricas de naturaleza proteica, donde se han observado efectos de entrecruzamiento de cadenas y plastificación. El entrecruzado ha sido confirmado por la adición de los ácidos tánico y cafeico (Choi et al., 2018), restringiendo la movilidad molecular y generando materiales más rígidos (Azeredo & Waldron, 2016; Hager et al., 2012; Makishi et al., 2013). Respecto al efecto plastificante de algunos ácidos fenólicos, se da fundamentalmente en films de polisacáridos, y es atribuido a la formación de puentes de hidrogeno con los grupos hidroxilo de los ácidos y las cadenas poliméricas, reemplazando interacciones polímero-polímero dentro de la matriz facilitando el desplazamiento de cadenas y aumentando el espacio libre intermolecular (Azeredo & Waldron, 2016). En los films de poliésteres como el PLA, no se han descrito efectos de los ácidos fenólicos y los resultados obtenidos en las propiedades mecánicas no apuntan a efectos plastificantes (los films no se hacen más extensibles) ni a entrecruzado de cadenas (no aumenta el módulo de elasticidad).



**Figura 4.1.** Curvas tensión ( $\sigma$ ) - deformación de Henky ( $\epsilon_H$ ) de las diferentes formulaciones.

**Tabla 4.1.** Valores promedio y desviaciones estándar de espesores, módulo de elasticidad (EM) y tensión de fractura (TS), porcentaje de elongación en el punto de rotura (E) de todas las formulaciones acondicionadas a 53 % HR.

FORMULACIÓN	Espesor ( $\mu\text{m}$ )	EM (MPa)	TS (MPa)	E (%)
PLA	207 ± 7 <sup>AB</sup>	1310 ± 80 <sup>A</sup>	44 ± 5 <sup>A</sup>	4,3 ± 0,5 <sup>A</sup>
PLA-1F	217 ± 10 <sup>C</sup>	1260 ± 40 <sup>B</sup>	35 ± 8 <sup>B</sup>	2,8 ± 0,7 <sup>B</sup>
PLA-2F	209 ± 6 <sup>BC</sup>	1240 ± 60 <sup>B</sup>	40 ± 4 <sup>A</sup>	3,5 ± 0,2 <sup>AB</sup>
PLA-1C	201 ± 5 <sup>AB</sup>	1250 ± 40 <sup>B</sup>	42 ± 2 <sup>A</sup>	3,6 ± 0,2 <sup>AB</sup>
PLA-2C	198 ± 5 <sup>A</sup>	1270 ± 14 <sup>B</sup>	38 ± 4 <sup>AB</sup>	3,2 ± 0,4 <sup>AB</sup>

**Nota:** distintos superíndices (<sup>ABCDE</sup>) en una misma columna señalan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre formulaciones.

#### 4.2. PROPIEDADES DE BARRERA: OXÍGENO Y VAPOR DE AGUA

La **Tabla 4.2** muestra los valores de OP y WVP para las películas estudiadas. Las propiedades de barrera fueron ligeramente afectadas por la incorporación de los ácidos fenólicos. No se encontraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en los valores de OP, para una concentración de ácidos del 1 %, pero se observó un descenso en OP para el 2 % de ácidos, lo que podría atribuirse a la capacidad de bloqueo del oxígeno por el efecto antioxidante del ácido. Este efecto ha sido observado para otros compuestos antioxidantes incorporados en matrices poliméricas, como por ejemplo en matrices de caseinato sódico (Fabra et al., 2011).

En cuanto a la permeabilidad al vapor de agua, se observó un descenso significativo por la incorporación de ácidos que fue mayor para la formulación PLA-2F. Probablemente esta mejora se deba al aumento del carácter apolar de la matriz por la incorporación de los ácidos fenólicos, que podrían unirse a los grupos polares (-HO) de final de la cadena. Este efecto se ha observado también

en otras matrices, como el caseinato sódico, donde al aumentar la concentración de AF disminuyó la permeabilidad al agua (Fabra et al., 2011).

**Tabla 4.2.** Valores promedio y desviaciones estándar de la permeabilidad al oxígeno (OP) y la permeabilidad al vapor de agua (WVP) de todas las formulaciones.

FORMULACIÓN	OP x10 <sup>14</sup> (cm <sup>3</sup> /m·s·Pa)	WVP (g·mm/kPa·h·m <sup>2</sup> )
PLA	187 ± 4 <sup>AB</sup>	0,261 ± 0,011 <sup>C</sup>
PLA-1F	191 ± 5 <sup>B</sup>	0,200 ± 0,020 <sup>B</sup>
PLA-2F	179 ± 0 <sup>A</sup>	0,136 ± 0,014 <sup>A</sup>
PLA-1C	185 ± 6 <sup>AB</sup>	0,158 ± 0,011 <sup>AB</sup>
PLA-2C	176 ± 8 <sup>A</sup>	0,200 ± 0,030 <sup>B</sup>

Distintos superíndices (<sup>ABCDE</sup>) en una misma columna señalan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre formulaciones.

