

# UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA  
AGRONÒMICA I DEL MEDI NATURAL



## ***ESTUDIO DE LA BIODEGRADABILIDAD Y DESINTEGRACIÓN DE PELÍCULAS A BASE DE ALMIDÓN Y PVA QUE INCORPORAN DIFERENTES SUSTANCIAS ANTIMICROBIANAS***

TRABAJO FIN DE GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

ALUMNA: MARTA PEINADO DEVÍS

TUTORA: CHELO GONZÁLEZ MARTÍNEZ/MAITE CHÁFER NÁCHER

COTUTORA: AMALIA ISABEL CANO EMBUENA

*Curso Académico: 2014/2015*

VALENCIA, 1 de Septiembre de 2015

Licencia Creative Commons “Reconocimiento no Comercial –Sin Obra Derivada”.



**AUTOR:** Alumna Dña. Marta Peinado Devís

**TÍTULO DEL TFG:** Estudio de la biodegradabilidad y grado de desintegración de películas a base de almidón y PVA que incorporan diferentes sustancias antimicrobianas.

**LOCALIDAD Y FECHA:** Valencia, septiembre 2015

**TUTOR ACADÉMICO:** Prof. Dña. Chelo González Martínez/Maite Cháfer Nácher

**COTUTOR:** Dña. Amalia Isabel Cano Embuena

### **RESUMEN**

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la influencia de la incorporación de diferentes compuestos antimicrobianos en el proceso de desintegración y biodegradabilidad de envases a base de almidón de guisante y de polivinil alcohol. Las sustancias antimicrobianas fueron incorporadas a diferentes concentraciones de aceite de neem, aceite esencial de orégano y nanopartículas de plata.

Para el análisis se llevaron a cabo dos ensayos. Un primer test de desintegración basado en la ISO 20200:2004 en el que las muestras estuvieron sometidas a condiciones de compostaje controladas durante 73 días. Además, se sacaron muestras del compost a cuatro tiempos diferentes (día 0, 14, 41 y 73) y se les realizó un estudio de su apariencia, microestructura y un análisis termogravimétrico con el fin de mejorar la comprensión de su degradación y ver la evolución que ésta sufre. El segundo ensayo basado en la ISO 14855-1:2012 fue un test de biodegradación, para el cual se registró periódicamente el CO<sub>2</sub> emitido.

Las películas puras mostraron comportamientos opuestos, presentando las películas de almidón el mayor porcentaje de degradación y biodegradabilidad y las de PVA el menor. Tanto las películas mezcla como las bioactivas mostraron un comportamiento intermedio entre las matrices puras presentando diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre ellas. Por otra parte, los resultados muestran que la incorporación de agentes antimicrobianos no afectaron significativamente ( $p > 0,05$ ) a la desintegración y biodegradabilidad de las películas lo que es muy interesante para el desarrollo de envases que reduzcan la grave problemática medioambiental y alarguen la vida útil de los alimentos que contienen. Sin embargo, en el caso de las películas con nanopartículas de plata, los resultados mostraron una tendencia hacia un

menor porcentaje de biodegradabilidad de las películas con la mayor concentración de plata debido a su acción sobre los microorganismos del compost. Por tanto, se recomienda utilizar concentraciones menores de plata para no comprometer el proceso de biodegradación de los mismos.

**PALABRAS CLAVE:** Aceite de Neem, aceite esencial de orégano, almidón, biodegradación, desintegración, mezcla, nanopartículas de plata, polivinil alcohol.

### ABSTRACT

The final degree work is focused on the development of new biodegradable packaging materials in order to reduce the generation of municipal waste. For it, pea starch, polyvinyl alcohol and starch-PVA blend films were developed. In addition, different antimicrobial compounds (neem oil, oregano essential oil and silver nanoparticles) at different concentrations were incorporated into the S-PVA film. The humidity and solubility of these films was determined.

For the analysis of the films two tests were carried out. On the one hand, a disintegration test (ISO 20200: 2004) were assayed. Samples were subjected to controlled composting conditions for 73 days. Additionally, samples were removed from the compost at four different times (day 0, 14, 41 and 73) in order to evaluate their appearance, microstructure by optical microscopy, as well as to analyze by means of TGA. On the other hand, the second assay was a biodegradation test (ISO 14855-1: 2012) by means of the CO<sub>2</sub> emitted. Both assays were validated.

Pure films showed opposite behavior, whereas the starch films exhibited the highest percentage of disintegration and biodegradability, PVA provided the worst. The S-PVA blend and bioactive films showed an intermediate behavior between both pure films indicating significant difference ( $p < 0.05$ ). Moreover, no significant differences ( $p > 0.05$ ) in the percentage of biodegradation or disintegrability respect to S-PVA were found when natural antimicrobial agents were incorporated in the S-PVA matrix. This results are very interesting for packaging development to reduce the serious environmental problems and extend the food self- life.

**KEY WORDS:** Neem oil, oregano essential oil, starch, biodegradation, disintegration, blend, silver nanoparticles, polyvinil alcohol.

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, me gustaría agradecer el presente trabajo a Maite Cháfer por proponerme este novedoso trabajo fin de grado y a Chelo González por hacerlo posible aportando su tiempo y conocimientos.

A Amalia, por enseñarme todo lo que he aprendido en estos meses de trabajo, por guiarme tanto en la parte experimental como a la hora de redactar y por estar disponible y pendiente de mi en todo momento.

Por último, me gustaría agradecer y dedicar este trabajo a mis padres, a mi hermana Bea y a mi amiga Ángela por aguantarme, apoyarme y ayudarme incondicionalmente.

# ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1 Justificación del trabajo y problemática medioambiental .....	1
1.2. Materiales para obtener películas flexibles para el envasado de alimentos .....	4
1.3. Films o películas a base de Almidón y PVA .....	5
1.4. Antimicrobianos de origen natural .....	7
2. OBJETIVOS .....	9
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
3.1. Materiales (utilizados en las matrices de las películas) .....	10
3.2 Preparación de las películas .....	10
3.3. Determinación de la humedad y la solubilidad de las películas .....	12
3.4 Test de desintegración .....	13
3.5. Pérdida de peso.....	16
3.6. Análisis de imagen.....	17
3.7. Análisis térmico .....	17
3.8. Test de biodegradabilidad.....	18
4. RESULTADOS .....	21
4.1. Análisis de compost.....	21
4.2. Humedad y solubilidad de las películas .....	21
4.3. Ensayo de desintegración .....	22
4.3.1. Análisis de imagen.....	24
4.3.2. Análisis termogravimétrico .....	29
4.4. Ensayo de biodegradabilidad .....	33

5. CONCLUSIONES .....	36
6. BIBLIOGRAFÍA .....	37
7. ANEXOS .....	41
7.1. Anexo A. ....	41

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Porcentajes de producción de diferentes biopolímeros.....	2
Figura 1.2. Proceso de Degradación o desintegración vs proceso de biodegradación.....	3
Figura 1.3. Estructura química de la molécula de amilosa y de amilopectina .....	5
Figura 3.1. Placa de teflón utilizada para la formación de las películas.....	12
Figura 3.2. Aspecto de la película una vez seca y separada de la placa de teflón. ....	12
Figura 3.3. Muestras para la determinación del contenido de humedad.....	13
Figura 3.4. Muestras preparadas para iniciar el test de desintegración.....	15
Figura 3.6. Muestras preparadas para la determinación de la pérdida de peso a diferentes tiempos.....	16
Figura 3.7. Análisis termogravimétrico. Izquierda: crisol que contiene la muestra; derecha: TGA .....	17
Figura 3.8. Vasos preparados con compost, vermiculita y muestra. ....	18
Figura 4.1. Aspecto visual de las películas a diferentes tiempos de desintegración. ....	27
Figura 4.2. Superficie de las películas puras y mezcla M a) con extracto de plantas y b) con nanopartículas de plata en el proceso de desintegración determinada a diferentes tiempos. .	28
Figura 4.3. Análisis termogravimétrico. Izquierda: curvas TG, derecha: curvas DTG de las películas mezcla y PVA en cuatro tiempos distintos. ....	30
Figura 4.4. % Biodegradación de las películas durante el ensayo de 45 días. ....	35
Figura 7.1. Imágenes a dos aumentos de las películas observadas mediante microscopio óptico. .....	49
Figura 7.2. Análisis termogravimétrico. Izquierda: curvas TG, derecha: curvas DTG de las películas que incorporan agentes antimicrobianos. ....	51

## **ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1.1. Componentes de las películas .....	4
Tabla 3.1. Ratio polímero: antimicrobiano (AA) y nomenclatura de las diferentes formulaciones .....	10
Tabla 3.2. Composición del residuo sintético .....	14
Tabla 3.3. Niveles de agua especificados por la norma ISO .....	16
Tabla 4.1. Propiedades del compost al inicio y final de los ensayos.....	21
Tabla 4.2. Contenido en agua y solubilidad de las películas .....	22
Tabla 4.3. Porcentaje de desintegración de las muestras introducidas en los reactores tras finalizar el ensayo a los 73 días. ....	24
Tabla 4.4. Variación de la superficie de las películas tras 73 días.....	29
Tabla 4.5. Temperaturas pico y masa residual de las películas obtenidas en el análisis termogravimétrico. ....	32
Tabla 4.6. Composición química elemental de las películas. ....	34
Tabla 4.7. Porcentaje de biodegradación de las películas tras 45 días en condiciones de compostaje.....	35

## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.1 Justificación del trabajo y problemática medioambiental**

Desde principios de los años 50, la producción de materias primas plásticas prácticamente no ha dejado de crecer debido al incesante consumo de plásticos sustituyendo en muchos casos a materiales de origen natural como la madera o el algodón. Según una estimación de la producción de plásticos a nivel mundial realizada por Plastics Europe, en el año 2013 se fabricaron 299 millones de toneladas de plásticos, lo que indicó un crecimiento del 3,9% respecto al año anterior (PLASTICSEUROPE, 2014). Los plásticos convencionales se obtienen a partir de recursos naturales como petróleo, gas natural y carbón. En términos técnicos, la producción de plásticos es un proceso llamado polimerización: reacción química en la que dos o más moléculas se combinan para formar otra en la que se repiten las estructuras de las primitivas dando lugar al polímero (ANAIP, ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE INDUSTRIALES DE PLÁSTICOS).

En el área de la alimentación, los plásticos se emplean generalmente para envolver y contener el alimento, protegiéndolo en la medida de lo posible, del ambiente que lo rodea, de posibles oxidaciones o del ataque de microorganismos, proporcionando así protección contra tres agentes externos: químicos, biológicos y físicos (Marsh y Bugusu, 2007). Los plásticos convencionales usados para la obtención de envases están fabricados en la mayoría de casos a partir de polietileno, poliéster, poliamida, etc... debido a sus buenas propiedades mecánicas y su bajo precio. Pero estos materiales tienen un gran inconveniente, ya que contribuyen a la contaminación del medio ambiente debido a que no son asimilados por la naturaleza (Tharanathan, 2003). Esto ha generado una gran problemática medioambiental asociada por una parte, al gasto cada vez más elevado de un recurso natural no renovable y ,por otra, a las toneladas de residuo que se generan, ya que los plástico tardan en descomponerse entre 100 y 450 años (Alvira, 2007), dependiendo del tipo de polímero que se emplee en su fabricación.

La escasez de reservas de petróleo junto con la preocupación medioambiental causada por el aumento de los residuos sólidos derivados de plásticos no degradables, hace necesaria la búsqueda de alternativas a los plásticos convencionales. En respuesta a la preocupación de los consumidores por el medio ambiente, han aparecido en el mercado nuevos plásticos basados en el uso de materiales biodegradables compostables (Figura 1.1), los cuales pueden proceder tanto de fuentes renovables como de fuentes fósiles, y que serán asimiladas por la naturaleza en un corto periodo de tiempo en condiciones de compostaje. Dichos plásticos, pueden ser

muy útiles en el sector alimentario puesto que un gran porcentaje de los envases son de un sólo uso o muchas veces su vida útil es muy corta puesto que los productos que protegen o contienen son altamente perecederos, con una vida útil de unos pocos días. Después de su uso, estos plásticos se descomponen por la acción de determinadas enzimas de origen microbiano para volver a la naturaleza sin ocasionar ningún tipo de contaminación (Palanca, 2014). Esta gran ventaja que aportan estos plásticos, justifica el estudio y desarrollo de estos materiales.

