



FILMS BICAPA DE ALMIDÓN – POLICAPROLACTONA CON POTENCIAL EFECTO BIOACTIVO OBTENIDOS MEDIANTE MOLDEO POR COMPRESIÓN

MÁSTER EN CIENCIA E INGENIERÍA DE LOS ALIMENTOS

Presentado por:
Iris Morey Serra

Directores académicos:
Amparo Chiralt Boix
Pau Talens Oliag

Director experimental:
Rodrigo Ortega-Toro

FILMS BICAPA DE ALMIDÓN – POLICAPROLACTONA CON POTENCIAL EFECTO BIOACTIVO OBTENIDOS MEDIANTE MOLDEO POR COMPRESIÓN

Iris Morey, Rodrigo Ortega-Toro, Pau Talens, Amparo Chiralt

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue estudiar la influencia del ácido ascórbico (AA) y el sorbato de potasio (SP) sobre las propiedades estructurales, térmicas, fisicoquímicas y estabilidad con el tiempo, de films bicapa a base de almidón de maíz y policaprolactona, obtenidos mediante moldeado por compresión. Se elaboraron un total 6 films bicapa. En todos los casos, una capa estaba formada por PCL puro, mientras que la otra estuvo constituida por almidón (S), o por una matriz a base de almidón con 5% de PCL (S95), sin adición o con adición de AA o SP. Se encontraron cambios entre las formulaciones S y S95 debidas a la mayor heterogeneidad de la matriz S95 y al establecimiento de interacciones más intensas en la interfase S95-PCL, que provocaron una mayor permeabilidad al agua (WVP) y al oxígeno (OP) de dichos films, además de una mayor elasticidad y menor rigidez, brillo, contenido de humedad y solubilidad en agua. Por otra parte, se vio como la formación de los films bicapa supone una serie de ventajas frente a los films monocapa: WVP y OP muy bajas, reducción del fenómeno de retrogradación y una mayor conservación de las propiedades mecánicas con el tiempo. En general, AA no consiguió cambios relevantes en ninguna propiedad, pero SP provocó un importante descenso en el inicio de degradación térmica del almidón y de PCL, una reducción de la WVP y de la OP y un aumento del brillo. Además, las condiciones de trabajo del segundo prensado del moldeado por compresión parecen no afectar a la estabilidad térmica de ninguno de los dos bioactivos.

PALABRAS CLAVE: almidón, policaprolactona, films bicapa, propiedades físicas, moldeado por compresión, bioactivos

RESUM

L'objectiu d'aquest treball va ser estudiar la influència de l'àcid ascòrbic (AA) i el sorbat de potassi (SP) sobre les propietats estructurals, tèrmiques, fisicoquímiques, i estabilitat amb el temps de films bicapa constituïts per midó de dacsa i policaprolactona obtinguts mitjançant un procés de moldeig per compresió. Per tal d'aconseguir-ho, es varen preparar un total de 6 films bicapa. En tots els casos, una de les capes estava formada per PCL pur, mentre que l'altra capa estava constituïda per midó (S), o per una matriu a base de midó amb un 5% de PCL (S95). Es detectaren canvis entre les formulacions del grup S i del S95 deguts a la major heterogeneïtat de la matriu S95 i a l'establiment d'interaccions més intenses en la interfase S95-PCL, que van resultar en una major permeabilitat a l'aigua (WVP) i a l'oxigen (OP) d'aquests films, a més d'una major elasticitat i menor: rigidesa, brillantor, contingut

d'humitat i solubilitat en aigua. Per altra banda, es va veure com la formació dels films bicapa suposa una sèrie d'avantatges front als films monocapa: WVP i OP molt baixes, reducció del fenomen de retrogradació i una major conservació de les propietats mecàniques amb el temps. En general, AA no va aconseguir canvis rellevants sobre cap propietat, però SP va provocar una important disminució de l'inici de la degradació tèrmica del midó i de PCL, una reducció de la WVP i de la OP i un augment de la brillantor. A més, les condicions de treball del segon prensat del moldeig per compressió semblen no afectar la estabilitat tèrmica de cap dels dos bioactius.

PARAULES CLAU: midó, policaprolactona, films bicapa, propietats físiques, moldeig per compressió, bioactius

ABSTRACT

The aim of this work was to study the effect of ascorbic acid (AA) and potassium sorbate (SP) on structural, thermal, physicochemical properties, and stability during time, of bilayer corn starch and polycaprolactone based films, obtained by a compression-molding process. For this purpose, 6 bilayer films were prepared. In all cases, one layer was formed by pure PCL, while the other one was formed either by starch (S) or a starch-based matrix with a 5% PCL (S95), with or without AA or SP. Some changes were found between S and S95 formulations due to the higher heterogeneity of S95 matrix and stronger interactions in S95-PCL interphase, which caused higher WVP and OP in these films, higher elongation and less: rigidity, gloss, humidity content and water solubility. On the other hand, it was observed that bilayer films formation led to some advantages in comparison to monolayer films: very low WVP and OP, reduction of the retrogradation phenomenon and higher conservation of mechanical properties during time. In general, AA did not show relevant changes on any property, but SP caused a significant drop of starch thermal degradation, a decrease of WVP and OP and a gloss increase. Furthermore, work conditions of the second stage in compression-molding process seem not to affect the bioactives thermal stability.

KEY WORDS: starch, polycaprolactone, bilayer films, physical properties, compression-molding, bioactive agents

1. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, ha aumentado considerablemente el número de investigaciones centradas en el diseño y en la mejora de las propiedades de plásticos basados en polímeros naturales, con el fin de reemplazar o sustituir parcialmente a aquellos derivados directamente del petróleo. Algunos polisacáridos, como el almidón, ofrecen una solución eficiente y de bajo coste que podría minimizar el impacto ambiental de envases, recipientes, bolsas, y demás productos plásticos (Bastioli, 2001).

El almidón es uno de los recursos renovables más abundantes del mundo, y podría utilizarse en la preparación de films biodegradables aplicables en el envasado de alimentos, ya que es capaz de formar una matriz continua con alta barrera al oxígeno (Zhang *et al.*, 2014). Sin embargo, la degradación del almidón puro (320 °C) se inicia a temperaturas inferiores a la de fusión (Matzinos *et al.*, 2002; BeMiller & Whistler, 2009), lo que impide la obtención de estos films con la tecnología convencional de plásticos actual. Por este motivo, el almidón nativo debe ser modificado previamente a almidón termoplástico (TPS). Según Jiménez *et al.* (2012) existen numerosos métodos para conseguir dicha conversión. Los más utilizados son los “métodos húmedos”, los cuales consiguen la gelatinización del almidón mediante el uso de agua en grandes cantidades y a altas temperaturas, seguida de una etapa de *casting* en superficies niveladas, y de una etapa de secado en condiciones controladas de humedad relativa y temperatura. Sin embargo, los tiempos de secado son elevados lo que no permite su aplicación a nivel industrial. Por ello, los denominados “métodos secos” suponen una alternativa innovadora para la producción de TPS. Algunos ejemplos son: la extrusión, el moldeo por inyección, el moldeo por compresión y la extrusión reactiva (Liu *et al.*, 2009). En ellos, la disrupción de los gránulos de almidón se produce principalmente por factores mecánicos, pues éstos son sometidos a condiciones de alta cizalla y presión, y bajo contenido de humedad (Matzinos *et al.*, 2002).

Por otra parte, los films de almidón presentan algunas desventajas que reducen las posibilidades de producción industrial. Su carácter hidrofílico, sus pobres propiedades mecánicas y la retrogradación que se produce durante el almacenamiento, conducen a la necesidad de asociar el TPS con otros biopolímeros. Los poliésteres alifáticos, como la policaprolactona (PCL), el ácido poliláctico (PLA), el ácido poliglicólico (PGA) y el polihidroxibutirato (PHB) son algunos ejemplos de materiales biodegradables sintéticos que podrían ser usados con este fin. Entre ellos, destaca la PCL, pues posee baja permeabilidad al vapor de agua además de una elongación al punto de ruptura y fuerza de tensión bastante altas, aunque posee bajo módulo de elasticidad (Avérous *et al.*, 2000).

Se ha demostrado que la adición de PCL a matrices a base de almidón, mejora su procesabilidad y rigidez, promueve su biodegradación y reduce el coste del material final. Sin embargo, las mezclas de almidón/PCL obtenidas mediante mezclado de los dos polímeros se ven limitadas por la falta de adhesión entre ambas matrices, lo que resulta en débiles propiedades mecánicas y de barrera del producto final (Avella *et al.*, 2000).

Por otra parte, la interacción entre el polisacárido y el biopolímero puede realizarse en términos de films multicapa. En la actualidad, los films multicapa ya se emplean en multitud de envases de alimentos (pasta, verduras...),

aunque generalmente están formadas por capas de distintos polímeros no biodegradables derivados del petróleo (Fang *et al.*, 2005; Mensitieri *et al.*, 2011). Estos films laminados combinan las propiedades de sus materiales de partida en una única estructura multicapa (Fabra *et al.*, 2013). Aprovechando estas premisas, se podrían conseguir films multicapa de almidón/PCL que podrían complementar al mismo tiempo las excelentes propiedades barrera al oxígeno del almidón y la hidrofobicidad de la PCL. En la bibliografía, ya pueden encontrarse algunos ejemplos de multicapas de almidón/PCL, obtenidos mediante coextrusión (Wang *et al.*, 2000; Avérous, 2004; Alix *et al.*, 2013; Takala *et al.*, 2013).

Los films biodegradables y los recubrimientos comestibles que incluyen agentes antioxidantes y antimicrobianos en su formulación han sido también ampliamente estudiados (Bonilla *et al.*, 2012). En la mayoría de los casos, estos bioactivos son añadidos haciendo uso de “métodos húmedos”, como el *casting*, comentados anteriormente (Famá *et al.*, 2005; Gómez-Guillén *et al.*, 2007; Jiménez *et al.*, 2013; Cian *et al.*, 2014). El *casting* tiene la ventaja de que se realiza a temperatura ambiente, de manera que los bioactivos no sufren ningún tipo de degradación térmica. Sin embargo, los “métodos secos” deberían ser también considerados como opción, debido a su mayor eficiencia y practicidad. En la actualidad, son muy pocos los trabajos que pueden encontrarse en este sentido, pero los resultados de Wook *et al.* (2013) adelantan como el moldeo por compresión produce bajas pérdidas del resveratrol total y del α -tocoferol de sus films de almidón y poli(L-ácido láctico) (20% de pérdida, a 200 °C y 50 kg · cm⁻² de presión), a pesar de trabajar a altas temperaturas.