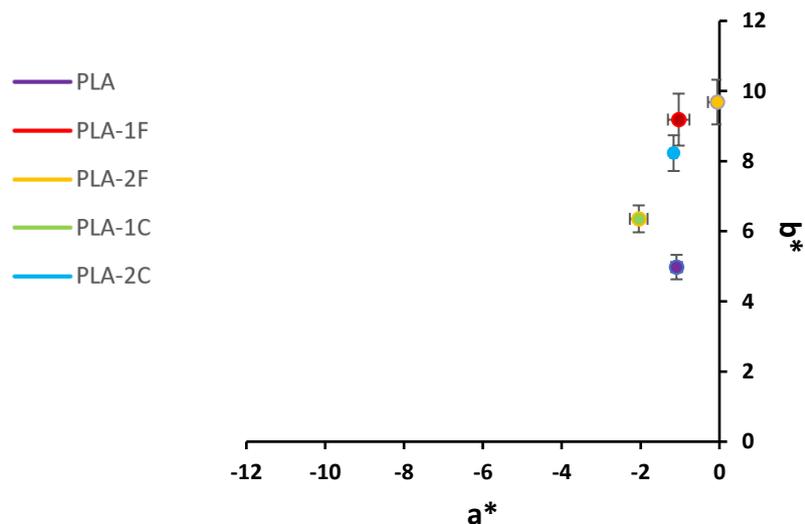
### 4.3. PROPIEDADES ÓPTICAS

La **Tabla 4.3.** muestra los parámetros cromáticos para las películas estudiadas, y la **Figura 4.2.** muestra la situación de cada muestra en el plano cromático. Las coordenadas de color fueron ligeramente modificadas por la adición de los ácidos en las películas de PLA. La claridad aumentó ligeramente, pero de manera estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ), para las formulaciones PLA-1F, PLA-1C y PLA-2C. Para todas las formulaciones con activos se observó un aumento significativo del croma o saturación del color, y de manera más marcada al incorporar ácido ferúlico. También para este ácido se observó un descenso del tono, en coherencia con la obtención de películas más amarillentas. Este efecto podría deberse al desarrollo coloraciones pardas asociadas a la degradación térmica parcial de los ácidos fenólicos durante el procesado térmico de los films. El efecto fue más marcado para el ácido ferúlico, independientemente de la concentración. La determinación experimental de la temperatura de degradación térmica de los AF y AC arroja valores para el inicio de la degradación en corriente de nitrógeno de 167 y 180°C, respectivamente, lo que está en coherencia las variaciones de color observadas. Durante el procesado a 160°C, no hay atmosfera inerte y la temperatura en la masa fundida podría alcanzar puntualmente los valores de la temperatura inicial de degradación del ácido, especialmente para el AF, que es más termo-sensible.

**Tabla 4.3.** Valores promedio y desviaciones estándar de la Claridad ( $L^*$ ), coordenadas en el plano cromático ( $a^*$  y  $b^*$ ), croma ( $C_{ab}^*$ ) y tono ( $h_{ab}^*$ ) de todas las formulaciones.