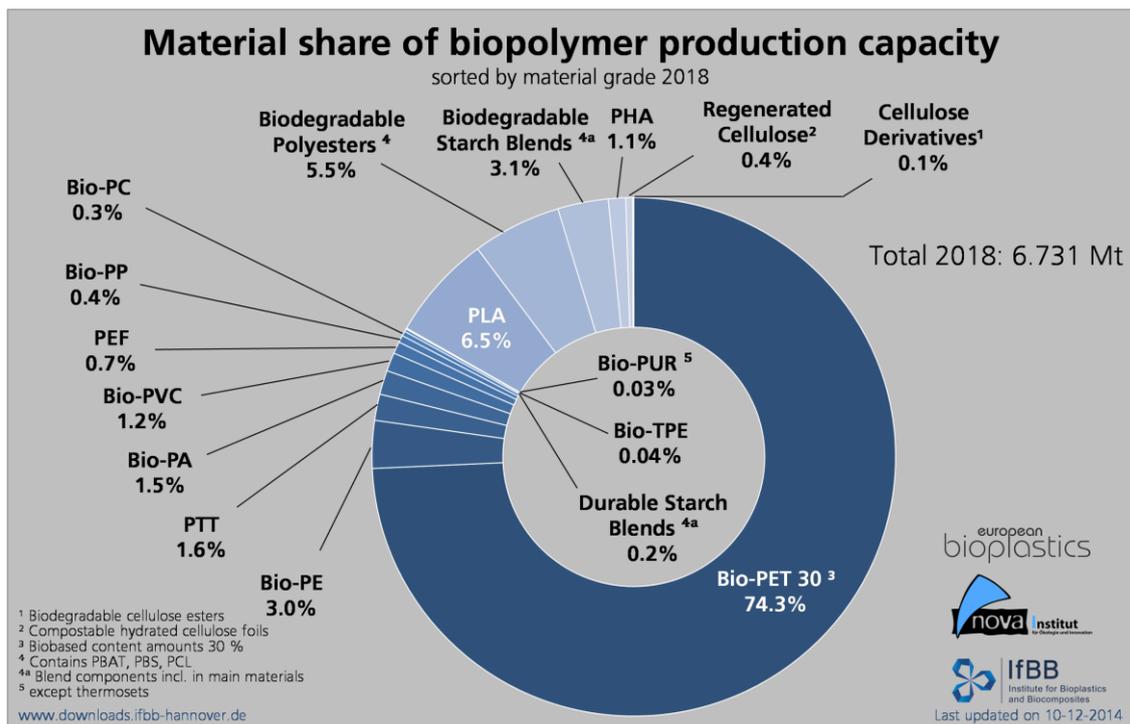


Figura 1.1. Porcentajes de producción de diferentes biopolímeros. (Fuente: EUROPEAN BIOPLASTICS)

Actualmente, los estudios se centran en la obtención de nuevas formulaciones para desarrollar nuevos envases alimentarios tanto flexible (películas) como rígidos (barquetas) que sean capaces de proteger a los productos y alargar la vida útil de los mismos, mediante la incorporación de diferentes aditivos. Es importante destacar que todos los plásticos compostables son biodegradables pero no todos los plásticos biodegradables son compostables (Balaguer et al., 2015). Por ello, tras el desarrollo de los nuevos materiales basados tanto en biopolímeros puros como en sus mezclas incorporando además en algunos casos aditivos como sustancias antimicrobianas o antioxidantes, es necesario la verificación de

que realmente todos estos nuevos envases con el paso del tiempo serán completamente asimilados por el medio ambiente sin que generen ningún residuo sólido urbano.

En este sentido, el compostaje es un proceso de transformación aeróbica de residuos orgánicos diseñado para producir compost. Según la ISO 17088:2012, se conoce como plástico compostable aquel que sufre una degradación debida a un proceso biológico y produce como consecuencia dióxido de carbono, agua, compuestos inorgánicos y biomasa sin dejar ningún residuo visible, distinguible o tóxico.

En los estudios relacionados con el proceso de compostaje, normalmente se incluyen tres etapas: desintegración, biodegradabilidad y ecotoxicidad (Balaguer et al., 2015). Tal y como se muestra en la figura 1.2, la primera etapa es la desintegración/degradación del plástico que se entiende como el proceso de descomposición o rotura física del material en pequeños fragmentos impidiendo la separación de los mismos del resto de residuos (ISO 20200-2005). Para poder afirmar que un plástico es desintegrable, según la norma ISO 20200, los trozos de plástico deben de ser inferiores a 2mm tras el período de compostaje bajo condiciones de temperatura y humedad controladas. La segunda etapa corresponde a la biodegradación de los plásticos. Según la ISO 14855-1:2012, la biodegradabilidad aeróbica final de los plásticos se define como la descomposición de un compuesto orgánico por microorganismos en presencia de oxígeno para dar lugar a dióxido de carbono, agua, sales minerales y nueva biomasa tal y como se ha mencionado anteriormente. Los parámetros de temperatura, humedad, oxígeno y los microorganismos son los responsables de descomponer los plásticos de forma natural en materia orgánica.

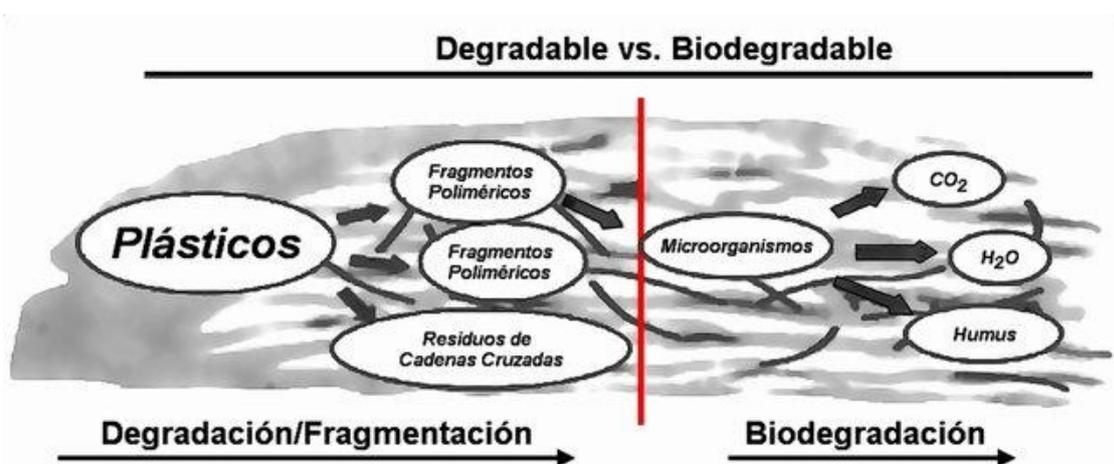


Figura 1.2. Proceso de Degradación o desintegración vs proceso de biodegradación.

En la tercera y última etapa, se realizan ensayos de eco-toxidad, relacionados con el estudio del efecto que producen los compuestos generados en el compost maduro en los seres vivos (en este caso plantas) cuando se utiliza como abono.

## 1.2. Materiales para obtener películas flexibles para el envasado de alimentos

Las películas tradicionalmente se clasifican según su composición. Tal y como se puede observar en la Tabla 1.1, los componentes se clasifican en mayoritarios y minoritarios. Los primeros son polímeros naturales o sintéticos de alto peso molecular capaces de formar la matriz continua de la película. Entre ellos destaca el uso de polisacáridos como almidón o proteínas y polímeros de síntesis química como polivinil alcohol (PVA) o polycaprolactona (PCL).

Tabla 1.1. Componentes de las películas (Palanca, 2014).

MAYORITARIOS		MINORITARIOS	
NATURALES	SÍNTESIS QUÍMICA	Lípidos	Otros:
Polisacáridos	PVA	Plastificantes	- Antioxidantes
Proteínas	PCL	Antimicrobiano	-Material de refuerzo

Las propiedades de las películas dependen de su naturaleza química y estructura molecular pero éstas pueden modificarse como consecuencia de los procesos de fabricación (tratamientos térmicos, secado...) y de la presencia de diferentes aditivos modificantes conocidos como compuestos minoritarios. Estas sustancias se incorporan en pequeñas cantidades para aportar mayor funcionalidad a las películas y a su vez diferentes características a la matriz.

Entre los compuestos minoritarios destacan especialmente los lípidos, por ser compuestos hidrófobos capaces de aportar a la película una buena resistencia al vapor de agua. Los lípidos más utilizados para formar películas son las ceras (cera de abeja, cera de candelilla y cera de carnauba), las gomas (goma laca y goma xantana) y los ácidos grasos (ácido esteárico, palmítico, láurico y oleico) (Palanca, 2014).

También es muy común el uso de plastificantes, sustancias de bajo peso molecular, poco volátiles que mejoran las propiedades mecánicas de la película aportando flexibilidad y

resistencia (Gennadios y Weller, 1990). Los plastificantes actúan reduciendo los enlaces de hidrógeno internos entre las cadenas poliméricas y aumentando el espacio intermolecular, lo que provoca un aumento en la movilidad molecular de la matriz, plastificándola (McHugh y Krochta, 1994a; Sothornvit y Krochta, 2005). Entre los plastificantes más utilizados se encuentran los polioles (glicerol, sorbitol, polietilenglicol, etc.) y los mono- di- y oligosacáridos (jarabe de glucosa y fructosa, miel, etc.).

En otras ocasiones, resulta interesante la adición de sustancias bioactivas con propiedades antimicrobianas con el fin de retrasar el deterioro del alimento y reducir las intoxicaciones (Palanca, 2014), y/o propiedades antioxidantes, que permitan evitar los procesos oxidativos que tienen lugar en los productos alimentarios.

### 1.3. Films o películas a base de Almidón y PVA

Uno de los polímeros naturales más empleado para la elaboración de películas biodegradables es el almidón. Es el principal polisacárido de reserva de la mayoría de vegetales, lo que le convierte en una de las opciones más económicas y disponibles para la sustitución de materiales de envases a base de polímeros convencionales no degradables.

Los gránulos de almidón están formado por dos macromoléculas, la amilosa y la amilopectina (Figura 1.3). La primera está constituida por una cadena lineal compuesta por unidades de glucosa unidas por enlaces  $\alpha$ -(1-4), este polímero constituye aproximadamente el 20% del almidón. La amilopectina es una cadena ramificada en  $\alpha$ -(1-6) (Hye-Ryoung et al., 2005).

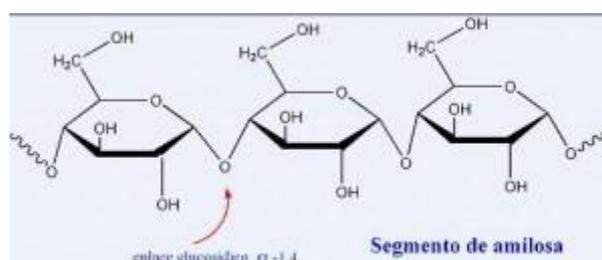


Figura 1.3. Estructura química de la molécula de amilosa y de amilopectina (Fuente: CHOCOLATÍSIMO, 2008).

El almidón permite la elaboración de películas continuas, homogéneas, inodoras, incoloras, transparentes y con baja permeabilidad al oxígeno. Por el contrario presenta algunos

inconvenientes ya que las películas son muy sensibles al agua y con pobres propiedades mecánicas, al ser rígidas y poco extensible (Cano et al., 2015b).

Con el fin de paliar los inconvenientes de las películas de almidón, se han estudiado diferentes posibilidades entre las que destacan, la mezcla con otros biopolímeros de síntesis como el polivinil alcohol (PVA) (Hye-Ryoung et al., 2005). La mezcla almidón-PVA es una de las más prometedoras para la elaboración de plásticos completamente biodegradables (Ishigaki et al., 1999).

El PVA es un polímero lineal (Figura 1.4) incoloro, inodoro, insípido y versátil, con numerosas aplicaciones industriales debido a su biodegradabilidad, biocompatibilidad, resistencia química y excelentes propiedades físicas (Paradossi et al. 2003, Zhai et al., 2003). Además, el PVA es capaz de formar películas transparentes, con alta resistencia química y térmica y con buenas propiedades mecánicas. (Shangwen et al., 2008). A pesar de ser un plástico sintético, se ha demostrado que puede ser degradado por las bacterias del suelo, especialmente por *Pseudomonas* (Lenz, 1993). Sin embargo, aunque el PVA se degrada, el proceso de degradación de PVA puro es bastante lento, especialmente en condiciones anaerobias (Pseja et al., 2006). Otra limitación del uso del PVA es su precio, que es alto en comparación con el almidón, aunque cabe resaltar que dentro del grupo de polímeros sintéticos, destaca por su bajo coste.

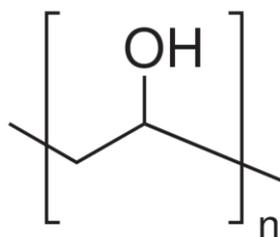


Figura 1.4. Estructura química del monomero de PVA (Fuente: MPBIO).

Una solución potencial para mejorar la velocidad de biodegradación y reducir el coste de las películas a base de PVA es la preparación de mezclas con otros polímeros biodegradables, más baratos y fácilmente procesables, como el almidón (Palanca, 2014). Diversos autores han observado que cuanto mayor es la proporción de almidón en mezclas almidón-PVA, más rápido es su proceso de biodegradación (Russo et al., 2009). Además estudios previos (Cano et al., 2015b; Palanca et al., 2014) han demostrado que las películas obtenidas a partir de esta mezcla son altamente transparentes con una buena barrera al transporte de agua y adecuadas propiedades mecánicas para su uso en el envasado de alimentos.