Con la finalidad de reducir la degradación de los agentes antimicrobianos y antioxidantes incorporados a los films, en el presente trabajo se propone una modificación de las condiciones de trabajo del proceso de moldeo por compresión, que se utilizará en la obtención de films multicapa a base de almidón y PCL. El objetivo de este trabajo es el estudio de la influencia de ácido ascórbico y del sorbato de potasio (Figura 1) en las propiedades estructurales, térmicas, fisicoquímicas, y la estabilidad durante el tiempo, de films bicapa constituidos por almidón y PCL obtenidos mediante un proceso de moldeo por compresión en dos etapas.

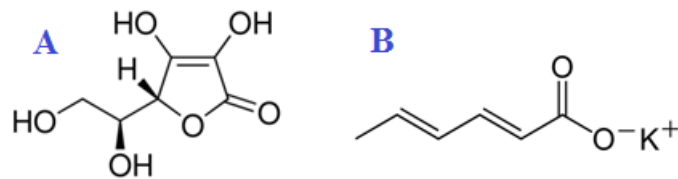


Figura 1. Estructura química del ácido ascórbico (A) y del sorbato potásico (B).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materiales

Para la elaboración de los films se trabajó con almidón de maíz (Roquette Laisa España, Benifaió, España), glicerol (Panreac Química S.A., Castellar del Vallés, Barcelona), y policaprolactona (Aldrich Chemistry, Sigma-Aldrich Co.

LLC Madrid, España). Como agente antimicrobiano se utilizó sorbato de potasio, y como agente antioxidante se empleó ácido ascórbico. Para el acondicionamiento de los films se utilizaron sales saturadas de nitrato de magnesio 6-hidrato, cloruro de sodio y pentóxido de fósforo. Estos materiales fueron suministrados por Panreac Química, S.A. (Castellar del Vallés, Barcelona, España).

2.2 Preparación de las formulaciones y de las disoluciones de bioactivo

Inicialmente se prepararon 2 formulaciones con distinta relación almidón:PCL (1:0 y 1:0.05), a las cuales se adicionaron glicerol y agua en una proporción respecto al almidón de 1:0.3 y 1:0.5, respectivamente. Se denominó a cada formulación como S (100% almidón) y S95 (95% almidón y 5% PCL).

Las disoluciones de ácido ascórbico (AA) y de sorbato potásico (SP) se prepararon calculando la cantidad de bioactivo necesaria para que al adicionar 1 mL de disolución, el bioactivo presente fuera el 10% del almidón contenido en los films. Estas disoluciones, obtenidas de forma diaria, se mantuvieron protegidas de la luz y del oxígeno durante su preparación.

2.3 Obtención de los films

Para la obtención de los films, se utilizó una mezcladora μ -Scientific de dos rodillos de sobremesa (Modelo LRM-M-100, LABTECH Engineering, Tailandia). Se seleccionaron condiciones de temperatura diferentes para cada rodillo: 160 °C para el rodillo delantero, y 155 °C para el trasero. La velocidad de los rodillos fue de 8 rpm. El proceso de mezclado se realizó durante 30 minutos, utilizando las palas de bambú aportadas con el equipo, para garantizar la fusión y mezcla de las formulaciones: S y S95. Posteriormente, se almacenaron las pastas durante 48 h a 25 °C, en un desecador al 75% de humedad relativa (HR), utilizando para ello una disolución saturada de cloruro de sodio.

Transcurrido ese tiempo, se realizó el prensado de la pasta en una prensa hidráulica μ -Scientific de sobremesa (Modelo LP20, LABTECH Engineering, Tailandia), obteniendo así los films monocapa. Para conseguir un mayor control del espesor y de la extensibilidad de los films, se usó un molde de teflón de 135 μ m de espesor y 16.2 cm de diámetro.. Las condiciones de trabajo de este primer prensado fueron las siguientes: a) precalentamiento a 160 °C durante 5 min, b) prensado durante 2 min a 50 bares, c) prensado durante 6 min a 150 bares y, d) enfriamiento durante 3 min.

Tras la obtención de cada monocapa, se procedió a la realización del segundo prensado. Con el fin de lograr una mayor adhesión en su interfase, se pulverizó: 1 mL de agua bidestilada, ó 1 mL de disolución de AA, ó 1 mL de disolución de SP (según la formulación) sobre el film de almidón, y se depositó el film de PCL sobre la anterior, homogenizando la superficie mediante una ligera presión con una varilla de vidrio. Después, se colocaron las dos capas ya adheridas en el molde de teflón y se prensaron con las siguientes condiciones de trabajo: a) prensado a 80 °C durante 4 min a 150 bares, b) enfriamiento durante 2 min.

Los films bicapa resultantes fueron almacenados en desecadores herméticos a 25°C y 53% HR durante 1 semana para caracterizar el tiempo inicial y durante 5 semanas para caracterizar el tiempo final. En total, se prepararon 6

formulaciones diferentes de films bicapa, denominadas según el siguiente esquema: S-H₂O, S-AA, S-SP, S95-H₂O, S95-AA, S95-SP.

2.4 Caracterización de los films

2.4.1 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

Se obtuvieron imágenes transversales de los films mediante un microscopio electrónico de barrido JEOL modelo JSM-5410 (Japón). Las muestras se acondicionaron durante 1 y 5 semanas en nitrato de magnesio, y 1 semana antes de su análisis se acondicionaron en pentóxido de fósforo para eliminar el exceso de agua. A continuación, se fracturaron en trozos más pequeños después de haber sido congeladas con nitrógeno líquido, y se montaron en portas de cobre mediante cinta adhesiva de doble cara. Las muestras se recubrieron con oro y se observaron usando un voltaje de aceleración de 10 kV. Se estudió cada formulación por duplicado.

2.4.2 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA CON TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Con el fin de estudiar la presencia de interacciones entre los componentes de los films acondicionados, se usó la espectroscopía infrarroja con Transformada de Fourier en el modo de Reflexión Total Atenuada (ATR-FTIR). Las medidas se llevaron a cabo a 25 °C usando un espectrómetro Tensor 27 mid-FTIR Bruker (Bruker, Karlsruhe, Alemania) equipado con una celda óptica de Platino ATR y un detector RT-D1a TGS (Bruker, Karlsruhe, Alemania). Se dispuso el diafragma a 4 mm durante los análisis, y la velocidad de escaneo fue de 10 kHz. Se usó aire como referencia, y se realizaron las medidas entre 4000 y 800 cm⁻¹, con una resolución de 4 cm⁻¹. Estos datos fueron tratados usando el software OPUS (Bruker, Karlsruhe, Alemania). Los espectros de absorbancia iniciales se suavizaron usando el algoritmo de Savitsky-Golay de 9 puntos, y se aplicó una corrección de la línea base elástica de 200 puntos. Finalmente, los espectros se centraron y se normalizaron con el software OPUS.

2.4.3 PROPIEDADES TÉRMICAS

La degradación térmica de los films y de los bioactivos se evaluó con un analizador termogravimétrico TGA 1 Star[®] System (Mettler-Toledo Inc., Suiza), con una ultra-micro balanza incorporada ($\pm 0.1 \mu\text{g}$), realizando el siguiente programa de temperaturas para los bioactivos puros: 25 a 600 °C a una velocidad de 10 °C/min, y de 25 a 500 °C con una rampa de 10 °C/min para los films, en una atmósfera de nitrógeno. Se pesaron entre 2 - 4 mg de cada muestra, y se realizaron un mínimo de dos determinaciones para cada una. La temperatura de inicio de la degradación (Onset) y la temperatura del pico (Peak), se determinaron a partir de la primera derivada de las curvas masa-temperatura obtenidas, con el software STAR[®] Evaluation.

2.4.4 GROSOR DE LOS FILMS

El grosor de los films se midió con un micrómetro digital electrónico (Palmer–Comecta, España, +/- 0.001 mm) en 6 posiciones aleatorias para todas los films obtenidas.

2.4.5 CONTENIDO EN HUMEDAD (X_w)

Los films acondicionados al 53% HR y 25 °C durante 1 y 5 semanas se introdujeron en una estufa de convección natural (J.P. Selecta, S.A. Barcelona, España) a 60 °C durante 24 h, y posteriormente, se trasladaron a un desecador con pentóxido de fósforo (Panreac Química, S.A.) durante 8 días. Se anotó el peso inicial y final de cada muestra, siendo la diferencia la cantidad de agua absorbida durante el periodo de almacenamiento, expresando los resultados en base seca.

2.4.6 SOLUBILIDAD EN AGUA

Para medir la cantidad de film susceptible de ser disuelto en agua, se almacenaron muestras de cada formulación en un desecador hermético con pentóxido de fósforo (P_2O_5) durante 8 días a 25 °C. Transcurrido este tiempo, se introdujeron fragmentos de cada una de las muestras en crisoles de vidrio, y se añadió agua en una proporción film:agua de 1:9, realizándose por triplicado para cada formulación. Después de 2 días, los crisoles fueron trasladados a una estufa de convección natural durante 24 h a 60 °C para eliminar el agua libre. Por último, se trasladaron de nuevo al desecador de P_2O_5 durante 8 días para eliminar el agua ligada. Se tomó el peso inicial y final de la muestra, siendo la diferencia la masa de film disuelta en agua.

2.4.7 PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA (WVP)

La permeabilidad al vapor de agua (WVP) de los films se determinó mediante una modificación del método gravimétrico E96-95 (ASTM, 1995) propuesta por McHugh *et al.* (1993). Se emplearon copas de permeabilidad Payne (Elcometer SPRL, Hermelle/s Argenteau, Bélgica) de 3.5 cm de diámetro, en las que se introdujeron 5 mL de agua bidestilada, con el fin de exponer la cara de estudio del film a un 100% de HR. Las copas fueron introducidas en un desecador equilibrado con una disolución saturada de nitrato de magnesio (53% de HR a 25 °C) y éste, a su vez, en una cámara a una temperatura controlada a 25 °C. El estudio de la permeabilidad se realizó mediante controles de peso de cada copa con una balanza electrónica (± 0.0001 g) (ME36S Sartorius, Alemania) a intervalos de 1.5 h durante un periodo de tiempo de 24 h. En una primera aproximación, se estudió por separado la cara de la PCL y la cara del almidón de las formulaciones S-H₂O y S95-H₂O. Al no obtenerse diferencias significativas en el valor de WVP ($g \cdot mm \cdot kPa^{-1} \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$) de cada cara del film, las siguientes formulaciones se estudiaron exponiendo los films únicamente por la cara del almidón (la más desfavorable) al 100% de HR, y realizando cada ensayo por triplicado. Se consideró el espesor de cada film individual para los cálculos de permeabilidad.