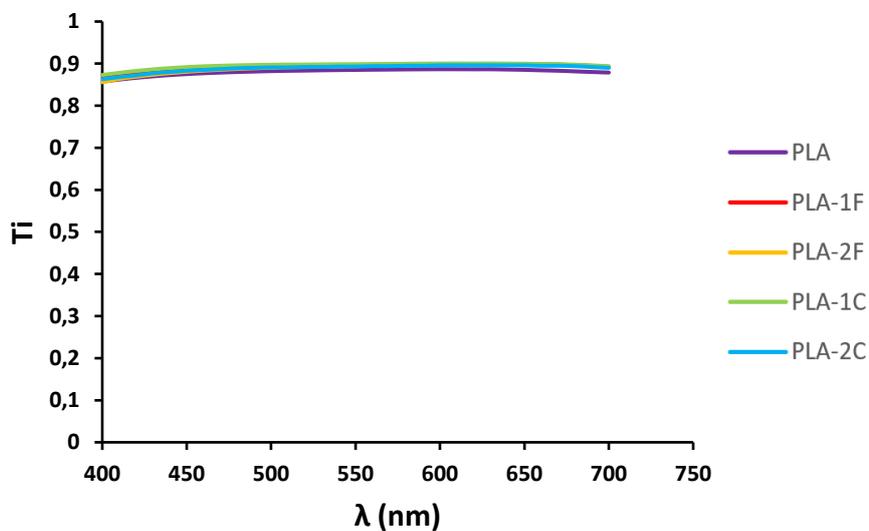
Formulación	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C_{ab}^*$	$h_{ab}^*$
PLA	82,8 ± 1,1 <sup>A</sup>	-1,09 ± 0,14 <sup>B</sup>	5,0 ± 0,4 <sup>A</sup>	5,1 ± 0,4 <sup>A</sup>	102,2 ± 0,7 <sup>C</sup>
PLA-1F	86,5 ± 1,5 <sup>BC</sup>	-1,0 ± 0,3 <sup>B</sup>	9,2 ± 0,7 <sup>D</sup>	9,3 ± 0,7 <sup>D</sup>	97,0 ± 2,0 <sup>B</sup>
PLA-2F	82,2 ± 1,3 <sup>A</sup>	-0,1 ± 0,2 <sup>C</sup>	9,7 ± 0,6 <sup>D</sup>	9,7 ± 0,6 <sup>D</sup>	90,1 ± 1,2 <sup>A</sup>
PLA-1C	87,5 ± 1,4 <sup>C</sup>	-2,0 ± 0,2 <sup>A</sup>	6,5 ± 0,4 <sup>B</sup>	6,7 ± 0,4 <sup>B</sup>	108,0 ± 2,0 <sup>D</sup>
PLA-2C	85,3 ± 1,0 <sup>B</sup>	-1,2 ± 0,18 <sup>B</sup>	8,2 ± 0,5 <sup>C</sup>	8,3 ± 0,5 <sup>C</sup>	98,0 ± 0,6 <sup>B</sup>

Distintos superíndices (<sup>ABCDE</sup>) en una misma columna señalan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre formulaciones.



**Figura 4.2.** Ubicación de las formulaciones en el plano cromático a\*b\*

La **Figura 4.3** muestra los espectros de transmitancia interna de las películas estudiadas. Este parámetro no se vio significativamente modificado por la incorporación de los ácidos fenólicos, por lo que se puede concluir que estas modificaciones en las formulaciones de las películas no afectan a su transparencia.



**Figura 4.3.** Espectros de transmitancia interna (Ti) entre 400 y 700 nm para las diferentes formulaciones.

#### 4.4. COMPORTAMIENTO TÉRMICO

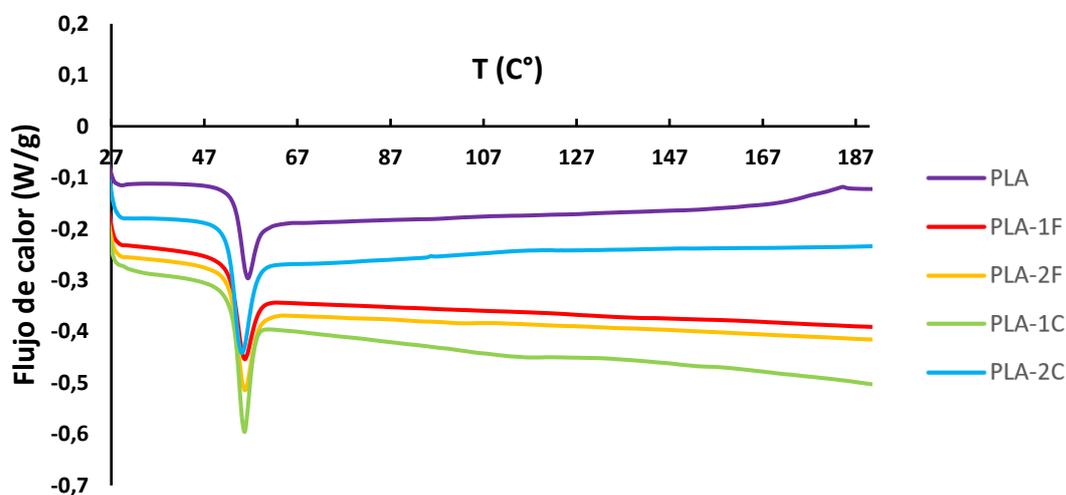
Se caracterizó el comportamiento térmico de las distintas formulaciones empleando las técnicas de DSC y TGA. Se muestran los valores de las temperaturas de transición vítrea (primer y segundo calentamiento) y degradación térmica en la **Tabla 4.4**.

**Tabla 4.4.** Valores promedio y desviaciones estándar de la temperatura de transición vítrea del primer barrido ( $T_{g1}$ ), del segundo barrido ( $T_{g2}$ ), temperatura de inicio de la degradación térmica ( $T_{onset}$ ) y temperatura del máximo de degradación térmica ( $T_{max}$ ) de todas las formulaciones.