#### **1.4. Antimicrobianos de origen natural**

En los últimos años, el desarrollo de envases alimentarios activos con el fin de prolongar la vida útil de los alimentos ha recibido un interés creciente. Los antimicrobianos incorporados al envase activo pueden impedir el crecimiento o desarrollo de los microorganismos (bacteriostático y/o fungistático) o la destrucción de los mismos (bactericida o/y fungicida). Estos agentes antimicrobianos se concentran, en la medida de lo posible, cerca de la superficie del producto, que es donde se encuentran la mayoría de los microorganismos que van a provocar la alteración y, en algunos casos, incluso recubren la superficie del propio alimento, formando películas comestibles.

Con el fin de buscar alternativas a las sustancias antimicrobianas sintetizadas químicamente y debido al rechazo cada vez más acentuado que provocan entre los consumidores, se emplean cada vez más antimicrobianos de origen natural. En función de su origen podemos clasificarlos como de origen vegetal o mineral, tal y como se comenta a continuación.

En el caso de los de origen vegetal, los extractos o aceites esenciales obtenidos a partir de hierbas y plantas son los más comunes, puesto que la propia planta genera los compuestos antimicrobianos para protegerse frente a enfermedades o insectos. Los aceites esenciales contienen un 85-99% de sustancias volátiles y un 1-15% de componentes no volátiles. La parte volátil está constituida principalmente por terpenos, terpenoides y otros compuestos aromáticos y alifáticos (Sánchez-González et al., 2011). Entre los aceites esenciales destaca el uso del aceite esencial de orégano como uno de los más activos, el carvacrol (Albado 2001, Palanca, 2014). En cuanto a los extractos vegetales, destacamos el aceite de Neem procedente del árbol de Neem, empleado como planta medicinal durante muchos años. En general todos estos aceites, además de aportar carácter antimicrobiano a las películas, también tiene un efecto adicional en la matriz polimérica, ya que pueden modificar sus propiedades barrera por su naturaleza lipídica, y a las mecánicas.

Por otro lado, se ha demostrado que los metales pesados como zinc, níquel o plata entre otros, son sustancias antimicrobianas. Además, estos metales pueden mejorar tanto las propiedades mecánicas como las propiedades barrera de las películas (Pal et al., 2007). En los últimos años, algunos de estos metales han sido usados en forma de nanopartículas debido a su mayor relación área superficial/volumen, lo cual potencia sus propiedades y amplía las posibilidades de estas partículas en la industria alimentaria (Chaudhry et al., 2008; Emamifar et al., 2010). Cabe resaltar, el uso de las nanopartículas de plata como agentes antimicrobianos

de amplio espectro así como su estabilidad térmica y química, además de ser sustancias no volátiles de bajo coste (Martínez-Abad, 2014; Mohanty et al., 2012).

La principal ventaja de la incorporación de estos antimicrobianos en las películas es que la concentración de los compuestos activos se mantiene durante más tiempo en la superficie del alimento, dónde se encuentra la mayor parte de la contaminación microbiana. (Baldwin et al., 1996). Sin embargo, ambos tipos de agentes antimicrobianos presentan algunas limitaciones. Por ejemplo, los aceites esenciales o extractos de plantas pueden aportar aromas o sabores no deseados al alimento y cierta opacidad a las películas, tanto por parte de los aceites como de las nanopartículas de plata. Ambas limitaciones pueden ser un problema desde el punto de vista del consumidor.

## 2. OBJETIVOS

El objetivo general del presente trabajo fue evaluar tanto la desintegración como la biodegradación bajo condiciones de compostaje de películas destinadas a entrar en contacto con alimentos, con el fin de minimizar el impacto ambiental que supone el residuo de los envases de plásticos convencionales. Para ello, se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- Analizar el contenido en agua y la solubilidad de las películas tras su obtención.
- Conocer el proceso de desintegración y biodegradación de las matrices puras, almidón (S) y polivinil alcohol (PVA) así como de la mezcla (M) de ambos materiales.
- Evaluar el efecto que tiene la adición de diferentes agentes antimicrobianos naturales (Aceite esencial de orégano - O, aceite de neem – N y nanopartículas de plata - AgNPs) en las películas sobre la posible desintegración o biodegradación de las películas.
- Evaluar la evolución de las películas durante el proceso de desintegración a diferentes tiempos de ensayo (0, 14, 41 y 73) mediante análisis termogravimétrico (TGA) y análisis de la superficie de las películas tanto a nivel microestructural como mediante la apariencia de las películas.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Materiales (utilizados en las matrices de las películas)

Los materiales utilizados para obtener las películas biodegradables fueron almidón de guisante (Roquette Laisa, Benifaio, Valencia, España), polivinil alcohol (Mw: 89.000 - 98.000, grado de hidrólisis > 99% y viscosidad 11,6 - 15,4 cP, Sigma Aldrich Química S.L., Madrid, España) y glicerol (Panreac Química S.A., Castilla de vallés, Barcelona, España).

Se utilizaron diferentes sustancias naturales con carácter antimicrobiano clasificadas según el origen de las mismas: origen vegetal: aceite de Neem (Magnolia Ibérica S.A., Vilassar de Mar, Barcelona, España) y aceite esencial de orégano (Herbes del Molí, Benimarfull, Alicante, España); y de origen mineral: nanopartículas de plata obtenidas a partir de la reducción de  $\text{AgNO}_3$  (Sigma Aldrich Química, Madrid, España).

#### 3.2 Preparación de películas

Para realizar el experimental se prepararon once dispersiones formadoras de films (DFF) a base de polivinil alcohol (PVA), almidón de guisante (S), y la mezcla de ambos materiales (mezcla-M). A la formulación M, se le incorporaron las diferentes sustancias antimicrobianas. Tanto el aceite de Neem (M-N) como el aceite esencial de orégano (M-O) se introdujeron a dos concentraciones diferentes y las nanopartículas de plata (AgNPs) fueron incorporadas en cuatro concentraciones distintas (Tabla 3.1).

Tabla 3.1. Ratio polímero: antimicrobiano (AA) y nomenclatura de las diferentes formulaciones

Antimicrobiano (AA)	Ratio Polímero:AA	Concentración en film (g AA / por film)	Nomenclatura
Aceite de Neem (N)	1:0,125	0,1	N-1
	1:0,5	0,333	N-2
Aceite esencial de Orégano (O)	1:0,125	0,1	O-1
	1:0,5	0,333	O-2
Nitrato de Plata ( $\text{AgNO}_3$ )	1:0,006	0,00464	Ag-1
	1:0,06	0,0464	Ag-2
	1:0,16	0.116	Ag-3
	1:0,32	0.232	Ag-4

Todas las películas ensayadas se obtuvieron por vía húmeda o casting. Las películas mezcla se obtuvieron a partir del protocolo que se detalla a continuación:

En primer lugar se preparó la dispersión de almidón (2 %p/p) y se gelatinizó calentándola a 95 C durante 30 minutos en un baño de agua (J.P. Selecta S.A., Barcelona, España). A continuación, cuando la disolución gelatinizada se enfrió, se homogenizó con un rotor-estator ultraturrax (IKA®-WERKE, Alemania) durante 4 minutos: 1 minuto a 13.500 rpm y 3 minutos a 20.500 rpm. A continuación, la dispersión se calentó hasta 90 C en una placa calefactora y se añadió el PVA en un ratio S:PVA de 2:1, esta dispersión se mantuvo en agitación durante 30 minutos a 90 C. Para finalizar, se dejó enfriar la mezcla y se añadió el glicerol en un ratio S: Gly 1: 0,25. Para preparar la DFF con la que se obtuvieron las películas de S, se siguió el mismo procedimiento descrito pero sin la adición del PVA; para la obtención de las películas de PVA, se preparó una DFF al 1% p/p de PVA.

Los antimicrobianos naturales de origen vegetal (N y O) se añadieron directamente a la DFF-Mezcla en la concentración correspondiente en cada caso y se procedió a su homogeneización mediante el ultraturrax durante 4 minutos a 12.500 rpm. De esta forma se consiguió una emulsión homogénea buena.

Para obtener las películas con AgNPs es necesario realizar una reacción química de reducción empleando nitrato de plata. Para ello, en primer lugar se gelatinizó el almidón y se homogeneizó bajo las condiciones detalladas para la DFF-Mezcla (1 min 13.500 rpm – 3 min 20.500 rpm). A continuación se elevó la temperatura hasta 85 C y se añadió el PVA y el  $\text{AgNO}_3$ , según los ratios S: PVA 1: 0,5 y S:  $\text{AgNO}_3$  1: 0,32. La disolución estuvo a esta temperatura y en agitación a 1000 rpm durante 30 minutos y bajo radiación UV acelerando así la reacción de reducción. Para finalizar se añadió el glicerol a cada una de las soluciones, siempre en un ratio S: Gly de 1: 0,25.

A continuación se vertió la dispersión formadora de films, previamente desgasificada, en placas de teflón de 15 cm de diámetro (Figura 3.1). Se vertieron 1,5 gramos de sólidos de cada formulación en cada placa, obteniendo una densidad superficial de 84,89 g/m<sup>2</sup>.



Figura 3.1. Placa de teflón utilizada para la formación de las películas.

Las películas se dejaron secar en una superficie equilibrada a una temperatura de 20 C y una humedad relativa del 45 %. Una vez secas se separaron de las placas cuidadosamente (Figura 3.2) y fueron almacenadas a temperatura ambiente (25 C).

Se obtuvieron 24 películas de cada tipo para la realización del experimental completo.

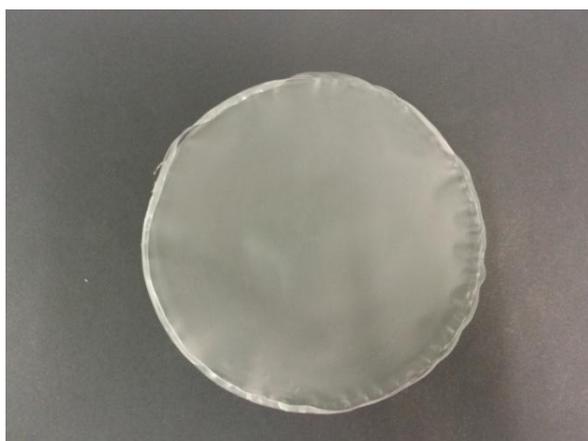


Figura 3.2. Aspecto de la película una vez seca y separada de la placa de teflón.

Adicionalmente, al inicio del ensayo se determinó la humedad y la solubilidad de las películas.

### **3.3. Determinación de la humedad y la solubilidad de las películas**

Para determinar la humedad de las películas se secaron las muestras en una estufa a 60 C durante 48 h y a continuación, se almacenaron en un desecador con  $P_2O_5$  durante 15 días hasta alcanzar peso constante. Se realizaron cinco repeticiones para cada formulación (Figura 3.3).

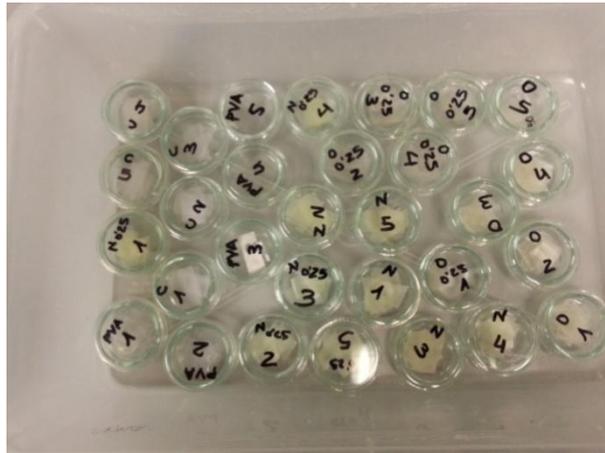


Figura 3.3. Muestras para la determinación del contenido de humedad.

Para determinar la solubilidad de las películas, se añadió agua en un ratio película: agua de 1:10 a una muestra de peso conocido. Tras 48 horas en contacto, se introdujeron en una estufa a 60 C durante 24h y para finalizar fueron transferidos a un desecador de  $P_2O_5$  durante 15 días hasta alcanzar un peso constante. Se realizaron 5 repeticiones de cada formulación.

### 3.4 Test de desintegración

La determinación del grado de desintegración de las películas se realizó mediante una adaptación de la norma ISO 20200:2004.

Debido a la alta cantidad de muestras, el ensayo se dividió en 2 partes, cada una de ellas se extendió durante 73 días y se utilizaron 20 reactores.