2.4.8 PERMEABILIDAD AL OXÍGENO (OP)

Para determinar la permeabilidad al oxígeno de los films (OP), se utilizó un equipo Ox-Tran 1/50 (Mocon, Minneapolis, USA) a una temperatura de 25 °C y 53% de HR. Se consideró el método estándar D3985-95 (ASTM, 2002) y se realizaron al menos 3 medidas por cada formulación, teniendo en cuenta el espesor individual de cada film. Tal y como sucedió con el ensayo de WVP, la medida de la OP sólo se realizó por la cara más desfavorable (en este caso, la de PCL), ya que no hubo diferencias significativas entre los valores de OP de cada cara de los films.

2.4.9 PROPIEDADES MECÁNICAS

La capacidad de extensión de los films fue determinada con una prensa universal (TA.XT.plus model, Stable Micro Systems, Haslemere, Inglaterra) de acuerdo al método estándar D882-91 (ASTM, 1992). Para cada formulación, se cortaron muestras rectangulares (2.5 cm por 10 cm). Éstas se colocaron en unas pinzas para ensayos de tracción (modelo A/TG, Stable Micro Systems, Haslemere, Inglaterra). La separación inicial de las pinzas y la velocidad de elongación del film fueron 100 mm y 10 mm·s⁻¹, respectivamente. Las curvas fuerza-distancia obtenidas se transformaron en curvas de tensión (σ)-deformación de Henky (ϵ_H) que permitieron obtener los parámetros: módulo de elasticidad (EM), tensión de fractura (TS) y deformación en el punto de fractura (ϵ).

2.4.10 PROPIEDADES ÓPTICAS

El brillo se midió sobre la superficie de los films usando un brillómetro de superficie (Multi.Gloss 268, Minolta, Alemania), y considerando tres ángulos de incidencia 20°, 60° y 85° de acuerdo al método estándar D523 (ASTM, 1999). Las medidas se realizaron por ambas caras del film, y se consideraron tres films por formulación, en los que cada medida se hizo por triplicado. Los resultados se expresan como unidades de brillo en relación a una superficie pulida de cristal negro estándar que tiene un valor de brillo cercano a 100.

La transparencia de los films se determinó a partir de los espectros de reflexión (400-700 nm) medidos sobre fondo blanco y fondo negro, usando un espectrocolorímetro MINOLTA, modelo CM-3600d (Minolta Co., Tokio, Japón). Dicha medida se realizó por ambas caras del film. La teoría de Kubelka-Munk de dispersión múltiple se aplicó para obtener la transmitancia interna de los films (T_i), correlacionada con la transparencia de los mismos.

2.4.11 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los datos se realizó mediante el análisis de la varianza (ANOVA) utilizando el programa Statgraphics Plus para Windows 5.1 (Manugistics Corp., Rockville, MD). Para discernir entre las medias se utilizó el procedimiento de las menores diferencias significativa de Fisher con un nivel de confianza del 95 %.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Propiedades estructurales

3.1.1 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

En la Figura 2 se muestran las micrográficas correspondientes a la sección transversal de films bicapa de las siguientes formulaciones: S-H₂O, S-AA y S-SP. En la micrografía A, a menor ampliación, se distingue la capa de PCL (parte superior), la interfase y la capa de almidón (parte inferior), y además es posible apreciar la diferencia de grosor entre ambas capas. En las siguientes micrográficas (B, C, D), más ampliadas, se pone de manifiesto la existencia de puntos de unión en la interfase de ambos polímeros, constituidos por la interpenetración de “fibrillas” de PCL hacia la capa de almidón, producidos durante la etapa de segundo prensado.

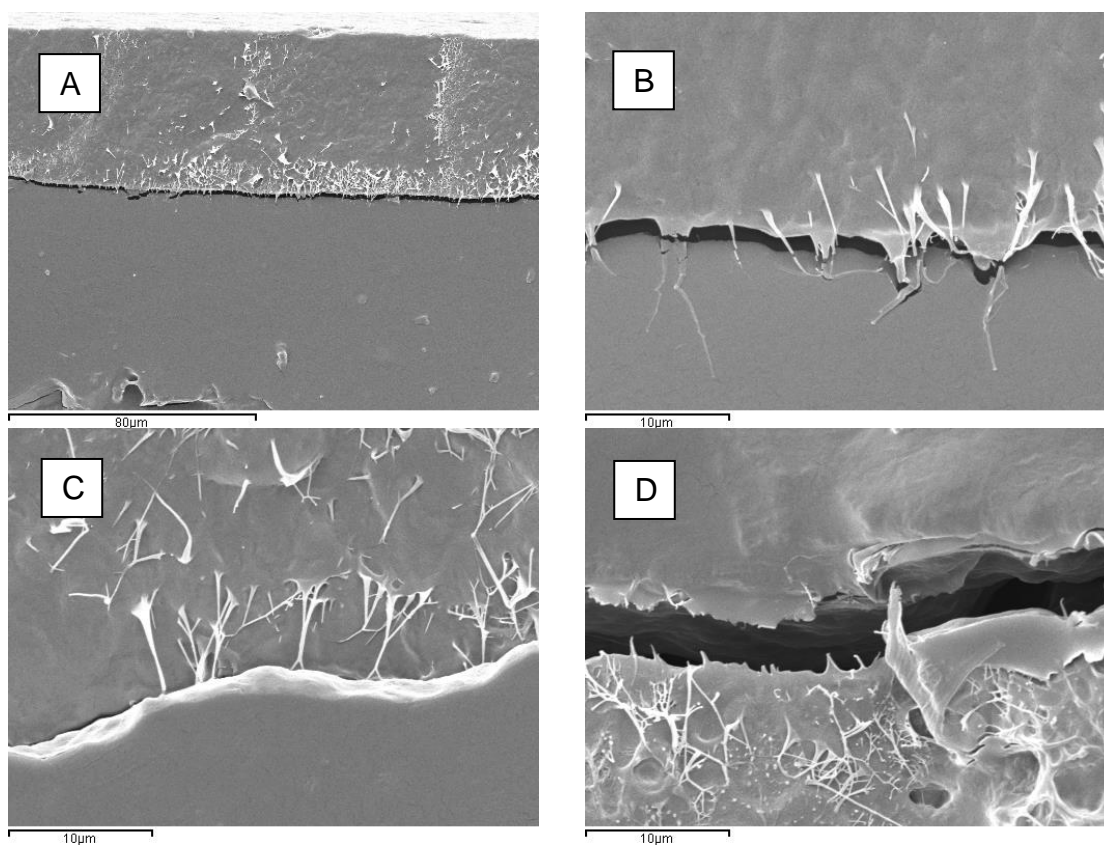


FIGURA 2. Micrográficas SEM de films bicapa de almidón y PCL. A: S-H₂O, B: S-H₂O a mayor ampliación, C: S-AA, D: S-SP, tras 7 días de almacenamiento.

En la Figura 3 se muestran las micrográficas correspondientes a la sección transversal de films bicapa de las siguientes formulaciones: S95-H₂O, S95-AA y S95-SP. Debido a la adición de PCL a la capa de almidón, se ha generado una matriz polimérica heterogénea donde se aprecian la dispersión de pequeñas partículas de PCL (micrografía E), aunque como se ha demostrado en estudios anteriores (Ortega-Toro *et al.*, 2015) en la matriz S95 existe buena dispersión del PCL en el almidón mostrando miscibilidad parcial de los componentes. En

las micrografías F, G y H se revela una estructura interfacial similar a la observada anteriormente en la Figura 2, con una serie de hebras promocionando la cohesión entre ambas capas, aunque en este caso la interfase es menos nítida mostrando una mayor interpenetración entre capas, lo cual está asociado a la presencia del 5% de PCL en la capa de almidón que promueve la afinidad en la interfase cuando funde la PCL durante el segundo prensado. Esto genera una mayor cantidad de puntos/zonas de unión entre las capas. Cabe también señalar la aparente alteración de la capa del almidón debido a la presencia del SP (imagen H), que no se observa con la adición de AA (imagen G).

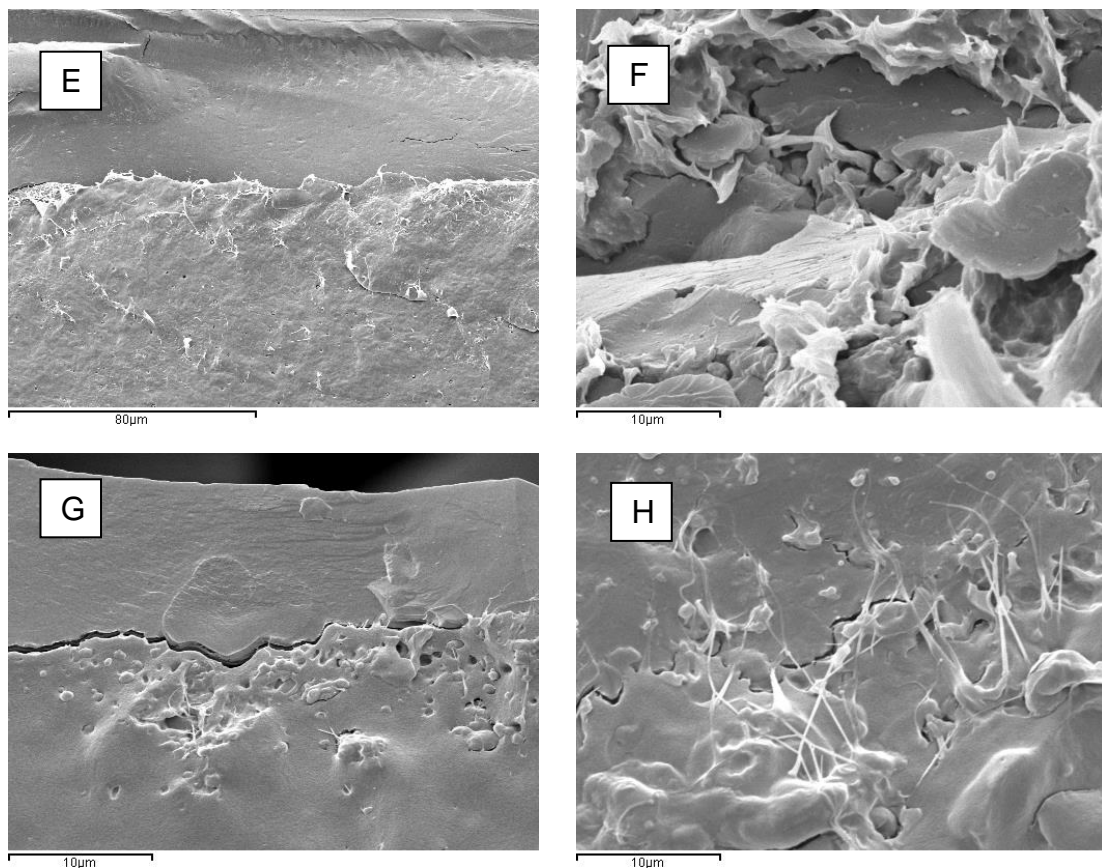


FIGURA 3. Micrografías SEM de films bicapa de almidón con 5% de PCL (S95) y PCL. E: S95-AA (a menor ampliación), F: S95-H₂O, G: S95-AA, H: S95-SP, tras 7 días de almacenamiento.