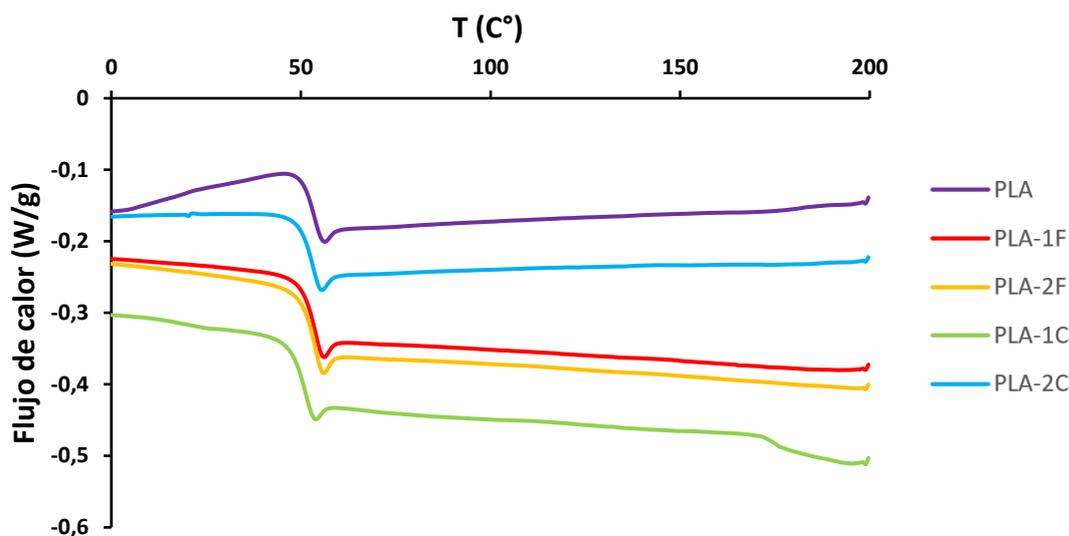
Formulación	$T_{g1}$ (°C)	$T_{g2}$ (°C)	$T_{onset}$ (°C)	$T_{max}$ (°C)
PLA	$54,1 \pm 0,9^B$	$52,33 \pm 0,08^A$	$265 \pm 3^A$	$309 \pm 1,3^A$
PLA-1F	$52,3 \pm 0,2^A$	$52,6 \pm 0,6^A$	$280 \pm 8^B$	$320 \pm 5^B$
PLA-2F	$52,7 \pm 0,2^A$	$50,0 \pm 2,0^A$	$281 \pm 7^B$	$319 \pm 4^B$
PLA-1C	$52,12 \pm 0,12^A$	$51,6 \pm 1,8^A$	$292,3 \pm 0,6^{BC}$	$326,2 \pm 0,3^{BC}$
PLA-2C	$51,74 \pm 0,02^A$	$51,6 \pm 0,2^A$	$299 \pm 2^C$	$329,5 \pm 0,2^C$

Distintos superíndices (<sup>ABCDE</sup>) en una misma columna señalan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre formulaciones.

Los termogramas correspondientes al primer y segundo barrido del DSC se muestran en las **Figuras 4.4 y 4.5**. En el primer barrido se observa un endotermo de relajación de la matriz después de la transición vítrea, relacionado con el denominado envejecimiento de la matriz, tal como describen otros autores (Muller et al. 2017), que desaparece en el segundo barrido debido a la fusión reciente del polímero en el primer calentamiento. La pequeña diferencia observada en la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) del PLA puro en el primer calentamiento puede atribuirse a la historia térmica del material y la evolución de la estructura con el tiempo, (envejecimiento). En el segundo barrido, la historia térmica se borra con el fundido de la muestra en el primer barrido, y permite una mejor comparación entre muestras. Los valores de  $T_g$  obtenidos no estuvieron afectados por la incorporación de los ácidos fenólicos y fueron muy similares a los obtenidos en otros estudios para el mismo tipo de PLA amorfo (Collazo et al. 2019) sometido a termoprocesado. Por tanto, desde el análisis térmico, tampoco se deduce un efecto plastificante ni de entrecruzado de los ácidos fenólicos en la matriz de PLA.