Se preparó un total de 20 Kg de residuo sintético (compost sin madurar) para introducir en cada uno de los reactores (1 Kg por reactor). La mezcla se obtuvo a partir de los materiales que se detallan en la Tabla 3.2 constituyendo el 45% del total del compost sin madurar y el 55% restante se completó con agua.

Tanto al inicio (día 0) como al final del ensayo (día 73) tras mantener las muestras a 58°C se tomaron muestras homogéneas de compost para determinar los siguientes parámetros:

-Sólidos secos (DS): Para ello el compost se pesó en una flanera con arena (Panreac Química, Castellar de Valles, Barcelona, España) y se secó a 105 °C en una estufa de convección (J.P. Selecta S.A., Barcelona, España) hasta peso constante (ecuación 1):

$$DS (\%) = \frac{m_s^{105}}{m_h^i} \times 100 \quad (1)$$

- Sólidos volátiles (VS): El compost se secó en una estufa de convección a 105 °C hasta peso constante y posteriormente se calcina a 550 °C durante 8 horas en una mufla hasta peso constante (ecuación 2):

$$VS (\%) = \frac{m_s^{105} - m_s^{550}}{m_s^{105}} \times 100 \quad (2)$$

Donde  $m_h^i$  es la masa húmeda inicial de compost,  $m_s^{105}$  la masa seca de compost tras haber estado a 105°C y  $m_s^{550}$  la masa de compost tras la calcinación a 550°C.

- Relación C/N se obtuvo a partir de la ecuación 3, que se detalla a continuación:

$$C/N = \frac{VS (\%)}{2} \quad (3)$$

Tabla 3.2. Composición del residuo sintético (compost sin madurar)

Material	% Masa seca
<b>Serrín</b> (Productos de Limpieza Adrián, Almacera, Valencia, España)	40
<b>Comida de conejo</b> (Super Feed S.L., Madrid, España)	30
<b>Compost maduro</b> (Planta de residuos sólidos urbanos)	10
<b>Almidón de maíz</b> (Roquete Laisa España S.A., Rosselló, Barcelona, España)	10
<b>Sacarosa</b> (azúcar blanco, ACOR Sociedad Cooperativa General Agropecuaria, Valladolid, España)	5
<b>Aceite refinado de germen de maíz</b> ( acidez máxima 0,2, Sovena España S.A., Brenes, Sevilla, España)	4
<b>Urea</b> (Urea 46% Prill, Tarazona, España)	1

Para la llevar a cabo el ensayo de desintegración de las películas, tal y como indica la norma, las muestras fueron cortadas en rectángulos de 25mm x 25mm ya que el espesor de las películas fue inferior de 5mm. En cada reactor fueron introducidos aproximadamente 5 gramos de muestra, que correspondieron con unas 100 muestras de película (figura 3.4), y un kilogramo de compost. Para cada formulación se llevaron a cabo tres repeticiones.



Figura 3.4. Muestras preparadas para iniciar el test de desintegración

Tanto el compost como las muestras se introdujeron en cajas de polipropileno de dimensiones 30 cm x 20 cm x 10 cm (figura 3.5). En el ancho de 20 cm, a 6,5 cm del fondo, se realizó un agujero en cada lado de 5 mm de diámetro con el fin de que las cajas, una vez cerradas con su correspondiente tapa, pudieran intercambiar gases con el exterior evitando el estado de anaerobiosis de los microorganismos que están en el compost.



Figura 3.5. Reactores con las muestras

Los reactores se colocaron en una estufa a  $58 \pm 2$  C (J.P. Selecta S.A., Barcelona, España) durante los 73 días de ensayo asegurando un período de incubación termófilo. Para asegurar un correcto proceso de compostaje fue necesario mantener los niveles de agua especificados por la norma ISO en los reactores, según Tabla 3.3.

Tras los 73 días de incubación, las películas se secaron en estufa a vacío a  $40 \pm 2$  C hasta peso constante y, los reactores con el compost se dejaron a la misma temperatura del ensayo (58 C) sin tapa hasta alcanzar un peso constante.

Finalmente, se calculó el grado de desintegración de la película siguiendo la ecuación 4 :

$$D(\%) = \frac{m_i - m_r}{m_i} \times 100 \quad (4)$$

donde  $m_i$  es el peso seco inicial de la película introducido en el reactor y  $m_r$  es el peso seco final tras finalizar el ensayo.

Tabla 3.3. Niveles de agua especificados por la norma ISO.

Días	Operación
0	Establecer la masa inicial del reactor
1, 2, 3, 4, 7, 9, 11, 14	Restablecer masa inicial con agua. Mezclar
8, 10, 16, 18, 21, 23, 25, 28	Restablecer masa inicial con agua. No mezclar
30, 45	Restablecer 80% de masa con agua. Mezclar
Desde 30 hasta 60 dos por semana	Restablecer 80% de masa con agua. No mezclar
Desde 60 hasta el final dos por semana	Restablecer 70% de masa con agua. No mezclar

### 3.5. Pérdida de peso

Paralelamente, se preparó un reactor más para cada formulación en el cuál se introdujeron muestras que posteriormente se fueron sacando a diferentes tiempos (0, 1, 2, 7, 10, 14, 21, 41, 50, 60 y 73 días) para realizar un control de peso. Las muestras de estos reactores fueron introducidas en bolsitas individuales numeradas con agujeros de 1 mm (figura 3.6) para que estuvieran en contacto continuo con el compost y a la vez fuera fácil la recuperación de la muestra.

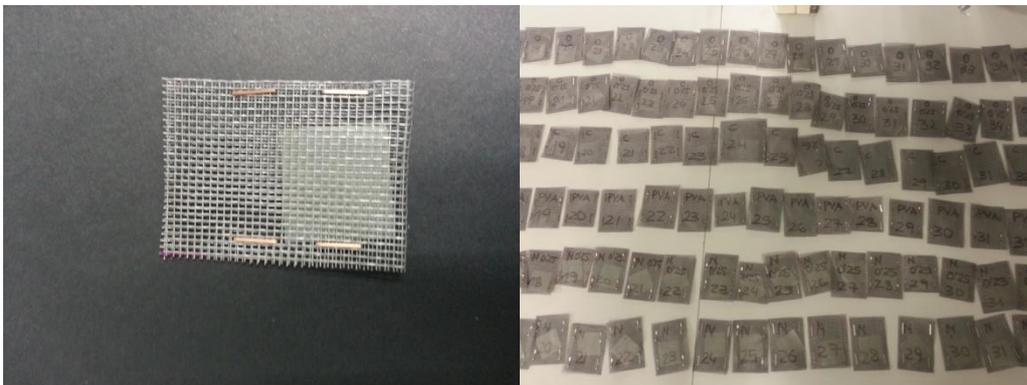


Figura 3.6. Muestras preparadas para la determinación de la pérdida de peso a diferentes tiempos.

Para ello se pesaron antes de introducir en el reactor y una vez sacada, se mantenía una semana en estufa de vacío (J.P. Selecta S.A., Barcelona, España) a  $40\pm 2$  C y a continuación se equilibraban 15 días hasta peso constante en un desecador con  $P_2O_5$  (HR 0%). Los análisis se realizaron como mínimo por triplicado.

### 3.6. Análisis de imagen

A los tiempos de 0, 14, 41 y 73 días, se realizó un análisis de imagen mediante un microscopio óptico (Química y Medio Ambiente S.L., Valencia, España) para observar la desestructuración de las películas. Se obtuvieron imágenes a dos aumentos diferentes (20X y 63X) Además, se realizó un seguimiento fotografiando las mismas muestras (2 muestras para cada formulación) a los 4 tiempos. Mediante el programa Photoshop (CS5), se realizó un análisis de imagen, calculando la superficie de las mismas para cada tiempo.

### 3.7. Análisis térmico

Se realizó un análisis termogravimétrico (TGA)(Mettler Toledo, Suiza) a 0, 14, 41 y 73 días para observar los cambios en la estabilidad térmica de los materiales. Se trata de una técnica en la que la masa de la muestra es controlada con una balanza analítica respecto del tiempo o la temperatura permitiendo detectar el momento y los grados a los que se produce una variación acusada de masa (descomposición). Se estableció un ciclo de temperaturas de 25 C a 600 C y 10 C/min. Se analizaron aproximadamente 10 mg de película que se introdujeron en un crisol (Figura 3.7) de aluminio perforado. El análisis se realizó como mínimo por duplicado para cada tiempo.



Figura 3.7. Análisis termogravimétrico. Izquierda: crisol que contiene la muestra; derecha: TGA

### 3.8. Test de biodegradabilidad

El test de biodegradabilidad ensayado es una adaptación al método para la determinación de la biodegradabilidad aeróbica de plásticos basado en la norma ISO 14855-1:2012. En él, se relaciona el porcentaje de biodegradabilidad en función del CO<sub>2</sub> generado. El ensayo tiene lugar en unas condiciones de temperatura, humedad y aireación fuertemente controladas. Para ello, cada película fue puesta en contacto con el inóculo durante un periodo de 45 días.

Como inóculo se empleó un compost bien aireado de una planta de compostaje aeróbico en funcionamiento. Como en el ensayo anterior se determinaron, los sólidos secos (DS) y los sólidos volátiles (VS) tanto al inicio como al finalizar el ensayo. También se determinó el pH para comprobar que sus valores se encontraban entre 7 y 9. Además, el compost fue mezclado con vermiculita (Comercial Química Massó S.A., Viladomar, Barcelona, España), para facilitar la oxigenación del mismo y para favorecer la supervivencia y actividad de los microorganismos.

Para llevar a cabo el ensayo fue necesario un bote de vidrio hermético de una capacidad de 2L con un septum en la tapa empleado como puerto inyectable desde donde se tomaron las medidas de respiración y dos vasos de polipropileno de una capacidad de 60mL. En uno de ellos fueron incluidos 3 gramos de compost, 1 gramo de vermiculita, 50 mg de Carbono equivalente del material de ensayo (aproximadamente 100mg de película triturada en un molinillo, Moulinex, España) y 50 % p/p de agua (figura 3.8). Mientras que en el otro solo se añadió agua para mantener el ambiente del tarro a una humedad relativa del 100%.

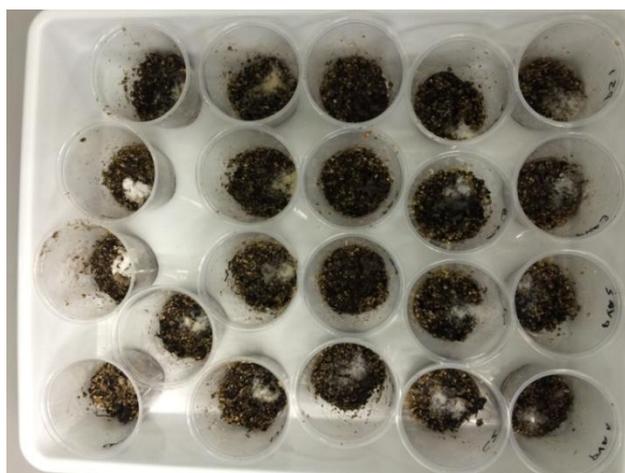


Figura 3.8. Vasos preparados con compost, vermiculita y muestra.

Como material de ensayo se seleccionaron solo las formulaciones con mayor concentración de antimicrobiano, la matriz mezcla y la matrices puras de almidón y PVA. Además se utilizó

celulosa microcristalina (Sigma-Aldrich, Irlanda) como material de referencia y un blanco sin ningún material. Se realizaron tres repeticiones para cada formulación.

Previamente al ensayo, con el objeto de obtener la cantidad exacta de carbono equivalente que contenía cada muestra, se determinó la composición de cada película mediante un análisis elemental de C, N, H (Microanalizador elemental, Eager 200, Micro TruSpec de LECO instrumentos S.L., Madrid). El análisis fue realizado por duplicado.

La incubación de los reactores se realizó en una estufa (J.P. Selecta S.A., Barcelona, España) a  $58 \pm 2$  C. El  $\text{CO}_2$  producido en cada bote fue determinado con un equipo Dansensor (PBI Dansensor, CheckMate 9900  $\text{O}_2/\text{CO}_2$ , Dinamarca). Al comienzo del experimental, la respiración de las bacterias aerobias es mayor por lo que la medida se realizó todos los días, tras este primer periodo, las medidas se fueron alargando. Se controló en todo momento que la concentración de oxígeno nunca fuera menor del 6% garantizando que no se produjeran condiciones de anaerobiosis. Una vez a la semana se añadía agua si era necesario y se removía el compost.

Asumiendo que todo el carbono presente en las muestras sería transformado en  $\text{CO}_2$  se calculó la cantidad teórica de  $\text{CO}_2$  mediante la ecuación 5:

$$\text{CO}_2^{\text{Th}} = m_m \cdot C_m \cdot \frac{\text{PM}_{\text{CO}_2}}{\text{PM}_C} \quad (5)$$

Donde  $m_m$  (g) es el peso de película seca introducida en el bote,  $C_m$  es la proporción de carbono orgánico que hay en la muestra seca (g C/g de muestra seca),  $\text{PM}_{\text{CO}_2}$  es el peso molecular del  $\text{CO}_2$  (44g/mol) y  $\text{PM}_C$  es el peso molecular del C (12g/mol).