La micrografía I de la Figura 4 muestra la sección transversal de las muestras S-H₂O y S95-H₂O a las 5 semanas de almacenamiento. Puede observarse un mayor nivel de retrogradación en la capa de almidón en la muestra S-H₂O, sin PCL en la capa de almidón. Esto se deduce del tipo de fractura, que revela una estructura más rígida y frágil que en las muestras a 1 semana de almacenamiento. La muestra S95-H₂O no presenta este comportamiento lo cual es atribuible al efecto de la PCL limitando en cierta medida la agregación progresiva de las cadenas de almidón. Al comparar dicho nivel de retrogradación con el obtenido en estudios previos (Ortega-Toro *et al.*, 2014) realizados en films de almidón monocapa, se observa también un menor grado

de este fenómeno. En este sentido, la segunda capa podría prevenir parcialmente la retrogradación de la fase de almidón al limitar la contracción del film. Esto se puede correlacionar con las propiedades fisicoquímicas discutidas en los siguientes puntos, especialmente con las propiedades mecánicas.

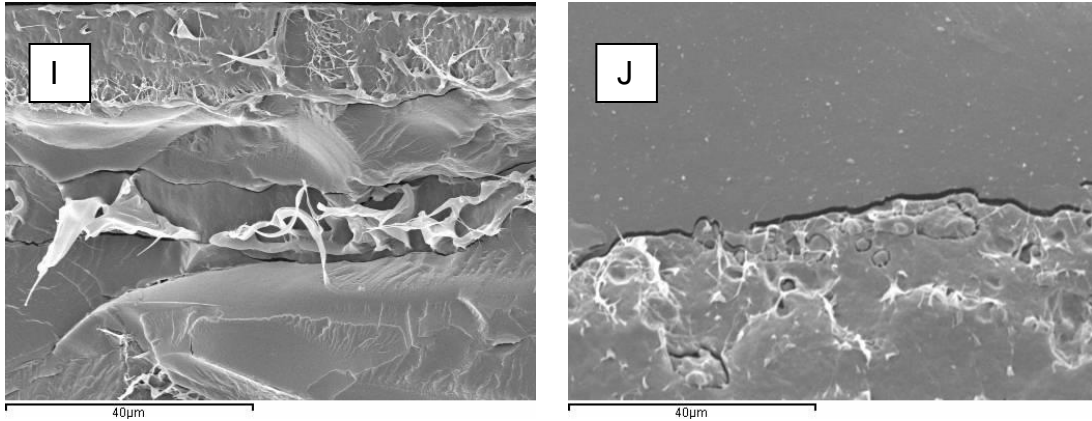


FIGURA 4. Micrográficas SEM de la sección transversal de los films bicapa: S-H₂O (I) y S95-H₂O (J), tras 5 semanas de almacenamiento.

3.1.2 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA CON TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

En la Figura 5 se muestran los espectros de infrarrojo obtenidos para los diferentes films bicapa evaluados por la cara de almidón. En la Tabla 1 pueden observarse los valores de longitud de onda de los picos relevantes. Se observan algunos desplazamientos de las longitudes de onda de las bandas características que indican la interacción molecular de las cadenas de los dos polímeros. Esto ocurre por la formación del film bicapa y por la interacción del AA y del SP con el resto de componentes de los films.

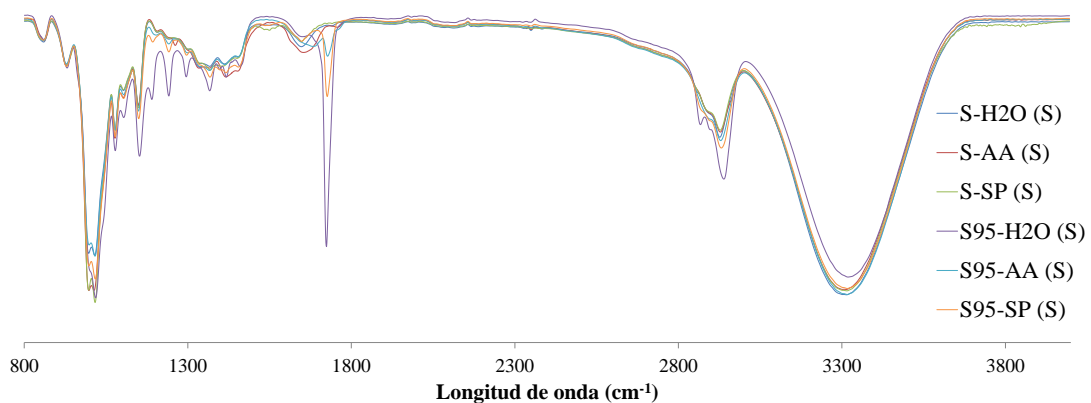


FIGURA 5. Espectros FTIR de los bicapa (cara del almidón) a tiempo inicial.

La adición de una pequeña cantidad de PCL (5%) a la capa de almidón desplaza el valor de la longitud de onda de la banda de tensión del C-H, respecto a los films constituidos por almidón puro, de igual manera que se

observa un desplazamiento del valor de la banda de extensión del enlace carbonilo (C=O) al comparar el control de S95 con el de PCL. Esto es coherente con el efecto del incremento el momento dipolar de una molécula, sobre la intensidad de absorción de la radiación infrarroja. Cambios en el contenido de almidón o de PCL en el film provoca desplazamientos hacia longitudes de onda mayores y menores, respectivamente, tal y como indican Cai *et al.* (2014) en sus estudios sobre films mezcla de TPS/PCL en distintas proporciones. No obstante, los enlaces hidroxilo no parecen estar afectados por la presencia del 5% PCL (S95), pues no se observa ningún tipo de desplazamiento en la vibración de dicho enlace respecto al control de almidón (S). Esto sugiere que las interacciones almidón-PCL son fundamentalmente de tipo hidrofóbico y a través del grupo carbonilo de la PCL.

Los cambios más relevantes asociados a la formación de los films bicapa y a la presencia de los distintos bioactivos se observan al comparar las vibraciones de los enlaces C-O-C, C=O y -OH con el valor obtenido para los respectivos films control. Por una parte, la vibración del enlace C-O-C se ve muy alterada por la presencia del ácido ascórbico en el caso de la formulación S-AA, no siendo así para la S95-AA. Las muestras sin bioactivos (S-H₂O y S95-H₂O) también presentan el valor de la longitud de onda de dicho enlace ligeramente desplazado respecto al control de almidón (S y S95), hacia niveles inferiores cuando la capa es de almidón puro, y hacia niveles superiores cuando posee un 5% de PCL. La vibración del enlace carbonilo de la molécula de PCL está afectada por la mezcla con almidón en la muestra S95 y en los films bicapa con S95. La incorporación de SP no modifica la banda del carbonilo respecto a la muestra S95 (a 1726 cm⁻¹), pero en los films bicapa sin bioactivo y con AA, la banda se desplaza hacia valores menores y mayores de longitud de onda, respectivamente. Por otra parte, la vibración del enlace hidroxilo en todos los films bicapa es la que experimenta el mayor desplazamiento respecto al film control de almidón. Esto ocurre con y sin compuestos bioactivos y podría atribuirse al mayor nivel de hidratación de los films debido a la humectación realizada previamente a la segunda compresión. Durante esta etapa (a 80 °C y 150 bares), con la incorporación de disoluciones acuosas entre capas, podrían forzarse algunas interacciones entre los componentes, lo que explicaría la adhesión de las capas.

TABLA 1. Longitudes de onda (cm⁻¹) características de los picos más relevantes de la capa del almidón de los films estudiados a tiempo inicial.

Films	C-O-C st asymmetric (1050-900)	C-O st (1330-1050)	C=O st (1790-1650)	C-H bending (2960-2850)	-OH st (3650-3200)
S	1016.4	1149.5	---	2925.9	3300.1
S95	1016.4	1149.5	1726.2	2929.8	3300.1
PCL	---	---	1722.4	2943.3	---
S-H ₂ O	1014.5	1149.5	---	2927.7	3315.3
S-AA	997.1	1149.5	---	2927.7	3313.4
S-SP	1016.4	1149.5	---	2927.7	3315.3
S95-H ₂ O	1018.3	1153.3	1724.2	2939.3	3319.2
S95-AA	1016.4	1149.5	1728.1	2929.6	3317.3
S95-SP	1016.4	1149.5	1726.1	2931.5	3317.3

Por otra parte, al estudiar los espectros FTIR de cada film bicapa por la cara de la PCL, (Figura 6) no se han detectado desplazamientos de la longitud de onda de ningún enlace en comparación, con coincidencias en algunos casos a nivel del cuarto decimal, tanto al comparar los films bicapa entre sí como con el film control de PCL. Esta observación, aparte de validar las diferencias observadas en la cara de almidón, revela el hecho de que la capa de PCL no se ve afectada ni por la adhesión de una segunda capa, ni por la incorporación de AA ni de SP entre las capas.