**Figura 4.4.** Curvas DSC de las distintas formulaciones en el primer barrido de calentamiento



**Figura 4.5.** Curvas DSC de las distintas formulaciones en el segundo barrido de calentamiento

Las **Figuras 4.6 y 4.7** muestran la evolución de la masa de las muestras frente a la temperatura y su primera derivada, respectivamente, obtenida en el ensayo de TGA. Como puede observarse en ambas figuras, se detectó un efecto termo-protector de la incorporación de ambos ácidos fenólicos. Las temperaturas correspondientes a la máxima velocidad de degradación ( $T_{max}$ ) aumentaron entre 10 y 20 °C, mientras que las temperaturas iniciales de degradación aumentaron en mayor medida (**Tabla 4.4**). Los valores de  $T_{onset}$  y  $T_{max}$  del PLA puro fueron del mismo orden que los encontrados por otros autores para el mismo tipo de PLA amorfo termoprocesado (Collazo et al. 2019) y algo inferiores a los encontrados para el mismo tipo de PLA procesado por casting (Muller, 2017). Este efecto ha sido observado por otros autores para la termo-degradación del PLA termoprocesado y se atribuye al efecto de hidrólisis parcial de las cadenas durante el tratamiento térmico (Tin & Tuen, 2019).

La temperatura de degradación térmica está afectada por la estructura de la matriz (peso molecular del polímero, grado de cristalinidad, etc.). En general, un incremento en la compacidad de la matriz (mayor peso molecular o mayor cristalinidad) lleva asociada una mayor resistencia térmica. El efecto termo-protector de los ácidos fenólicos podría estar relacionado con las interacciones de los mismos con los grupos polares terminales de la cadena que podrían estar implicados en los mecanismos de degradación térmica. Para el ácido cinámico, este efecto protector fue más marcado y se potenció con el aumento de concentración. Dado que el PLA amorfo utilizado no presentó cristalinidad (ausencia del pico de fusión) y la matriz amorfa presentó la misma temperatura de transición vítrea en todos los casos, el efecto protector de los ácidos fenólicos podría atribuirse a una protección química asociada con su efecto antioxidante que limita la cinética de las reacciones degradativas del polímero mediante la captación de radicales libres que se forman a partir de los 250°C (Nicolae et al., 2008).

La degradación térmica del PLA ha sido estudiada por diferentes autores que apuntan una despolimerización vigorosa con formación de compuestos con  $-OH$ , como el agua,  $CO_2$ , éteres alifáticos, hidrocarburos con simples y dobles enlaces y cíclicos y compuestos carbonílicos (Wang et al., 2011). Los ácidos fenólicos presentes podrían actuar moderando estos procesos oxidativos debido a su poder antioxidante.

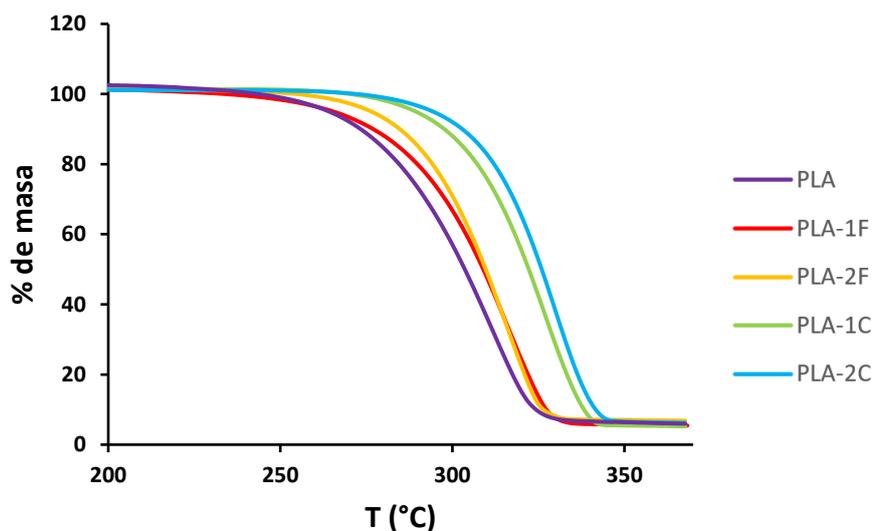


Figura 4.6. Curva de pérdida de % de masa en función de la de la temperatura.

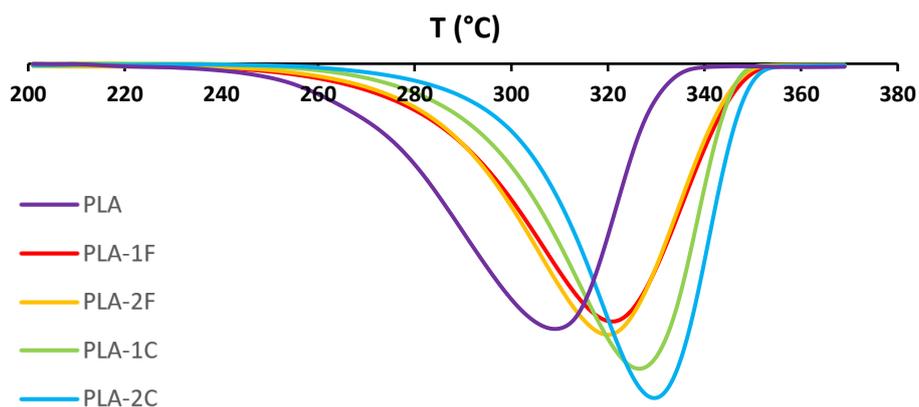


Figura 4.7. Derivada de la curva de pérdida de peso en función de la temperatura.