El  $\text{CO}_2$  teórico junto a los registros de  $\text{CO}_2$  generado a cada tiempo permitió calcular el porcentaje de biodegradación, ecuación 6:

$$\%B = \frac{\sum \text{CO}_{2m} - \sum \text{CO}_{2B}}{\text{CO}_2^{\text{Th}}} \times 100 \quad (6)$$

Donde  $\Sigma\text{CO}_{2m}$  es la cantidad acumulada de  $\text{CO}_2$  generada por la muestra,  $\Sigma\text{CO}_{2B}$  es la cantidad acumulada de  $\text{CO}_2$  generada por el blanco.

Para conocer la cantidad real de  $\text{CO}_2$  fue necesario multiplicar toda la expresión por 3,12 correspondiente al producto del volumen de espacio de cabeza (1965mL) y la densidad del  $\text{CO}_2$  (0,00159 g/ml).

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Análisis de compost

Para que el experimental se desarrolle de forma adecuada es importante el control del compost empleado. Para ello se determinó la humedad y los sólidos volátiles al inicio y al finalizar el ensayo. En la Tabla 4.1. se observa que tanto el contenido en agua como los sólidos volátiles disminuyeron significativamente ( $p < 0.05$ ) tras el proceso de compostaje, en el cual se produce una fermentación aeróbica sometiendo el compost a 58 C durante 73 días. Además, dicha fermentación provocó algunos cambios en el color del compost, los cuales se desarrollaron hacia tonalidades más oscuras. Este comportamiento ha sido también descrito por otros autores (Arrieta et al., 2014).

Tabla 4.1. Propiedades del compost al inicio y final de los ensayos.

COMPOST	CONTENIDO EN AGUA (%)	SÓLIDOS VOLÁTILES (%)
TIEMPO 0	143 ± 6 <sup>a</sup>	96 ± 2 <sup>a</sup>
TIEMPO 73	93 ± 5 <sup>b</sup>	88 ± 3 <sup>b</sup>

<sup>a, b</sup> Diferentes superíndices dentro de una columna indican diferencias significativas entre productos. ( $p < 0,05$ ).

### 4.2. Humedad y solubilidad de las películas

Tanto la humedad como la solubilidad de las películas son dos propiedades íntimamente relacionadas con la degradación de las mismas. En la Tabla 4.2. se muestran los resultados de humedad y solubilidad de cada una de las formulaciones. Como cabe esperar, las películas de S, PVA y la mezcla, presentaron diferencias significativas entre ellas ( $p < 0.05$ ) para ambas propiedades.

En cuanto a humedad, las películas de S mostraron menor contenido en agua ( $p < 0.05$ ) que las de PVA, mientras que las películas M (con y sin antimicrobianos) presentaron niveles de humedad intermedios siguiendo la tendencia descrita previamente por Cano et al., 2015b. Además, la humedad de las películas M fue similar a la de Palanca, 2014 para películas mezcla a base de S-PVA.

La solubilidad de las películas (Tabla 4.2) expresada como g film disuelto/ g de films es relativamente alta, de acuerdo a la naturaleza hidrofílica de las películas (Cano et al., 2015b).

Tal y como se ha comentado previamente, se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los valores de solubilidad de las películas puras de S y PVA. Las películas de almidón fueron significativamente más solubles en agua que las de PVA. Las películas M mostraron valores similares a los de almidón ( $p > 0.05$ ), en coherencia con su mayor porcentaje en la mezcla.

La incorporación de aceites o nanopartículas de plata (AgNPs) no tuvo un efecto significativo en la solubilidad de las películas, seguramente por la baja proporción en las mismas.

Tabla 4.2. Contenido en agua y solubilidad de las películas.

<b>FILMS</b>	<b>CONTENIDO EN AGUA (% base seca)</b>	<b>SOLUBILIDAD (g film disuelto/g film seco)</b>
<b>S</b>	$4,6 \pm 0,5^a$	$0,1122 \pm 0,0204^a$
<b>PVA</b>	$6,85 \pm 0,05^e$	$0,0678 \pm 0,0018^e$
<b>M</b>	$5,4 \pm 0,9^b$	$0,1003 \pm 0,0196^{abc}$
<b>1N</b>	$6,4 \pm 0,2^{de}$	$0,1102 \pm 0,0056^{ab}$
<b>2N</b>	$4,637 \pm 0,116^{ab}$	$0,085 \pm 0,006^d$
<b>1O</b>	$5,13 \pm 0,09^a$	$0,096 \pm 0,009^d$
<b>2O</b>	$5,6 \pm 0,7^{bc}$	$0,14002 \pm 0,01069^f$
<b>1Ag</b>	$6,06 \pm 0,13^{cd}$	$0,106 \pm 0,013^{ab}$
<b>2Ag</b>	$6,33 \pm 0,14^{de}$	$0,089 \pm 0,007^{cd}$
<b>3Ag</b>	$6,0 \pm 0,2^{cd}$	$0,095 \pm 0,002^{bcd}$
<b>4Ag</b>	$5,11 \pm 0,13^{ab}$	$0,0897 \pm 0,0035^{cd}$

a, b, c, d, e, f Diferentes superíndices dentro de una columna indican diferencias significativas entre productos. ( $p < 0,05$ ).

### 4.3. Ensayo de desintegración

El método empleado para la determinación del grado de desintegración pretende simular las condiciones de un proceso de compostaje aerobio. A partir de éste se obtienen los resultados de porcentaje de desintegración reflejados en la Tabla 4.3. Para que el test tenga validez es necesario que se cumplan dos requisitos:

- Por una parte, el descenso del contenido en sólidos volátiles ha de ser mayor o igual de un 30%. En el ensayo realizado los valores obtenidos en todas las formulaciones estuvieron comprendidos entre un  $55 \pm 4 - 62 \pm 2$  %.
- Por otra parte, la diferencia del grado de desintegración entre las tres repeticiones de cada formulación no debe superar el 10%, como se observa en las desviaciones de la Tabla 4.3. en ningún caso fue superado dicho porcentaje.

Tras esta aclaración, se puede concluir que el ensayado de desintegración realizado se considera válido puesto que ambos requisitos se cumplieron.

En cuanto al porcentaje de desintegración, llama la atención la casi completa desintegración de las películas de almidón (97%) y la prácticamente nula del PVA (3%) tras los 73 días. Este resultado parece confirmar que todos los materiales biodegradables no tienen por qué ser desintegrables tal y como ha descrito previamente Balaguer et al., 2015.

En la formulación mezcla M y el resto de formulaciones, se encontraron porcentajes comprendidos entre ambos valores, alrededor del 60-66%. Azhari et al., 2011 también observó que películas PVA-almidón de maíz, el porcentaje de desintegración era mayor a medida que aumentó el contenido en almidón en las muestras.

La adición de sustancias antimicrobianas en bajas dosis no afectó a la desintegración de la película ya que, en general, no se encontraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre el porcentaje de las películas control (M) sin y con antimicrobianos. Sin embargo, en las que incorporaron mayor concentración de antimicrobianos (M-2N, M-2O, M-4Ag), el porcentaje de desintegración fue significativamente mayor. Este efecto puede ser atribuido a una mayor desestructuración de la matriz provocada por la inestabilidad mecánica que aportan las partículas o gotas de aceite incorporadas, permitiendo una mayor erosión de la matriz. Esto fue más notable en las películas que incorporaron aceite esencial de orégano en mayor proporción, seguramente por su mayor volatilidad, que hace que el debilitamiento estructural de la matriz sea mayor. Resultados similares han sido descritos por Arrieta et al., (2014) en películas de PLA-PHB que contenían limoneno como agente antimicrobiano.

Tabla 4.3. Porcentaje de desintegración de las muestras introducidas en los reactores tras finalizar el ensayo a los 73 días.

PELÍCULA	DESINTEGRACIÓN (%)
<b>S</b>	$97 \pm 3^a$
<b>PVA</b>	$3 \pm 2^f$
<b>M</b>	$60 \pm 4,05^{de}$
<b>M-1N</b>	$63 \pm 2^{cd}$
<b>M-2N</b>	$64 \pm 2^{bcd}$
<b>M-1O</b>	$59 \pm 3^e$
<b>M-2O</b>	$68 \pm 3^b$
<b>M-1Ag</b>	$60,24 \pm 1,12^{de}$
<b>M-2Ag</b>	$63,83 \pm 0,99^{bcd}$
<b>M-3Ag</b>	$63,7 \pm 0,5^{bcd}$
<b>M-4Ag</b>	$66,5 \pm 1,5^{bc}$

a, b, c, d, e. Diferentes superíndices dentro de una columna indican diferencias significativas entre productos. ( $p < 0,05$ ).

#### 4.3.1. Análisis de imagen

Tal y como se ha comentado en el apartado de materiales y métodos, durante el transcurso del ensayo de desintegración se fueron sacando muestras de los diferentes reactores en días determinados (0, 14, 41 y 73) para realizar un análisis de imagen y una análisis termogravimétrico detallado de las muestras.

El análisis de imagen que se realizó para observar los cambios estructurales en las películas fue tanto a nivel micro como macro. Por una parte se observaron las películas mediante un microscopio óptico obteniendo imágenes a dos aumentos (20x y 63x), las cuales se encuentran en el Anexo A, Figura 7.1. Por otra, se realizó un seguimiento fotográfico de la evolución de una misma muestra en los tiempos establecidos (0, 14, 41 y 73).

Las imágenes obtenidas en el microscopio óptico (anexo A) muestran que a pesar de que inicialmente todas las películas tuvieron una estructura característica y diferente, tras el tiempo en compostaje presentaron en todos los casos estructuras muy similares, más

desorganizadas. Las imágenes de películas de S muestran una estructura más desordenada que las de PVA, donde se puede observar las alineaciones de las cadenas poliméricas. Las películas M muestran una estructura intermedia entre ambas películas. Las que incorporaban aceites mostraron tonalidades amarillentas. En las películas con aceite de neem destacó la presencia de agujeros producidos por la degradación, los cuales a simple vista no se llegaron a apreciar. En las películas que se incorporaron AgNPs llamó la atención la pérdida de color rojizo que aparece a tiempo inicial. Además, se apreció una clara pérdida de espesor ya que a tiempo 0 la luz del microscopio no llegó a atravesar las muestras con mayor concentración por lo que no se pudo observar ninguna imagen en el objetivo, indicando un mayor espesor de estas. Sin embargo, tras 14 días, la luz ya fue capaz de atravesar todas las muestras.

Por otra parte, la evolución visual de las muestras a nivel macroscópico desde el inicio hasta el transcurso de los 73 días bajo condiciones de compostaje se muestra en la Figura 4.1.

Se puede observar la rápida desintegración de las películas de almidón puro estando totalmente degradado a tiempo final. Sin embargo, las películas de PVA se muestran pocas variaciones a lo largo del ensayo. Como cabe esperar, las películas obtenidas a partir de la mezcla de ambos polímeros tuvieron un comportamiento intermedio, degradándose más que las películas de PVA.

La adición de aceites afectó a la apariencia inicial de las películas, tomando un aspecto amarillento. A pesar de ello, se observó una degradación muy similar a la descrita por las películas M, aunque cabe destacar la presencia de pequeños agujeros en la película M-2N.

En el caso de la adición de AgNPs, las películas adoptaron una tonalidad rojiza-parduzca que dependía de la cantidad de plata incorporada. Esta tonalidad inicial pasó a ser ligeramente metálica poco después del inicio del experimental, seguramente debido a la aglomeración de las AgNPs. Palanca (2014) también observó mayores tonalidades rojizas, así como menores valores de transmitancia interna (medida de la transparencia) cuanto mayor era la concentración de AgNPs incorporadas en películas de S-PVA.