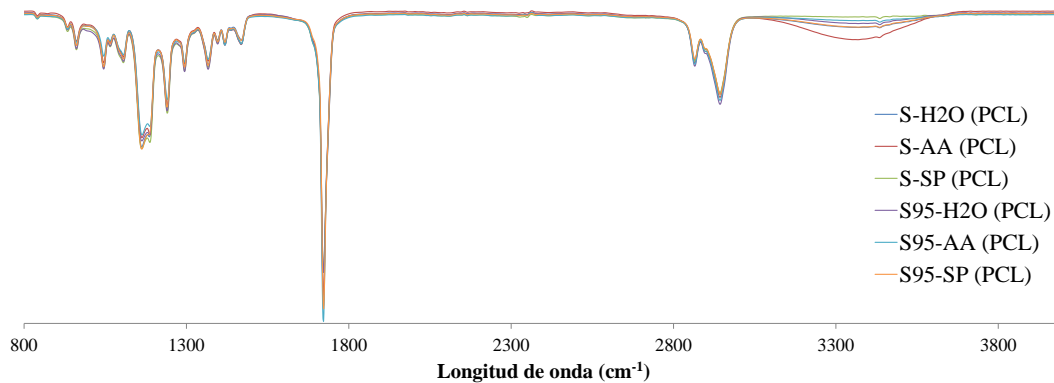


FIGURA 6. Espectros FTIR de los films bicapa (cara PCL) a tiempo inicial.

3.2 Análisis térmico

El análisis termogravimétrico permite caracterizar las temperaturas de degradación o pérdida de componentes de los materiales, así como las pérdidas de peso asociados a cada etapa. La Figura 7 muestra los termogramas característicos de los films monocapa: S, S95 y PCL.

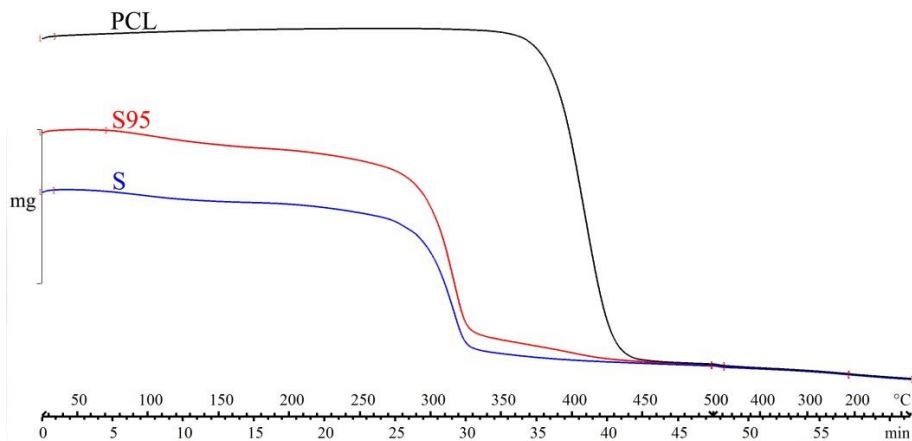


FIGURA 7. Curvas de termogravimétricas de los film control: almidón puro (S), almidón con un 5% de PCL (S95) y PCL puro (PCL).

El análisis de la curva derivada (DTGA) permite obtener las temperaturas de inicio (onset) y del pico (peak) de las diferentes etapas de pérdida de peso de la muestra en función de la temperatura, así como la pérdida de peso en cada

etapa. En las curvas de las muestras S, S95 y PCL se observan las etapas que se caracterizan también a los films multicapa: a) evaporación del agua ligada entre 50 y 100 °C con una pérdida de peso de alrededor del 2% respecto al total del film; b) inicio de la degradación del almidón a 283 – 296 °C con una pérdida de peso de alrededor del 53% respecto al total del film, y c) degradación de la PCL, que también tiene lugar en el resto de formulaciones (a excepción la S), y se inicia a temperaturas entre 364 y 400 °C, con un máximo del pico próximo a los 410 °C.

Con los datos de la Tabla 2 es posible analizar el efecto de la adición del AA y del SP en los films bicapa S y S95 a tiempo inicial de almacenamiento en las temperaturas de degradación de cada fase. No aparecen datos de tiempo final pues no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) en ninguna formulación debidas al tiempo de almacenamiento. Tampoco difieren, en general, los films bicapa constituidos por una capa de almidón puro (S) respecto a los constituidos por la capa de almidón + 5% PCL (S95), aunque la presencia de PCL parece incrementar ligeramente la estabilidad térmica del almidón, aumentando en unos 7 °C la temperatura de degradación, lo que de nuevo apunta a la interacción entre los componentes en la matriz de S95.

De forma general, se observa que los films bicapa poseen temperaturas de inicio de degradación ligeramente superiores a las de los controles monocapa, lo que podría explicarse por el establecimiento de interacciones entre los componentes de cada capa que impiden que éstos se encuentren igual de disponibles para su degradación. Por otra parte, tanto en las formulaciones S como en las S95, destaca la acción del SP como iniciador más temprano de la degradación tanto del almidón como de la PCL. Esto puede explicarse por las interacciones de estas moléculas con los polímeros deducidas del estudio SEM (Figura 3). Las formulaciones con AA exhiben un comportamiento muy similar a las procesadas con agua.

TABLA 2. Temperaturas de inicio de degradación (Onset) y temperaturas máximas de degradación (Peak) de los films estudiados acondicionados a 53% HR durante 1 semana. Valores medios (desviación estándar).

Films	Pérdida de almidón		Pérdida de PCL	
	Onset (°C)	Peak (°C)	Onset (°C)	Peak (°C)
S	283 (7) ^c	313.8 (0.4) ^d	---	---
S95	290 (2) ^d	317.3 (1.3) ^c	383.5 (1.4) ^e	402.4 (1.1) ^b
PCL	---	---	374.1 (0.2) ^c	408.7 (0.2) ^c
S-H ₂ O	293.1 (0.8) ^{de}	320.92 (0.12) ^d	378.0 (1.6) ^d	410.8 (0.8) ^d
S-AA	293.0 (0.6) ^{de}	320 (0) ^d	378.0 (0.6) ^d	410.4 (0.12) ^d
S-SP	272.3 (0.7) ^b	299.9 (0.4) ^a	370.6 (0.6) ^b	403.4 (0.4) ^b
S95-H ₂ O	298.03 (0.13) ^e	319.4 (0.6) ^d	377.51 (0.11) ^d	409.9 (0.12) ^{cd}
S95-AA	294.9 (1.9) ^{de}	319.5 (1.2) ^d	376.5 (1.3) ^{cd}	408.9 (0.6) ^c
S95-SP	262 (2) ^a	300.9 (0.4) ^a	364 (2) ^a	399.75 (0.11) ^a

a-e: Diferentes superíndices dentro de la misma columna indican diferencias significativas entre formulaciones ($p < 0.05$).

Finalmente, también se realizó el TGA del glicerol, del ácido ascórbico y del sorbato potásico, presentes en menor proporción en los films. En las tres sustancias, la degradación térmica se inició a temperaturas a partir de 212.39 (±

0.02) °C para el glicerol, 196.3 (± 0.3) °C para el AA, y 448.4 (± 0.11) °C para el SP. Estos resultados prueban, por una parte, que el glicerol no se evapora ni se degrada a las temperaturas de trabajo en la mezcladora de rodillos manteniendo con ello su acción plastificante y la adecuada disminución de la temperatura de transición vítrea y de la temperatura de fusión del almidón para su transformación en TPS (Mohammadi *et al.*, 2013; Ortega-Toro *et al.*, 2014). En segundo lugar, se manifiesta la alta estabilidad térmica de AA y SP, cuya actividad antioxidante y antimicrobiana es improbable que se vea reducida durante el desarrollo del segundo prensado, que tiene lugar a tan sólo 80 °C.

3.3 Propiedades físicas de los films

3.3.1 GROSOR, CONTENIDO DE HUMEDAD Y SOLUBILIDAD EN AGUA

En la Tabla 3 se muestran los valores de grosor, humedad de equilibrio y solubilidad en agua de los films acondicionados a 25°C y 53% HR durante 1 y 5 semanas.

TABLA 3. Grosor (µm), contenido de humedad (X_w : g agua/g film seco) y solubilidad en agua (g film seco disuelto/g film seco total) de los films estudiados. Valores medios (desviación estándar).

Films	Grosor (µm)			X_w		Solubilidad en agua	
	Total	Capa S	Capa PCL	Inicial	Final	Inicial	Final
S	261 (22) ^{bc}			0.061 (0.006) ^{b1}	0.079 (0.004) ^{d2}	0.19 (0.07) ^{d1}	0.24 (0.05) ^{d1}
S95	268 (13) ^{bc}			0.091 (0.007) ^{c1}	0.1146 (0.0013) ^{e2}	0.18 (0.05) ^{cd1}	0.198 (0.004) ^{c1}
PCL	149 (17) ^a			0.003 (0.002) ^{a1}	0.0021 (0.0005) ^{a1}	0.00022 (0.00011) ^{a1}	0.0004 (0.0002) ^{a1}
S-H ₂ O	228 (7) ^b	125 (2) ^a	103 (2) ^b	0.372 (0.015) ^{g1}	0.060 (0.002) ^{bc2}	0.30 (0.02) ^{e1}	0.21 (0.04) ^{cd2}
S-AA	236 (2) ^b	147 (13) ^b	89 (10) ^a	0.25 (0.02) ^{f1}	0.058 (0.008) ^{b2}	0.20 (0.05) ^{d1}	0.114 (0.010) ^{b2}
S-SP	234 (5) ^b	129 (14) ^a	105 (9) ^{bc}	0.46 (0.04) ^{h1}	0.066 (0.004) ^{c2}	0.38 (0.05) ^{f1}	0.297 (0.014) ^{e2}
S95-H ₂ O	283 (30) ^c	178 (12) ^c	105 (8) ^{bc}	0.20 (0.02) ^{d1}	0.067 (0.008) ^{c2}	0.114 (0.009) ^{b1}	0.107 (0.014) ^{b1}
S95-AA	322 (25) ^d	204 (6) ^d	118 (5) ^c	0.220 (0.012) ^{de1}	0.085 (0.002) ^{d2}	0.123 (0.012) ^{bc1}	0.142 (0.016) ^{b1}
S95-SP	325 (14) ^d	225 (2) ^e	100 (4) ^{ab}	0.237 (0.011) ^{ef1}	0.0804 (0.0015) ^{d2}	0.123 (0.017) ^{bc1}	0.120 (0.013) ^{b1}

*El grosor de las capas individuales de almidón y de PCL se ha estimado a partir del grosor del film bicapa y del contenido de almidón, debido a la imposibilidad de separación de ambas capas para su medida directa con el micrómetro.

a-g: Diferentes superíndices dentro de la misma columna indican diferencias significativas entre formulaciones ($p < 0.05$).