#### 4.5. RECUPERACIÓN DEL COMPUESTO ACTIVO

La **Tabla 4.5** muestra los resultados de la recuperación de compuesto activo para las diferentes formulaciones de las películas. La recuperación parece verse favorecida cuando el ácido se encuentra presente en la menor proporción, y se redujo de manera significativa al aumentar la concentración de ácido cinámico. En cuanto a las formulaciones que incorporan AF, no hubo un efecto significativo de la concentración, aunque se observa la misma tendencia. Esto puede deberse a una ligera degradación del ácido durante el procesado térmico que progresa en mayor proporción cuanto mayor es su concentración en el medio. Según Pacheco (2015) a temperaturas superiores a los 135 °C comienzan a observarse pérdidas de AF, que se estarían traduciendo en una menor recuperación de este compuesto. No obstante, teniendo en cuenta la baja concentración de compuesto activo incorporada (1 y 2 %) y su posible distribución heterogénea en el film por mezclado en fundido, los porcentajes de recuperación obtenidos son muy altos y permiten pensar en una buena disponibilidad del activo para

su función antioxidante o antimicrobiana. Son necesarios estudios de la cinética de liberación del mismo en diferentes simulantes alimentarios para verificar su disponibilidad.

**Tabla 4.5.** Valores promedio y desviaciones estándar del porcentaje de recuperación del compuesto activo en todas las formulaciones.

<b>FORMULACIÓN</b>	<b>RECUPERACIÓN COMPUESTO ACTIVO (%)</b>
<b>PLA-1F</b>	92 ± 3 <sup>B</sup>
<b>PLA-2F</b>	89 ± 3 <sup>AB</sup>
<b>PLA-1C</b>	98 ± 2 <sup>C</sup>
<b>PLA-2C</b>	85 ± 2 <sup>A</sup>

Distintos superíndices (<sup>ABCDE</sup>) en una misma columna señalan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre formulaciones.

## 5. CONCLUSIÓN

En el presente trabajo se han formulado y obtenido películas de PLA con 1 y 2 % de AC y AF, mediante mezclado en fundido y moldeo por compresión. La incorporación de los ácidos provocó un ligero descenso de la rigidez de las películas, su resistencia a la fractura y su extensibilidad, con respecto a las películas de PLA puro, obteniendo films más frágiles. La permeabilidad al oxígeno disminuyó ligeramente con la incorporación de los ácidos al 2 % y también se observó una mejora de las propiedades de barrera al vapor de agua. La incorporación de los ácidos provocó un color ligeramente más amarillo y saturado en los films, especialmente con AF al 2 %, probablemente debido a los compuestos de degradación del ácido. No se observaron cambios en las transiciones de fase del PLA por la incorporación de los ácidos, mostrando una transición vítrea a aproximadamente 50°C. No obstante, la incorporación de los ácidos tuvo un efecto termo-protector que incrementó la temperatura de inicio de degradación térmica de todas las formulaciones, tanto mayor cuanto mayor fue la concentración. Este efecto termo-protector fue más marcado para el ácido cinámico. Esto supone ventajas para el procesado ya que ofrece una mayor ventana térmica. El porcentaje de recuperación del compuesto activo de los films fue alto y ligeramente mayor en las formulaciones que contenían la menor concentración de ácido. En base a estos resultados, la adición de estos ácidos en la formulación de películas de PLA se postula como una interesante alternativa biodegradable y funcional para el envasado alimentario, siendo necesaria la comprobación de la capacidad antioxidante y antimicrobiana de los films. Con las características observadas, los materiales obtenidos serían adecuados para el envasado de alimentos en los que la permeabilidad al oxígeno no sea crítica, pero que requieran una barrera elevada al vapor de agua. Podría emplearse en envases que requieran una resistencia mecánica alta y un aspecto transparente u opaco. Como objetivo en investigaciones futuras, se propone el diseño y estudio de multicapas que aporten la barrera al oxígeno, además de pruebas microbiológicas que comprueben la actividad antimicrobiana de los ácidos incorporados, tanto *in vivo* como *in vitro*.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

ARMENTANO, I.; BITINIS, N.; FORTUNATI, E.; MATTIOLI, S.; RESCIGNANO, N.; VERDEJO, R.; LÓPEZ-MANCHADO, M.A. & KENNY, J.M. (2013). Multifunctional nanostructured PLA materials for packaging and tissue engineering. *Progress in Polymer Science*. Vol. 38, No. 10-11, p. 1720-1747.