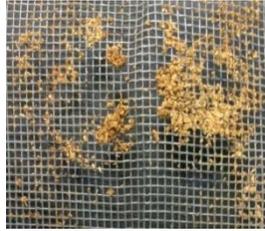
S-0



S-14



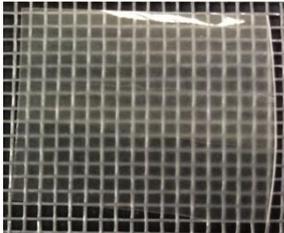
S-41



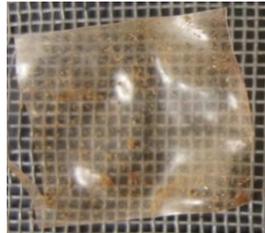
S-73



PVA-0



PVA-14



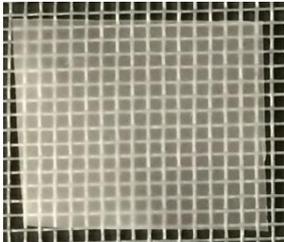
PVA-41



PVA-73



M-0



M-14



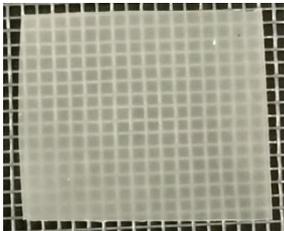
M-41



M-73



M-1N-0



M-1N-14



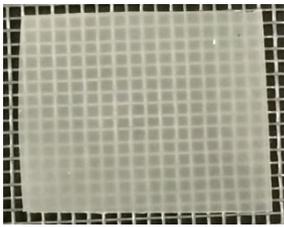
M-1N-41



M-1N-73



M-2N-0



M-2N-14



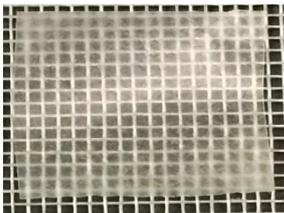
M-2N-41



M-2N-73



M-10-0



M-10-14



M-10-41



M-10-73



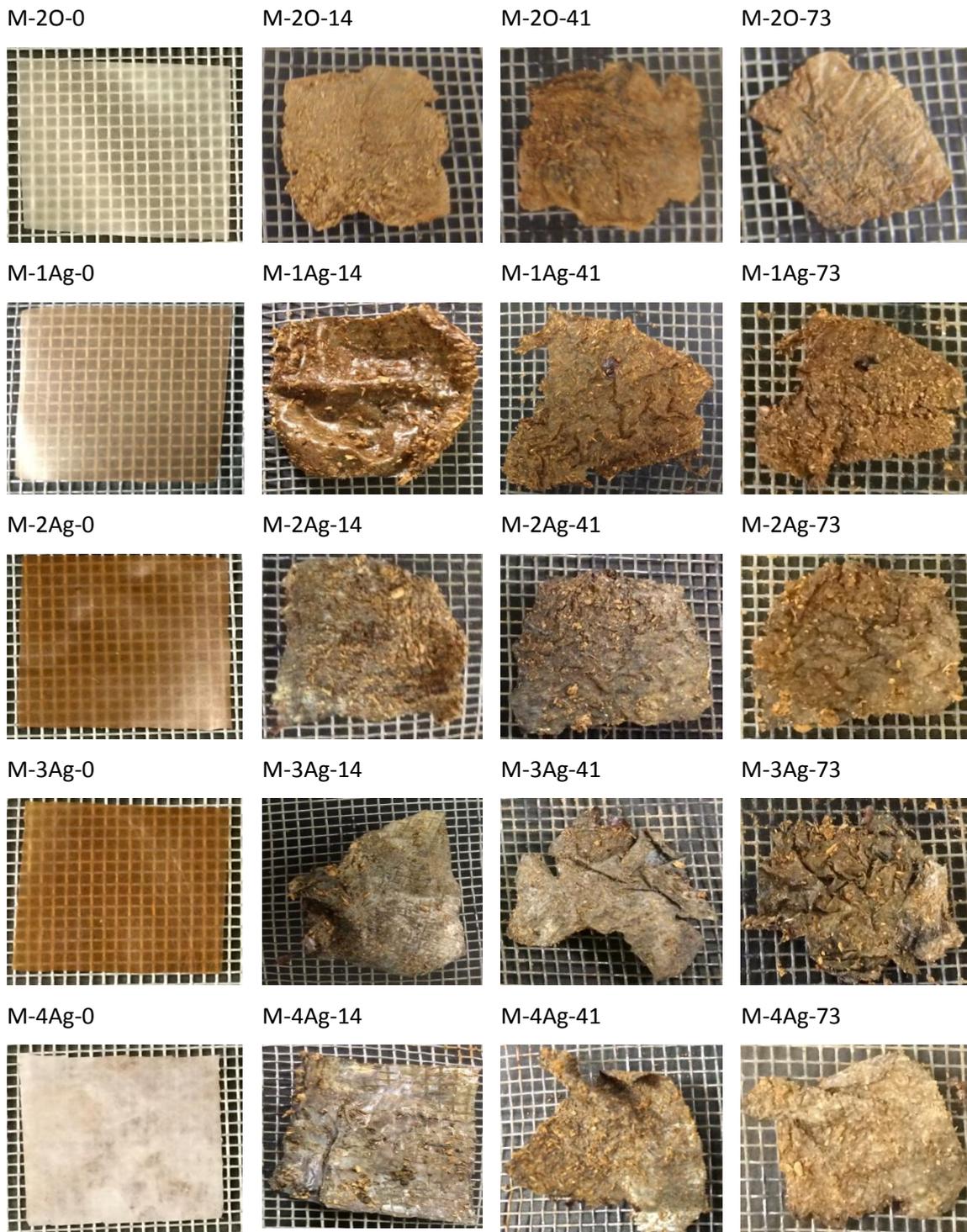


Figura 4.1. Aspecto visual de las películas a diferentes tiempos de desintegración.

A partir de estas imágenes, se calculó la superficie en cada tiempo (Figura 4.2 a y b), así como la variación de superficie respecto a la inicial con el tiempo (Tabla 4.4). Como se observa en la Figura 4.2, la variación de superficie, tanto para las películas M como para las películas a las que se incorporaron agentes antimicrobianos, tuvo un comportamiento intermedio entre las matrices puras (S y PVA). Además, se encontraron dos tipos de comportamientos: por una

parte, las películas puras de PVA, M, M-1N y M-2N sufrieron un proceso de expansión a tiempo 14 debido a la retención de agua a la matriz y consecuente hinchamiento de las cadenas poliméricas. Posteriormente, la superficie disminuyó como consecuencia de la degradación de la matriz. Por otro lado, en el resto de formulaciones (S, M-1O, M-2O y las de plata) la superficie disminuyó de forma marcada durante los primeros 14 días sin presentar ninguna expansión en la misma, y partir de entonces, los cambios fueron muy ligeros.

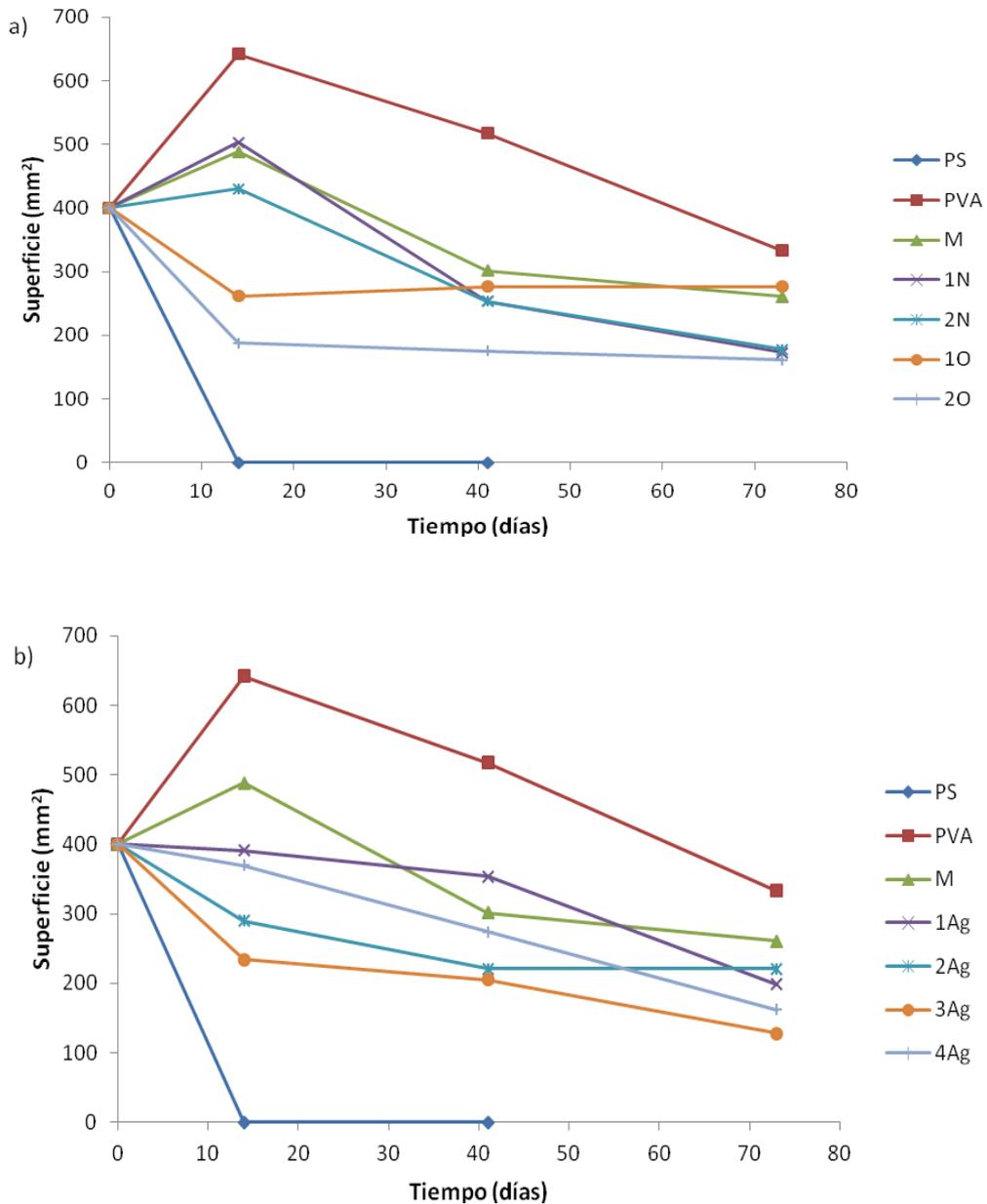


Figura 4.2. Superficie de las películas puras y mezcla M a) con extracto de plantas y b) con nanopartículas de plata en el proceso de desintegración determinada a diferentes tiempos.

Los resultados obtenidos en la Tabla 4.4 muestran la reducción de superficie de las películas, que fue completa para el S (100%), tal y como se ha comentado anteriormente. Por el contrario, las de PVA tan sólo disminuyeron un 17% y las M, tal y como cabe esperar, se redujeron hasta un 35% (valor intermedio). Parece que las películas a las que se añadieron antimicrobianos naturales alcanzaron una mayor reducción en su superficie ( $p < 0.05$ ) en comparación con las películas M, en coherencia con el porcentaje de desintegración descrito previamente.

Tabla 4.4. Variación de la superficie de las películas tras 73 días.

PELÍCULA	$\Delta S$ (%)
<b>S</b>	$100 \pm 0^a$
<b>PVA</b>	$17 \pm 3^a$
<b>M</b>	$35 \pm 7^{ab}$
<b>M-1N</b>	$57 \pm 6^{bc}$
<b>M-2N</b>	$55,6 \pm 1,4^{bc}$
<b>M-1O</b>	$31 \pm 2^a$
<b>M-2O</b>	$60 \pm 19^b$
<b>M-1Ag</b>	$50,434 \pm 1,105^{bc}$
<b>M-2Ag</b>	$45 \pm 20^{abc}$
<b>M-3Ag</b>	$68 \pm 20^c$
<b>M-4Ag</b>	$60 \pm 11^{bc}$

a, b, c, d. Diferentes superíndices dentro de una columna indican diferencias significativas entre productos. ( $p < 0,05$ ).

#### 4.3.2. Análisis termogravimétrico

Se realizó un análisis termogravimétrico con el fin de analizar la estabilidad térmica de las muestras a los distintos tiempos sometiéndolas a un barrido de temperaturas determinado (25 C – 600 C).

En la Figura 4.3. aparece representado el porcentaje de pérdida de peso (TG) y su derivada (DTG) para las muestras puras de PVA y M. La gráfica del almidón no se muestra porque, debido a su rápida degradación, no pudieron obtenerse muestras a los diferentes tiempos. A pesar de ello, sí se realizó a tiempo inicial y los resultados mostraron un único pico de

degradación en un rango de temperaturas entre los 200-300° C de acuerdo con los resultados obtenidos por Cano et al., (2015a). Las curvas obtenidas de las películas con agentes antimicrobianos mostraron un comportamiento muy similar a las películas mezcla (Anexo A, Figura 7.2.).