1-2: Diferentes superíndices dentro de la misma línea indican diferencias significativas entre formulaciones ($p < 0.05$).

Puede observarse que la PCL es el film con menor grosor de todas las formulaciones, debido a su mayor capacidad de flujo durante la compresión, lo

que se traduce en una mayor extensibilidad y adelgazamiento de sus films en esa etapa. Los bicapa S-H₂O, S-AA y S-SP poseen grosores más cercanos a los de un monocapa de almidón puro, y no se aprecian diferencias significativas ($p > 0.05$) entre ellos debido a la aplicación de los distintos bioactivos. Por otra parte, en los films constituidos por una capa de S95 y una capa de PCL, se observa que la formulación S95-H₂O tiene menor grosor comparado con S95-AA y S95-SP. Sin embargo, cabe destacar el hecho de que el grosor del film bicapa final nunca supone la suma de los grosores individuales de las capas de S ó S95 y de PCL, sino que es siempre inferior al valor aditivo (aproximadamente 410 μm), por lo que puede afirmarse que el efecto del doble prensado con la pulverización de los distintos agentes (agua, AA ó SP) en la interfase es muy positivo para la extensión del film. La hidratación de la capa de almidón con la aplicación de estos agentes favorece su extensibilidad en la segunda compresión, a la vez que fomenta la adhesión de las capas.

Los valores de humedad de equilibrio de los films bicapa tras 1 semana de acondicionamiento son superiores en todos los casos a los controles; esto es lógico teniendo en cuenta que los films bicapa han sido humedecidos con 1 mL de agua o de disolución. La cantidad de agua incorporada no se evapora durante el segundo prensado ya que se lleva a cabo a 80 °C. Se observa que en los bicapa S95-H₂O, S95-AA y S95-SP se alcanzan valores de humedad inicial inferiores a los de S-H₂O, S-AA y S-SP, lo cual se explica por el mayor contenido de componente hidrófobo (PCL) en los primeros. Además, al comparar los resultados con los valores a tiempo final, se deduce que 1 semana es un periodo insuficiente para alcanzar el estado de equilibrio con el ambiente, pues el contenido de humedad a tiempo final es muy inferior, asemejándose en mayor medida al de las formulaciones control.

La solubilidad en agua de los films bicapa de S95 fue siempre inferior a la de los films de S, en coherencia con la mayor hidrofobicidad de la capa S95. En general, la solubilidad en agua de los films bicapa fue superior a la de los controles monocapa para el caso de los S y del mismo orden para los S95. A las 5 semanas disminuyó la solubilidad en las muestras bicapa S, lo que parece indicar que el nivel de solubilidad está en parte relacionado con el grado de hidratación del film. Finalmente, no se mantiene una tendencia clara respecto a la influencia del ácido ascórbico o del sorbato potásico sobre los valores de X_w y de solubilidad en agua, pero en general no parecen provocar grandes cambios.

3.3.2 PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA (WVP)

En la Tabla 4 se muestra el valor de permeabilidad al vapor de agua (WVP) para los films, a una temperatura de 25°C y a un gradiente de humedad relativa de 53-100%, a tiempo inicial y final de almacenamiento.

En general, los films bicapa presentaron valores de WVP muy bajos, sin mostrar diferencias significativas ($p > 0.05$) respecto al film control de PCL, excepto para S95-H₂O y S95-AA, donde la WVP fue ligeramente superior. Este resultado es muy satisfactorio, teniendo en cuenta la baja barrera al vapor de agua que ofrecen siempre los films de almidón aun incorporando pequeñas cantidades de PCL en su matriz. No obstante, aunque cabría esperar una disminución de la WVP más pronunciada en los films con un 5% de PCL, la tendencia observada es la contraria, lo que podría deberse a que la matriz resultante queda un poco más “abierto” como consecuencia de una mayor

plastificación del film por la presencia de PCL, de acuerdo a estudios anteriores (Ortega-Toro *et al.*, 2015), y tal como se había mencionado en el análisis de las micrografías de la Figura 3.

Tampoco se observan diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los valores de WVP a tiempo inicial y final para las formulaciones con una capa de almidón puro, aunque los valores son siempre ligeramente inferiores para tiempo final, como consecuencia de la retrogradación del almidón de la capa S durante el almacenamiento. Sin embargo, en los bicapa de S95 sucede lo contrario: éstos tienden a volverse más permeables con el tiempo.

La incorporación de ácido ascórbico en la fase líquida de adhesión no influyó notablemente en los valores de WVP, mientras que la formulación S95-SP, con sorbato de potasio, obtuvo el valor más bajo de WVP de las de su grupo, lo que de nuevo apunta a una mayor interacción del SP con las dos capas modificando sus propiedades estructurales y de transporte.

TABLA 4. Permeabilidad al vapor de agua (WVP) y permeabilidad al oxígeno (OP) de los films control monocapa y los films bicapa estudiados a tiempo inicial y final. Valores medios (desviación estándar).

Films	WVP (g·mm·kPa ⁻¹ ·h ⁻¹ ·m ⁻²)		OP · 10 ¹⁴ (cm ³ ·m ⁻¹ ·s ⁻¹ ·Pa ⁻¹)	
	Inicial	Final	Inicial	Final
S	18.1 (1.4) ^{c1}	16 (2) ^{d1}	< D.L.	< D.L.
S95	20.41 (0.02) ^{d1}	18 (2) ^{e1}	12.2 (0.8) ^{a1}	19 (3) ^{ab2}
PCL	0.120 (0.04) ^{a1}	0.117 (0.011) ^{a1}	> D.L.	> D.L.
S-H ₂ O	0.8 (0.3) ^{ab1}	0.43 (0.07) ^{a1}	12.5 (1.9) ^{a1}	11.2 (1.5) ^{a1}
S-AA	0.71 (0.07) ^{ab1}	0.57 (0.07) ^{a1}	14.7 (2) ^{a1}	9 (3) ^{a1}
S-SP	0.7 (0.2) ^{ab1}	0.63 (0.07) ^{a1}	< D.L.	< D.L.
S95-H ₂ O	1.4 (0.3) ^{b1}	6.0 (0.5) ^{c2}	28 (5) ^{b1}	15.6 (1.0) ^{b2}
S95-AA	1.5 (0.6) ^{b1}	2.4 (0.9) ^{b1}	14 (3) ^{a1}	10 (2) ^{a1}
S95-SP	0.96 (0.04) ^{ab1}	1.24 (0.15) ^{ab2}	< D.L.	< D.L.

D.L. (Límite de Detección): 0.1 – 200 cc/(m²·día)

a-e: Diferentes superíndices dentro de la misma columna indican diferencias significativas entre formulaciones ($p < 0.05$).

1-2: Diferentes superíndices dentro de la misma línea indican diferencias significativas entre formulaciones ($p < 0.05$).

3.3.3 PERMEABILIDAD AL OXÍGENO (OP)

En la Tabla 4 se muestran también los valores de permeabilidad al oxígeno obtenidos para los films estudiados a 25 °C y 53% HR a tiempo inicial y final de almacenamiento.

Al igual que sucedió con los resultados de WVP, los valores de OP obtenidos sugieren el gran potencial que pueden tener los films bicapa frente a films monocapa constituidos únicamente por almidón o por PCL, pues en general todos los films poseen una OP bastante baja, muy similar al control monocapa de S95.

El AA no influyó en estos valores; en cambio, las formulaciones con SP mostraron valores tan bajos de OP que fueron inferiores al D.L. del equipo. De nuevo se confirma los cambios estructurales inducidos por el SP en las matrices de S, S95 y PCL, que modifican las propiedades de transporte del film.

En algunas muestras se observan cambios en OP con el tiempo que pueden relacionarse con los cambios de humedad de las matrices que contribuyen a modificar la movilidad molecular, afectando a los procesos de difusión.

3.3.4 PROPIEDADES MECÁNICAS

En la Tabla 5 se muestran los valores de las propiedades mecánicas de los films estudiados a 25°C y 53% HR: módulo de elasticidad (EM), tensión de fractura (TS) y elongación en el punto de fractura (ϵ ,%) para los films a tiempo inicial (1 semana de almacenamiento) y final (5 semanas de almacenamiento). El valor de TS se tomó justo en el punto en que ocurre la primera ruptura. Como puede observarse en la Figura 8, los films bicapa sufren una ruptura progresiva, asociada a la fractura de la capa de almidón limitada por la capa de PCL adherida con alta extensibilidad. Se evaluó tanto la influencia de los agentes antimicrobianos y antioxidantes agregados, como el envejecimiento de los films.

La PCL es un polímero dúctil, capaz de sufrir grandes deformaciones, pero con un módulo de Young relativamente bajo (Averous *et al.*, 2000; Matzinos *et al.*, 2002). Al comparar las curvas de los controles de S y S95 de la Figura 7, se aprecia una drástica disminución de EM al incorporar el 5% de PCL, y también se observa el incremento en la extensibilidad del film. Además, esta tendencia se mantiene al comparar los films bicapa con una capa de S o con una capa de S95, que muestran diferencias significativas en sus valores de EM y ϵ iniciales ($p < 0.05$).

TABLA 5. Propiedades mecánicas de los controles monocapa y los films bicapa a tiempo inicial y final. Valores medios (desviación estándar).