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. F1927-07. West Conshohocken: ASTM International.

AZEREDO, H. M. C., & WALDRON, K. W. (2016). Crosslinking in polysaccharide and protein films and coatings for food contact – A review. *Trends in Food Science & Technology*. Vol. 52, p. 109–122.

CETIN-KARAKA, H. & NEWMAN, M. (2015). Antimicrobial efficacy of plant phenolic compounds against Salmonella and Escherichia Coli. *Food Bioscience*. Vol. 11, p. 8-16.

CHOI, I., LEE, S. E., CHANG, Y., LACROIX, M., & HAN, J. (2018). Effect of oxidized phenolic compounds on cross-linking and properties of biodegradable active packaging film composed of turmeric and gelatin. *Lwt*, vol. 93, p. 427–433.

COLLAZO BRIGLIARDI, S. (2019). Lignocellulosic fractions from rice and coffee husks to improve functionality of films based on starch and polylactic acid. Tesis. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia e Instituto de Ingeniería de Alimentos.

COLLAZO-BIGLIARDI, S.; ORTEGA-TORO, R.; CHIRALT, A. (2019). Using grafted poly(epsilon-caprolactone) for the compatibilization of thermoplastic starch-polylactic acid blends. *Reactive & Functional Polymers*. Vol. 142, p. 25-35.

COSTA DE CAMARGO, A.; BISMARA REGITANO-D'ARCE, M. A.; BOSCARIOL RASERA, G.; GUIDOLIN CANNIATTI-BRAZACA, S.; DO PARDO-SILVA, L.; ORTIZ ALVARENGA V.; SANT'ANA, A. S. & SHAHIDI, F. (2017) Phenolic acids and flavonoids of peanut by-products: Antioxidant capacity and antimicrobial effects. *Food Chemistry*. Vol. 237, p. 538-544.

FABRA, M.J., HAMBLETON, A., TALENS, P., DEBEAUFORT, F., CHIRALT, A. (2011). Effect of ferulic acid and  $\alpha$ -tocopherol antioxidants on properties of sodium caseinate edible films. *Food Hydrocolloids*. Vol. 25, p. 1441-1447.

FOOD PACKAGING FORUM (2016). Materiales de envasado alimentario. <<https://www.foodpackagingforum.org/es/ensado-de-alimentos-y-salud/materiales-de-ensado-alimentario>> [Consulta: 5 de mayo de 2020].

GHANBARZADEH, B. & ALMASI, H. (2017). Biodegradable polymers. No. 6, p. 141-185.

GUO, L.; QU, M.; JIN, J. & MENG, H. (2019). Solubility of cinnamic acid in supercritical carbon dioxide and subcritical 1,1,1,2-tetrafluoroethane: Experimental data and modelling. *Fluid Phase Equilibra*. Vol. 480, p. 66-80

GUZMAN, A.; GNUTEK, N. & JANIK, H. (2011). Biodegradable polymers for food packaging – factors influencing their degradation and certification types – a comprehensive review. *Chemistry and Chemical Technology*, vol. 5, No. 1.

HAGER, A. S., VALLONS, K. J. R., & ARENDT, E. K. (2012). Influence of gallic acid and tannic acid on the mechanical and barrier properties of wheat gluten films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 60, p. 6157–6163.

HUTCHINGS, J.B. (1999). Food and colour appearance, second edition. Gaithersburg, Maryland: Chapman and Hall Food Science Book, Aspen Publication.

KALE, G.; KIJCHAVENGKUL, T.; AURAS, R.; RUBINO, M.; SELKE, S.E. & SINGH, S.P. (2007). Compostability of bioplastic packaging materials: An overview. *Macromolecular Bioscience*. Vol. 7, No. 3, p. 255-277.

LATTANZIO, V.; DE CICCO, DI VENERE, D.; V.; LIMA, G. & SALERNO, M. (1994). Antifungal activity of phenolics against fungi commonly encountered during storage. *Italian Journal of Food Science*. Vol. 1, p. 23-30.

LETSIDIDI, K. S.; LOU, Z.; LETSIDIDI, R.; MOHAMMED, K. & MAGUY, B. L. (2018) Antimicrobial and antibiofilm effects of trans-cinnamic acid nanoemulsion and its potential application on lettuce. *LWT – Food Science and technology*. Vol. 94, p. 25-32.

LIMA, V.; CÍCERA D.; SANTOS, E.; MORAIS, L.; TINTINO, S.; FREITAS, T.; GERALDO, Y.; PEREIRA, R.; CRUZ, R.; MENEZES, I. & COUTINHO, H. (2016). Antimicrobial and enhancement of the antibiotic activity by phenolic compounds: Gallic acid, caffeic acid and pyrogallol. *Microbial Pathogenesis*. Vol. 99, p. 56-61.