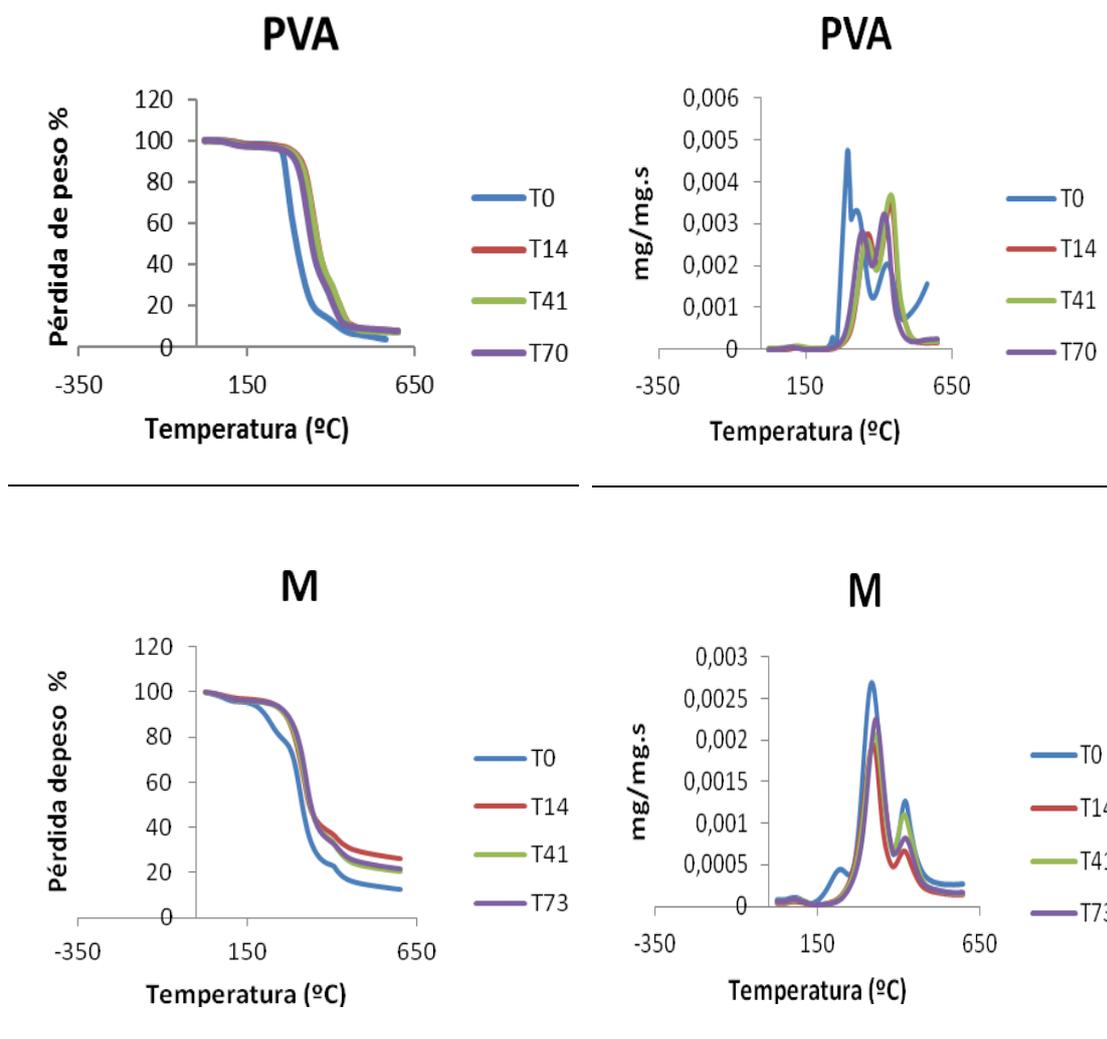


Figura 4.3. Análisis termogravimétrico. Izquierda: curvas TG, derecha: curvas DTG de las películas mezcla y PVA en cuatro tiempos distintos.

En las Figuras se observa que el mayor porcentaje de pérdida de masa tiene lugar entre los 200-400° C, datos comparables con los obtenidos por Tudorachi et al., (1999) en estudios realizados con películas de almidón y PVA.

En todos los casos, la curva DTG a tiempo 0 es completamente diferente al resto de tiempos, presentando una primera degradación térmica en torno a 200-300 C, que desaparece al

aumentar los días de ensayo. Este pico corresponde con los compuestos que se degradan más fácilmente, por ello no aparecen en tiempos avanzados de ensayo, indicando una correcta evolución del proceso de compostaje.

Las temperaturas máximas de las curvas de degradación se recogen en la Tabla 4.5. Por lo general, en las películas a tiempo 0 se observan tres picos asociados a las temperaturas donde se da una mayor degradación. La temperatura del primer pico corresponde al comportamiento descrito anteriormente. Es remarcable que en las películas mezcla M (con o sin antimicrobianos) dicha temperatura es significativamente menor que en el caso de PVA puro (293 C). Esto sugiere la existencia de interacciones entre las cadenas de ambos polímeros (almidón y PVA). Valencia et al., (2013) y Chaléat et al., (2012) también han descrito la formación de enlaces de hidrogeno entre los grupos hidroxilo presentes tanto en el PVA como en el almidón.

La segunda temperatura corresponde al pico de máxima degradación. Dicha temperatura para las películas de S fue 302º C mientras que para las de PVA fue significativamente mayor ( $p<0.05$ ) alcanzando temperaturas de 325º C, asociado a la mayor estabilidad de dicho polímero. En este caso, la mezcla tuvo un comportamiento mucho más similar al de las películas S, mostrando sólo diferencias significativas respecto a las de PVA. La incorporación de sustancias antimicrobianas no provocó diferencias respecto a la matriz de almidón y la mezcla.

El tercer pico descrito para todas las muestras, excepto las de almidón, está a 427 C y 417 C para las películas de PVA y M, respectivamente. Este tercer pico, suele estar asociado a los productos formados en la principal descomposición térmica, tal y como sugiere Cano et al., (2015a). La incorporación de las sustancias antimicrobianas no dio lugar a diferencias significativas ( $p<0.05$ ) en la temperatura media de este tercer pico.

En general, conforme aumenta el tiempo de ensayo aumentan las temperaturas a la que se producen las degradaciones, comportamiento también descrito por Tudorachi et al., (1999). Este comportamiento se debe a que durante la degradación las regiones amorfas se degradan más rápido que las cristalinas, las cuales necesitan temperaturas altas en comparación con las estructuras amorfas.

En la Tabla 4.5. también aparece reflejado el porcentaje de masa residual a 600 C. Para todas las matrices parece destacable el aumento de masa residual al aumentar el tiempo de ensayo,

destacando que la mayor cantidad de residuo fue producido por las películas de AgNPs, seguramente asociado a su mayor estabilidad térmica frente a los aceites.

Tabla 4.5. Temperaturas pico y masa residual de las películas obtenidas en el análisis termogravimétrico.

PELÍCULA	TIEMPO	T1	T2	T3	MASA RESIDUAL (%)
<b>S</b>	<b>0</b>		302 ± 13 <sup>1</sup>		8,58 ± 0,98
<b>PVA</b>	<b>0</b>	293 <sup>1</sup>	325 <sup>a3</sup>	427 <sup>a12</sup>	4 <sup>a</sup>
	<b>14</b>		345 ± 2 <sup>b</sup>	434 ± 4 <sup>a</sup>	9,98 ± 3,16 <sup>a</sup>
	<b>41</b>		346 ± 2 <sup>b</sup>	428,9 ± 2 <sup>a</sup>	6,96 ± 0,42 <sup>a</sup>
	<b>73</b>		329,8 ± 1,5 <sup>a</sup>	412,58 ± 1,06 <sup>b</sup>	8,087 ± 0,006 <sup>a</sup>
<b>M</b>	<b>0</b>	209 ± 7 <sup>23</sup>	305,3 ± 0,7 <sup>a12</sup>	417 ± 2 <sup>a1</sup>	13,3 ± 0,7 <sup>a</sup>
	<b>14</b>		316 ± 6 <sup>b</sup>	409 ± 3 <sup>b</sup>	22 ± 4 <sup>b</sup>
	<b>41</b>		316 ± 3 <sup>b</sup>	406,4 ± 0,4 <sup>b</sup>	19,4 ± 1,3 <sup>b</sup>
	<b>73</b>		316 ± 6 <sup>b</sup>	421,3 ± 1,4 <sup>a</sup>	24 ± 3 <sup>b</sup>
<b>M-1N</b>	<b>0</b>	213 ± 2 <sup>2</sup>	307,3 ± 0,2 <sup>a12</sup>	421 ± 2 <sup>a12</sup>	12,9 ± 0,9 <sup>a</sup>
	<b>14</b>		308 ± 5 <sup>a</sup>	416,6 ± 0,8 <sup>bc</sup>	26 ± 3 <sup>bc</sup>
	<b>41</b>		317,75 ± 0,113 <sup>b</sup>	415,7 ± 0,9 <sup>c</sup>	29,7 ± 0,9 <sup>c</sup>
	<b>73</b>		320,4 ± 0,6 <sup>b</sup>	420,2 ± 1,3 <sup>ab</sup>	23,43 ± 1,02 <sup>b</sup>
<b>M-2N</b>	<b>0</b>	206 ± 2 <sup>23</sup>	308,42 ± 0,12 <sup>a12</sup>		9,5 ± 0,3 <sup>a</sup>
	<b>14</b>		312,8 ± 1,3 <sup>b</sup>	422 ± 5 <sup>a</sup>	25 ± 3 <sup>b</sup>
	<b>41</b>		316,8 ± 1,2 <sup>b</sup>	418 ± 2 <sup>a</sup>	25 ± 2 <sup>b</sup>
	<b>73</b>		323 ± 2 <sup>c</sup>	417 ± 6 <sup>a</sup>	24 ± 2 <sup>b</sup>
<b>M-1O</b>	<b>0</b>	201 ± 5 <sup>34</sup>	307,09 ± 0,12 <sup>a12</sup>	430,9 ± 9,6 <sup>a2</sup>	15,24 ± 0,05 <sup>a</sup>
	<b>14</b>		302 ± 6 <sup>a</sup>	412,3 ± 0,8 <sup>b</sup>	20 ± 5 <sup>a</sup>
	<b>41</b>		315 ± 2 <sup>b</sup>	414,09 ± 0,59 <sup>b</sup>	22,27 ± 0,09 <sup>a</sup>
	<b>73</b>		320,4 ± 1,5 <sup>b</sup>	420 ± 3 <sup>ab</sup>	22 ± 2 <sup>a</sup>
<b>M-2O</b>	<b>0</b>	210,5 ± 0,5 <sup>23</sup>	311 ± 1,2 <sup>a2</sup>	422 ± 2 <sup>a12</sup>	11,6 ± 1,2 <sup>a</sup>
	<b>14</b>		308 ± 11 <sup>a</sup>	413 ± 2 <sup>a</sup>	23 ± 2 <sup>a</sup>
	<b>41</b>		311 ± 13 <sup>a</sup>	413 ± 7 <sup>a</sup>	23 ± 3 <sup>a</sup>
	<b>73</b>		325 ± 9 <sup>a</sup>	419 ± 4 <sup>a</sup>	25,09 ± 9,67 <sup>a</sup>

<b>M-1Ag</b>	<b>0</b>	$193,5 \pm 0,7^4$	$286,8 \pm 0,8^{a4}$	$396 \pm 5^{a3}$	$17 \pm 2^a$
	<b>14</b>		$291 \pm 2^a$	$395 \pm 3^a$	$26 \pm 4^b$
	<b>41</b>		$292 \pm 14^a$	$389 \pm 9^a$	$20 \pm 2^{ab}$
	<b>73</b>		$294 \pm 5^a$	$385 \pm 9^a$	$19,75 \pm 1,06^{ab}$
<b>M-2Ag</b>	<b>0</b>	$181,9 \pm 0,8^5$	$288 \pm 2^{a4}$		$21,313 \pm 0,097^a$
	<b>14</b>		$279 \pm 15^a$	$395 \pm 3^a$	$27 \pm 3^a$
	<b>41</b>		$290,75 \pm 2,008^a$	$395 \pm 3^a$	$28,6 \pm 0,3^a$
	<b>73</b>		$282 \pm 8^a$	$380 \pm 6^b$	$29,6 \pm 12,5^a$
<b>M-3Ag</b>	<b>0</b>	$169,6 \pm 0,4^6$	$287,3 \pm 0,4^{a4}$	$383^{a3}$	$21,25 \pm 0,14^a$
	<b>14</b>		$274 \pm 4^b$	$390,7 \pm 0,2^b$	$28,9 \pm 1,5^{ab}$
	<b>41</b>		$290 \pm 4^a$	$393 \pm 2^b$	$32,3 \pm 1,3^b$
	<b>73</b>		$288 \pm 2^a$	$384 \pm 3^a$	$27 \pm 6^{ab}$
<b>M-4Ag</b>	<b>0</b>	$154 \pm 5^7$	$286,5 \pm 0,9^{ab4}$		$25,431 \pm 1,113^a$
	<b>14</b>		$293 \pm 2^c$	$396,4 \pm 0,4^a$	$29 \pm 3^{ab}$
	<b>41</b>		$283 \pm 2^a$	$391 \pm 2^b$	$38 \pm 3^c$
	<b>73</b>		$289,42 \pm 0,12^{bc}$	$388,75 \pm 0,113^b$	$31,6 \pm 0,6^{bc}$

<sup>a, b, c</sup>. Diferentes superíndices dentro de una columna indican diferencias significativas entre muestras para un mismo tiempo. ( $p < 0,05$ )

<sup>1,2,3</sup>. Diferentes superíndices dentro de una columna indican diferencias significativas entre diferentes tiempos para una misma formulación. ( $p < 0,05$ )

#### 4.4. Ensayo de biodegradabilidad

En el ensayo de biodegradabilidad los polímeros son descompuestos en dióxido de carbono, agua, compuestos inorgánicos y biomasa (Balaguer et al., 2015). El porcentaje de biodegradación de cada formulación (Tabla 4.7.) se calculó a partir del dióxido de carbono generado y la cantidad teórica máxima de dióxido de carbono que puede producirse a partir de cada muestra. Por esto, previo al inicio del ensayo, fue necesario conocer la composición química de las matrices, reflejada en la Tabla 4.6.