Films	EM (MPa)		TS (MPa)		ϵ (%)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
S	324 (48) ^{e1}	587 (65) ^{e2}	10.4 (1.9) ^{d1}	15.7 (1.2) ^{e2}	28 (10) ^{c1}	4.1 (0.4) ^{a2}
S95	48 (10) ^{a1}	103 (10) ^{a2}	5.4 (1.5) ^{a1}	7.8 (0.7) ^{b2}	53 (5) ^{e1}	38.6 (4.9) ^{f2}
PCL	304 (11) ^{e1}	314 (51) ^{d1}	Sin valor	Sin valor	Sin valor	Sin valor
S-H ₂ O	215 (17) ^{d1}	284 (35) ^{d2}	9.1 (0.7) ^{c1}	11.9 (1.2) ^{d2}	15 (2) ^{ab1}	15 (5) ^{cd1}
S-AA	181 (16) ^{c1}	205 (33) ^{c1}	8.7 (1.0) ^{c1}	9.9 (0.6) ^{c2}	17 (4) ^{ab1}	17 (5) ^{d1}
S-SP	170 (16) ^{c1}	202 (18) ^{c2}	6.7 (0.6) ^{b1}	7.7 (1.0) ^{b2}	11 (5) ^{a1}	9 (4) ^{b1}
S95-H ₂ O	129 (17) ^{b1}	311 (14) ^{d2}	6.7 (0.6) ^{b1}	6.7 (1.0) ^{a1}	18 (5) ^{b1}	6.1 (0.6) ^{a2}
S95-AA	114 (14) ^{b1}	213 (5) ^{c2}	8.1 (0.9) ^{c1}	7.5 (0.6) ^{ab2}	35 (6) ^{d1}	12 (5) ^{bc2}
S95-SP	126 (27) ^{b1}	153 (30) ^{b1}	8.5 (1.0) ^{c1}	9 (2) ^{c1}	32 (8) ^{cd1}	27 (6) ^{e1}

a-f: Diferentes superíndices dentro de la misma columna indican diferencias significativas entre formulaciones ($p < 0.05$).

1-2: Diferentes superíndices dentro de la misma línea indican diferencias significativas entre formulaciones ($p < 0.05$).

Los agentes bioactivos agregados no afectan en gran medida al valor de TS ni EM iniciales al compararlas con los films bicapa control (S-H₂O y S95-H₂O), aunque las formulaciones S95-AA y S95-SP fueron más extensibles, lo que podría indicar que ambos compuestos contribuyen a mejorar la adhesión entre capas por fomentar interacciones entre los polímeros en la interfase, en presencia de PCL en la capa de almidón.

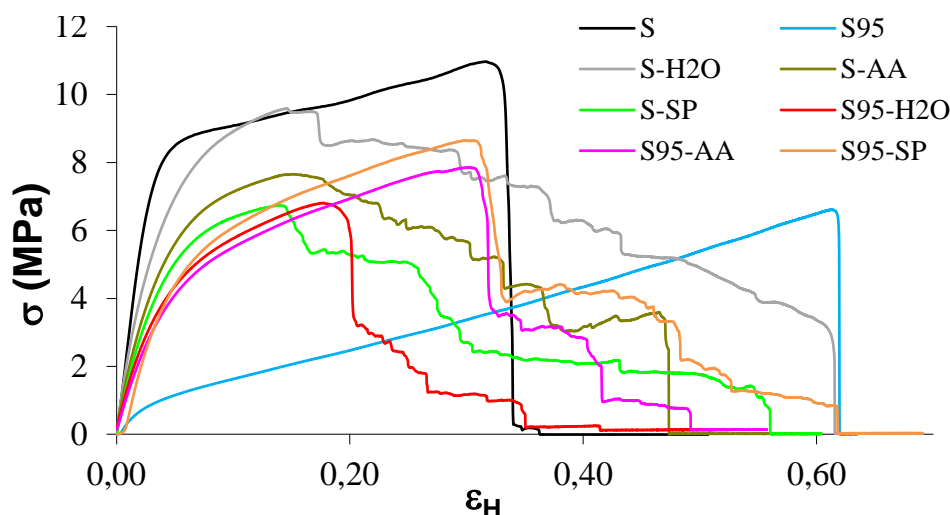


FIGURA 8. Curvas de tensión – deformación de Hencky más representativas de cada una de las formulaciones estudiadas al tiempo inicial de almacenamiento.

A pesar de todo, la formación de los films bicapa no mejora de forma importante el problema de la baja elongación de los films de almidón. No obstante, si se comparan los resultados de tiempo inicial y final de los tres parámetros mecánicos, se observa una tendencia general en los films bicapa a mantener el valor de los tres parámetros, lo cual no ocurre en el control de almidón S, que se vuelve muy frágil (muy baja extensibilidad). Es remarcable el valor de extensibilidad de S95-SP del 32% que no presenta cambios significativos durante el almacenamiento. Respecto al módulo de elasticidad, mientras que para los controles monocapa S y S95 se incrementa el valor de EM en un 81% y en un 115%, respectivamente, con el tiempo; para los films bicapa el EM aumenta solamente entre un 13 – 32 % (sin tener en cuenta las formulaciones S95-H₂O y S95-AA, que aumentan en mayor proporción). Esto parece indicar que de algún modo la constitución del film bicapa está reduciendo el fenómeno de retrogradación típico de los films de almidón, lo cual es muy positivo porque podrían conseguirse films más estables durante periodos de tiempo prolongados.

3.3.5 PROPIEDADES ÓPTICAS

En la Tabla 6 se muestran los valores de brillo correspondientes a un ángulo de incidencia de 85° de los films estudiados a tiempo inicial y final.

De acuerdo al ASTM D523 (1999), el brillo es la intensidad de luz especularmente reflejada por la superficie de una muestra, comparada con la intensidad de luz especularmente reflejada por la superficie de un estándar conocido, a un cierto ángulo de incidencia. Uno de los factores que más limitan el desarrollo de la reflexión especular es la heterogeneidad o la rugosidad de la superficie de una muestra, así que en general cuanto más rugosa es ésta, menor es su brillo (Moreno *et al.*, 2014).

Todos los films estudiados son poco brillantes; por ello ha sido necesario realizar la medición a un ángulo de 85°, en lugar de 60°, que es el ángulo recomendado para niveles medios de brillo. No se observan en general diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las medidas a tiempo inicial y final, a

excepción de los controles de almidón (S y S95) y las caras de almidón correspondientes a los films bicapa con S, donde se observa un descenso significativo, atribuido a la recristalización del almidón a nivel superficial con el tiempo (Ortega-Toro *et al.*, 2014). Tampoco hay grandes cambios al comparar los films monocapa control con las caras correspondientes de los films bicapa. No obstante, la cara de almidón de los films bicapa con S95 es significativamente menos brillante, tanto a tiempo inicial como final. Esto podría deberse al diferente efecto de la segunda compresión sobre la matriz continua y las partículas de PCL, potenciando la rugosidad superficial de la capa y disminuyendo por tanto su brillo. El brillo de la capa de PCL también disminuyó en estas muestras respecto al control de PCL. Esto puede deberse a que durante el segundo prensado, el 5% de PCL presente en la capa de almidón funde parcialmente, fluyendo tanto a la superficie de la capa de almidón como hacia la capa de PCL, modificando la superficie de ambas matrices y generando más irregularidades en ambas capas. Es destacable, además, en estas muestras que la incorporación de SP provoca un aumento del brillo ($p < 0.05$) tanto por la cara del almidón como por la cara de PCL, lo que de nuevo apunta a la interacción del SP con ambas matrices.

TABLA 6. Valores de brillo medidos a 85° de los films monocapa y bicapa (medidos por ambas caras). Valores medios (desviación estándar).

Films	Cara almidón		Cara PCL	
	Inicial	Final	Inicial	Final
S	40 (5) ^{c1}	37.2 (1.5) ^{c1}	40 (5) ^{b1}	37.2 (1.5) ^{b1}
S95	47 (11) ^{cd1}	25 (8) ^{b2}	47 (11) ^{bcd1}	25 (8) ^{a2}
PCL	59 (16) ^{e1}	57 (9) ^{d1}	59 (16) ^{e1}	57 (9) ^{c1}
S-H ₂ O	41 (5) ^{c1}	38 (9) ^{c1}	52 (9) ^{cde1}	39 (11) ^{b2}
S-AA	46 (7) ^{cd1}	39 (6) ^{c2}	52 (7) ^{cde1}	38 (13) ^{b2}
S-SP	51 (16) ^{de1}	43 (13) ^{c1}	54 (10) ^{de1}	39 (16) ^{b2}
S95-H ₂ O	16 (2) ^{ab1}	13 (2) ^{a2}	29 (5) ^{a1}	26 (8) ^{a1}
S95-AA	13 (4) ^{a1}	15 (8) ^{a1}	24 (5) ^{a1}	19 (10) ^{a1}
S95-SP	23 (2) ^{b1}	20 (6) ^{ab1}	45 (7) ^{bc1}	41 (9) ^{b1}

a-e: Diferentes superíndices dentro de la misma columna indican diferencias significativas entre formulaciones ($p < 0.05$).

1-2: Diferentes superíndices dentro de la misma línea indican diferencias significativas entre formulaciones ($p < 0.05$).

La Figura 9 presenta las curvas de distribución espectral del parámetro Ti para los films monocapa control y para los films bicapa estudiados (luz incidente en la cara de almidón). Los resultados de Ti (%) medidos a través de la cara de PCL fueron análogos a los de la cara de S ó S95, por lo que no se presentan en este trabajo.

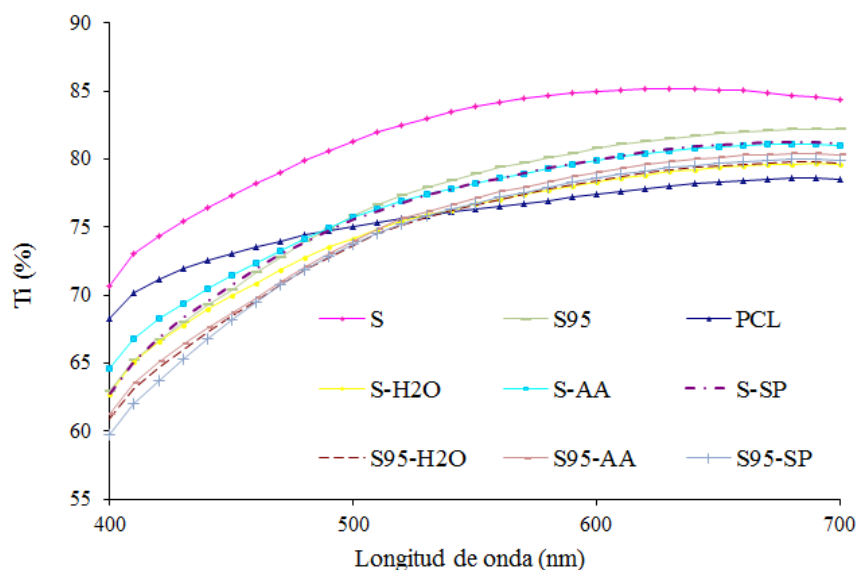


FIGURA 9. Curvas de distribución espectral del parámetro Ti de los films estudiados por la cara del almidón a tiempo inicial.