LÓPEZ DE DICASTILLO BÉRGAMO, A. C. (2011). Desarrollo y caracterización de polímeros activos hidrofílicos para el envasado de alimentos. Tesis. Valencia: IATA-CSIC y Universidad Politécnica de Valencia.

MAKISHI, G. L. A., LACERDA, R. S., BITTANTE, A. M. Q. B., CHAMBI, H. N. M., COSTA, P. A., GOMIDE, C. A., CARVALHO, R. A., & SOBRAL, P. J. A. (2013). Films based on castor bean (*Ricinus communis* L.) proteins crosslinked with glutaraldehyde and glyoxal. *Industrial Crops and Products*. Vol. 50, p. 375–382.

MALATHI, A.N.; SANTHISH, K.S. & UDAYKUMAR, N. (2014). Recent trends of Biodegradable polymer: Biodegradable films for Food Packaging and application of Nanotechnology in Biodegradable Food Packaging. *Current Trends in Technology and Science*, vol. 3, issue 2, p. 73-79.

MEIRA, N. V.; HOLLEY, R.; BORDIN, K. & MACEDO, R. (2017) Combination of essential oil compounds and phenolic acids against *Escherichia coli* O157:H7 in vitro and in dry-fermented sausage production. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 260, p. 59-64.

MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN (2019). Informe del consumo alimentario en España 2018. <<https://www.mapa.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/panel-de-consumo-alimentario/ultimos-datos/default.aspx>> [Consulta: 10 de mayo de 2020].

MIYAUGE, L.; MACEDO, R.; MECA, G.; HOLLEY, R. & LUCIANO, F. (2015). Combination of phenolic acids and essential oils against *Listeria monocytogenes*. *LWT – Food Science and Technology*. Vol. 64, No. 1, p. 333-336.

MORENO MARRO, O. (2017). Starch-Protein active films for food preservation. Tesis. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia.

MULLER, J. (2017). Active films for food packaging based on poly(lactic) acid and starch. Tesis. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia.

NICOLAE, C.; ANCA GRIGORESCU & N. AUGUSTA GABOR, R. (2008) An Investigation of Thermal Degradation of Poly (Lactic Acid). *Engineering Letter*. November, p. 5-8.

OISHI, K.; YAMAMOTO, S.; OIKE, H.; OHKURA, N. & TANIGUCHI, M. (2017). Cinnamic acid shortens the period of the circadian clock in mice. *Biochemistry and Biophysics Reports*. Vol. 9, p. 232-237.

PACHECO, M. I. (2015). Obtención de ácido ferúlico a partir de un concentrado de la hidrólisis alcalina del maíz. Tesis. México: Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo.

PASTOR, C.; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; CHÁFER, M.; CHIRALT, A. & GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. (2010). Physical and antifungal properties of hydroxypropylmethylcellulose based films containing propolis as affected by moisture content. *Carbohydrate Polymers*. Vol. 82, No. 4, p. 1174-1183.

REQUENA PERIS, R. (2018). Multilayer biodegradable active films based on PHBV for food packaging. Tesis. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia.

SÁNCHEZ VILLANUEVA, R. (2011). Recubrimientos comestibles a base de caseinato sódico con capacidad antioxidante. Tesis. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia.

SGAPS (SUBSECRETARÍA DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN). (2014). "Diagnóstico del Sector Residuos en España". Vol. 7

TIN, L. T. & TUEEN, B. S. (2019). Degradation and Stability of Poly(Lactic Acid). *Poly(lactic Acid) (Second Edition)*. USA: Plastics Design Library. P. 227-272.

VERT, M.; DOI, Y.; HELLWICH, K.; HESS, M.; HODGE, P.; KUBISA, P.; RINAUDO, M. & SCHUÉ, F. (2012). Terminology for biorelated polymers and applications. *Pure and Applied Chemistry*. Vol. 84, No. 2, p. 377-410.

WANG, X., HU, Y., SONG, L., XUAN, S., XING, W., BAI, Z. & LU, H. (2011). Flame Retardancy and Thermal Degradation of Intumescent Flame Retardant Poly(lactic acid)/Starch Biocomposites. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. Vol. 50, p. 713-720.

XIAO, L.; WANG, B.; YANG, G. & GAUTHIER, M. (2012). Poly(Lactic-acid)-Based Biomaterials: Synthesis, Modification and Applications. *Biomedical Science, Engineering and Technology*. Vol. 11, p. 247-281.

XIE, F.; POLLET, E.; HALLEY, P. J. & AVÉROUS, L. (2013). Starch-based nano-biocomposites. *Progress in Polymer Science*. Vol. 38, No. 10-11, p. 1590-1628.