Valores elevados de transmitancia interna (Ti) se relacionan con una mayor homogeneidad del film y por tanto se corresponden con films más transparentes, mientras que valores menores en éstos se relacionan con una mayor opacidad (Villalobos *et al.*, 2005; Ortega-Toro *et al.*, 2014). Aproximadamente a 450 nm es donde se aprecian más diferencias entre formulaciones, así que el análisis de resultados se ha realizado con medidas a esta longitud de onda. El film monocapa control S resultó ser el más transparente, seguido por los films de PCL puro. Los films bicapa poseen valores de Ti muy cercanos entre sí, y en general no se obtuvieron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre formulaciones. No obstante, aunque cabía esperar para ellos valores de Ti intermedios entre los de S ó S95 y PCL puros, las curvas resultantes no son aditivas en el rango de longitudes de 400 - 500 nm, sino que todos los bicapa son más opacos a pesar de su menor grosor, mientras que en el rango de 500 - 700 nm, sí que se observa la tendencia esperada, pues todos los bicapa poseen valores de Ti intermedios entre S y PCL, o entre S95 y PCL.

4. CONCLUSIONES

La formación de films bicapa de almidón de maíz-PCL mediante la aplicación de una segunda compresión, después de la aplicación interfacial de una disolución acuosa, ha resultado efectiva, presentando los films una buena adhesión intercapa y una mejora de las propiedades con respecto a los films de almidón. La microestructura de los films analizada por SEM reveló una estructura más heterogénea para la capa de almidón con 5% de PCL (S95) que la de almidón o PCL puros, pero la unión de las capas almidón-PCL está más reforzada en la interfase con S95. Estos films presentaron diferencias notables en el brillo por ambas caras, lo que parece indicar la fluencia de PCL entre capas durante la segunda compresión reforzando la unión intercapa. Todos los

films bicapa presentaron excelentes propiedades barrera al vapor de agua y al oxígeno, aunque los valores de permeabilidad de los films bicapa de S95 fueron ligeramente superiores. La adición de 5% de PCL a la capa de almidón también supuso una disminución en la capacidad de adsorción de agua de los films y en su solubilidad en agua, así como en su rigidez, siendo más extensibles que los S-PCL, especialmente cuando se utilizó ácido ascórbico o sorbato de potasio en la disolución acuosa aplicada en la interfase para la segunda compresión. La formación de la doble capa parece inhibir en cierta medida la retrogradación del almidón durante el almacenamiento, aunque imparte una ligeramente mayor opacidad. La incorporación de ácido ascórbico en la disolución acuosa intercapa no introdujo cambios notables en las propiedades de los films respecto a la utilización de agua solo. No obstante, cuando se añadió sorbato de potasio, este parece difundir en ambas capas dando lugar a cambios notables en la temperatura de degradación térmica, en las transiciones de fases y en las propiedades físicas de los films: incremento en las propiedades barrera al vapor de agua y al oxígeno y aumento del brillo tanto de la capa de almidón como de la PCL. También se probó que las temperaturas de trabajo durante el segundo prensado del moldeo por compresión no afectan en la integridad de ninguno de los dos bioactivos.

5. REFERENCIAS

- Alix, S., Mahieu, A., Terrie, C., Soulestin, J., Gerault, E., Feuilleley, M.G.J., Gattin, R., Edon, V., Ait-Younes, T. & Leblanc, N. (2013). Active pseudo-multilayered films from polycaprolactone and starch based matrix for food-packaging applications. *European Polymer Journal*, 49, 1234 – 1242.
- ASTM. (1992). Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. Standard D882-91. ASTM, annual book of ASTM. Philadelphia: ASTM. 162–170.
- ASTM. (1995). Standard test methods for water vapor transmission of materials. Standards designations: E96-95. In *Annual book of ASTM standards*. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.
- ASTM. (1999). Standard test method for specular gloss. Standard designation: D523. In ASTM, annual book of ASTM, 06.01. Philadelphia: ASTM.
- ASTM. (2002). Standard test method for oxygen gas transmission rate through plastic film and sheeting using a coulometric sensor (D 3985-95). In *Annual book of ASTM standards*. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials., pp. 472–477.
- Avella, M., Errico, M.E., Laurienzo, P., Martuscelli, E., Raimo, M. & Rimedia, R. (2000). Preparation and characterization of compatibilised polycaprolactone/starch composites. *Polymer*, 41, 3875 – 3881.
- Avérous, L. (2004). Biodegradable multiphase systems based on plasticized starch: a review. *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews*, 44 (3), 231 – 274.
- Avérous, L., Moro, L., Dole, P. & Fringant, C. (2000). Properties of thermoplastic blends: starch – polycaprolactone. *Polymer*, 41, 4157 – 4167.
- Bastioli, C. (2001). Global status of the production of biobased packaging materials. *Starch/Stärke*, 53, 351-355.
- BeMiller, J.N. & Whistler, R.L. (Eds.). *Starch: Chemistry and Technology (Third Edition)*. Academic Press.
- Bonilla, J., Atarés, L., Vargas, M. & Chiralt, A. (2012). Edible films and coatings to prevent the detrimental effect of oxygen on food quality: possibilities and limitations. *Journal of Food Engineering*, 110, 208 – 213.
- Cai, J., Xiong, Z., Zhou, M., Tan, J., Zeng, F., Meihu, M., Lin, S. & Xiong, H. (2014). Thermal properties and crystallization behavior of thermoplastic starch/poly(ϵ -caprolactone) composites. *Carbohydrate Polymers*, 102, 746 – 754.

- Cian, R.E., Salgado, P.R., Drago, S.R., González, R.J. & Mauri, A.N. (2014). Development of naturally activated edible films with antioxidant properties prepared from red seaweed *Porphyra columbina* biopolymers. *Food Chemistry*, 146, 6 – 14.
- Fabra, M.J., Busolo, M.A., Lopez-Rubio, A. & Lagaron, J.M. (2013). Nanostructured biolayers in food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 31, 79 – 87.
- Famá, L., Rojas, A.M., Goyanes, S. & Gerschenson, L. (2005). Mechanical properties of tapioca-starch films containing sorbates. *LWT – Food Science and Technology*, 38 (6), 631 – 639.
- Fang, J.M., Fowler, P.A., Escrig, C., Gonzalez, R., Costa, J.A. & Chamudis, L. (2005). Development of biodegradable laminate films derived from naturally occurring carbohydrate polymers. *Carbohydrate Polymers*, 60, 39 – 42.
- Gómez-Guillén, M.C., Ihl, M., Bifani, V., Silva, A. & Montero, P. (2007). Edible films made from tuna-fish gelatin with antioxidant extracts of two different murta ecotypes leaves (*Ugni molinae* Turcz). *Food Hydrocolloids*, 21 (7), 1133 – 1143.
- Jiménez, A., Fabra, M.J., Talens, P. & Chiralt, A. (2012). Edible and Biodegradable Starch Films: A Review. *Food Bioprocessing Technology*, 5, 2058 – 2076.
- Jiménez, A., Fabra, M.J., Talens, P. & Chiralt, A. (2013). Physical properties and antioxidant capacity of starch–sodium caseinate films containing lipids. *Journal of Food Engineering*, 116 (3), 695 – 702.
- Liu, H., Xie, F., Yu, L., Chen, L. & Li, L. (2009). Thermal processing of starch-based polymers. *Progress in Polymer Science*, 34, 1348 – 1368.
- Matzinos, P., Tserki, V., Kontoyiannis, A. & Panayiotou, C. (2002). Processing and characterization of starch/polycaprolactone products. *Polymer Degradation and Stability*, 77, 17 – 24.
- McHugh, T. H., Avena-Bustillos, R., & Krochta, J. M. (1993). Hydrophobic edible films: modified procedure for water vapour permeability and explanation of thickness effects. *Journal of Food Science*, 58 (4), 899–903.
- Mensitieri, G., Di Maio, E., Buonocuore, G.G., Nedi, I., Oliviero, M., Sansone, L. & Iannace, S. (2011). Processing and shelf life issues of selected food packaging materials and structures from renewable resources. *Trends in Food Science and Technology*, 22, 72 – 80.
- Mohammadi, A., Moradpour, M., Saeidi, M. & Karim, A. (2013). Thermoplastic starches: properties, challenges, and prospects. *Starch/Stärke*, 65, 61 – 72.
- Moreno, O., Pastor, C., Muller, J., Atarés, L., González, C. & Chiralt, A. (2014). Physical and bioactive properties of corn starch – Buttermilk edible films. *Journal of Food Engineering*, 141, 27 – 36.
- Ortega-Toro, R., Jiménez, A., Talens, P. & Chiralt, A. (2014). Properties of starch-hydroxypropyl methylcellulose based films obtained by compression molding. *Carbohydrate Polymers*, 109 (30), 155–165.
- Ortega-Toro, R., Muñoz, M.A., Talens, P. & Chiralt, A. (2015). Starch-Polycaprolactone based films: effect of the polyethylene glycol as plasticizer/compatibilizer. Under revision.
- Takala, P.N., Salmieri, S., Boumail, A., Khan, R.A., Dang, K., Chauve, G., Bouchard, J. & Lacroix, M. (2013). Antimicrobial effect and physicochemical properties of bioactive trilayer polycaprolactone/methylcellulose-based films on the growth of foodborne pathogens and total microbiota in fresh broccoli. *Journal of Food Engineering*, 116, 648-655.
- Villalobos, R., Chanona, J., Hernández, P., Gutiérrez, G. & Chiralt, A. (2005). Gloss and transparency of hydroxypropyl methylcellulose films containing surfactants as affected by their microstructure. *Food Hydrocolloids*, 19 (1), 53 – 61.
- Wang, L., Shogren, R.L. & Carriere, C. (2000). Preparation and properties of thermoplastic starch-polyester laminate sheets by coextrusion. *Polymer Engineering and Science*, 40 (2), 499 – 506.
- Wook, S., Kie, J., Selke, S., Soto-Valdez, H., Matuana, L., Rubino, M. & Auras, R. (2013). Migration of α -tocopherol and resveratrol from poly(L-lactic acid)/starch blends films into ethanol. *Journal of Food Engineering*, 116, 814 – 828.
- Zhang, Y., Rempel, C. & McLaren, R. (2014). Chapter 16 - Thermoplastic Starch. *Innovations in Food Packaging (Second Edition)*. 391 – 412.