La concentración de carbono de las películas control y de las que contienen AgNPs se calculó a partir de los datos obtenidos para las películas puras de S y PVA.

Tabla 4.6. Composición química elemental de las películas.

PELÍCULA	NITRÓGENO (%)	CARBONO (%)	HIDRÓGENO (%)
<b>S</b>	0,135 ± 0,007	40,86 ± 0,12	4,66 ± 0,16
<b>PVA</b>	0,09 ± 0,04	51,52 ± 0,13	5,4 ± 1,9
<b>M</b>	0,12	44,41	4,91
<b>M-2N</b>	0,11 ± 0,02	50,745 ± 0,106	6,8 ± 1,5
<b>M-2O</b>	0,11 ± 0,02	47,5 ± 0,2	6,0 ± 0,6
<b>M-4Ag</b>		44,41	4,91
<b>CMC</b>	0,15 ± 0,02	42,2 ± 0,2	5,9 ± 1,3

Según la ISO 14855, que es la norma empleada para el desarrollo de este ensayo, el test podrá ser válido siempre que el porcentaje de biodegradabilidad del material de referencia supere el 70% a los 45 días. En nuestro ensayo, el material de referencia utilizado fue celulosa microcristalina (CMC) el cual alcanzó una biodegradabilidad del 74%, indicando la validez del ensayo. El mismo porcentaje se obtuvo por Du et al., (2008) empleando también celulosa microcristalina en su trabajo.

La Figura 4.4 representa el porcentaje de biodegradabilidad a lo largo de todo el ensayo de biodegradación (45 días). En ella se observa que las películas que mostraron comportamientos opuestos de máxima y mínima biodegradación fueron las de almidón y el PVA, respectivamente. La película mezcla M se comportó de forma más similar al almidón, en línea de los resultados obtenidos en el ensayo de biodegradabilidad. Las películas a las que fueron incorporados aceites tienen un comportamiento intermedio entre el PVA y S, mientras que la matriz con plata, lo tiene similar al descrito por las películas de PVA. Esto queda reflejado en la Tabla 4.7, donde se detalla el porcentaje de biodegradabilidad a tiempo final de cada película. Tal y como cabría esperar, el mayor porcentaje de biodegradación fue presentado por las películas de almidón (134 %). Este valor por encima de 100% puede atribuirse a que el compost empleado para el desarrollo del ensayo contenía materia orgánica que aportó carbono y que por lo tanto afectó a las medidas de CO<sub>2</sub> obtenidas. Esto es lo que se conoce como el efecto priming (Chiellini et al., 2001; Fontaine et al., 2003) y es lo que explica que tanto las películas de almidón como las de mezcla presenten valores por encima del 100%. Como cabe esperar, el menor porcentaje de biodegradabilidad lo presentaron las películas de PVA (54% tras 45 días), siendo similar al encontrado por Chiellini et al., (2001).

La adición de agentes antimicrobianos no supuso diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) respecto a la matriz M, seguramente debido a la alta variabilidad encontrada. Sin embargo, sí se apreció una tendencia, ya que el porcentaje de biodegradabilidad fue menor en las películas que incorporaban antimicrobianos, en especial en las que incorporaban la mayor concentración de AgNPs. Esto podría estar sugiriendo que los antimicrobianos podrían afectar a la actividad de microorganismos presentes en el compost, que reducen su actividad enzimática y por tanto, la biodegradación de las películas.

Tabla 4.7. Porcentaje de biodegradación de las películas tras 45 días en condiciones de compostaje.

PELÍCULAS	%BIODEGRADABILIDAD
<b>S</b>	$134 \pm 21^a$
<b>PVA</b>	$54 \pm 16^a$
<b>M</b>	$105 \pm 63^a$
<b>M-2N</b>	$77 \pm 48^a$
<b>M-2 O</b>	$88,1 \pm 1,3^a$
<b>M-4 Ag</b>	$58,02 \pm 38,07^a$

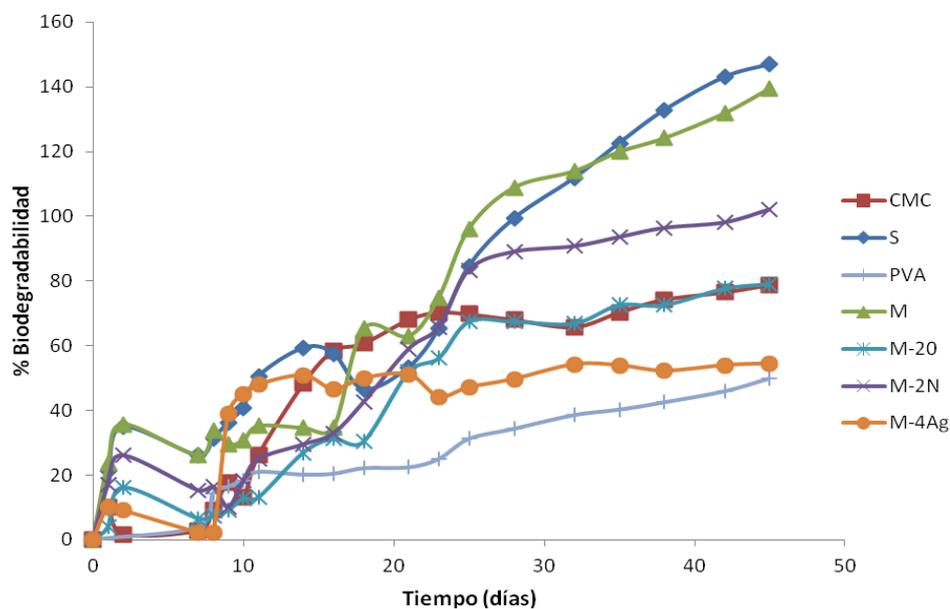


Figura 4.4. % Biodegradación de las películas durante el ensayo de 45 días.

## 5. CONCLUSIONES

Las películas de almidón y PVA, mostraron comportamientos opuestos. Mientras que las de almidón fueron las que menos contenido en agua presentaron, mayor solubilidad, % de desintegrabilidad (100%) y biodegradación (134%), las de PVA fueron las muestras con mayor contenido en agua, menor solubilidad y porcentaje de degradación.

Tanto las películas mezcla almidón-PVA, como aquellas en las que se incorporaron las sustancias antimicrobianas (aceite de neem, aceite esencial de orégano y AgNPs) presentaron comportamientos intermedios entre ambas matrices puras.

La incorporación de almidón en las películas de PVA mejoró significativamente la biodegradación y desintegración de las mismas. El porcentaje de desintegración de las películas con antimicrobianos aumentó tanto más cuanto mayor era la concentración de este, mientras que el porcentaje de biodegradabilidad no presentó diferencias significativas respecto al porcentaje obtenido para las películas sin bioactivos, aunque se observó cierta tendencia hacia menores valores. Sin embargo, en el caso de las películas con nanopartículas de plata, los resultados mostraron una tendencia hacia un menor porcentaje de biodegradabilidad con la mayor concentración de plata seguramente debido a su acción sobre los microorganismos del compost.

En base a los resultados obtenidos, es posible concluir que, las concentraciones de orégano y aceite de neem incorporados en la matriz S-PVA parecen no comprometer la degradación de los nuevos plásticos, aportando así una propiedad funcional adicional y contribuyendo con las nuevas exigencias de los consumidores hacia productos y tecnologías mas respetuosas con el medio ambiente. En el caso de las películas con nanopartículas de plata, se recomienda utilizar concentraciones inferiores al ratio almidón:nitrato de plata 1:0,32 para no comprometer el proceso de biodegradación de los mismos.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- ALBADO, E.; SAEZ, G.; GRABIEL, S. (2001). Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). *Rev Med Hered*, 18 (1): 16-19.
- ALVIRA, M.I. (2007). Los plásticos como residuos Antecedentes y Problemática Ambiental. *Boletín Ambiental IDEA*, Universidad Nacional de Colombia.
- ANAIP, ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE INDUSTRIALES DE PLÁSTICOS. Visto el 10 de Junio de 2015. <http://www.anaip.es/escaparate/verpagina.cgi?idpagina=201741>
- ARRIETA, M.P.; FORTUNATI, E.; DOMINICI, F.; RAYÓN, E.; LÓPEZ, J.; KENNY, J.M. (2014). PLA-PHB/cellulose based films: Mechanical, barrier and disintegration properties. *Polymer Degradation and Stability*, 107: 139-149.
- AZHARI, N. A.; OTHMAN, N.; ISMAIL, H. (2011). Biodegradation Studies of Polyvinyl Alcohol/Corn Starch Blend Films in Soil and Solution Media. *Journal of Physical Science*, 22 (2): 15-31.
- BALAGUER, M.P.; VILLANOVA, J.; CESAR, G.; GAVARA, R.; HERNÁNDEZ-MUNOZ, P. (2015). Compostable properties of antimicrobial bioplastics based on cinnamaldehyde cross-linked gliadins. *Chemical Engineering Journal*, 262: 447-455.
- BALDWIN, E. A.; NISPEROS-CARRIEDO, M. O.; CHEN, X.; HAGENMAIER R. D. (1996). Improving storage life of cut apple and potato with edible coating. *Postharvest Biology Technology*, 9 (2): 151-163.
- CANO, A.I.; CHÁFER, M.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. (2015a). Physical and microstructural properties of biodegradable films based on pea starch and PVA. *Journal of Food Engineering*, DOI
- CANO, A.; FORTUNATI, E.; CHÁFER, M.; KENNY, J.M.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. (2015b). Properties and ageing behaviour of pea starch films as affected by blend with poly(Vinyl Alcohol). *Food Hydrocolloids*, 48: 84-93.
- CHALÉAT, C. M.; HALLEY, P. J.; TRUSS, R. W. (2012). Study on the phase separation of plasticised starch/poly(vinylalcohol) blends. *Polymer Degradation and Stability*, 97: 1930-1939.

- CHAUDHRY, Q.; SCOTTER, M.; BLACKBURN, J.; ROSS, B.; BOXALL, A.; CASTLE, L. (2008). Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. *Food Additives and Contaminants*, 25: 241-258.
- CHIELLINI, E.; CINELLI, P.; IMAM, S. H.; MAO, L. (2001). Composite Films Based on Biorelated Agro-Industrial Waste and Poly(vinyl alcohol). Preparation and Mechanical Properties Characterization. *Biomacromolecules*, 2 (3): 1029-1037.
- CHOCOLATÍSIMO. (2008). Amilosa y Amilopectina. Visto 10 de Junio de 2015.  
<http://www.chocolatisimo.es/amilosa-y-amilopectina/>
- DU, Y.; CAO, Y.; LU, F.; LI, F.; CAO, Y.; WANG, X.; WANG, Y. (2008). Biodegradation behaviors of thermoplastics starch (TPS) and thermoplastic dialdehyde starch (TPDAS) under controlled composting conditions. *Polymer Testing*, 27: 924-930.
- EMAMIFAR, A.; KADIVAR, M.; SHAHEDI, M.; SOLAIMANIANZAD, S. (2010). Evaluation of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on the shelf life of fresh orange juice. *Innovative Food Science and Emergin Technology*, 11: 742-748.
- EUROPEAN BIOPLASTICS. Visto 10 de Junio de 2015.  
<http://ifbb.wp.hs-hannover.de/downloads/index.php?site=Statistics&nav=2-0-0-0-0>
- EUROPEAN STANDARD EN ISO 20200. (2005). Plastics, Determination of the degree of disintegration of plastic materials under simulated composting conditions in a laboratory-scale test (ISO 20200:2004).
- FONTAINE, S.; MARIOTTI, A.; ABBADIE, L. (2003). The priming effect of organic matter: a question of microbial competition?. *Soil Biology & Biochemistry*, 35: 837-843.
- GENNADIOS, A.; WELLER, C. L. (1990). Edible films and coatings from wheat and corn proteins. *Food Technology*, 44 (10): 63-69.
- HYE-RYOUNG, P.; SUNG-HYO, C.; YEON-HUM, Y.; SOON-DO, Y. (2005). Properties os Starch/PVA Blend Film Containing Citric Acid as Additive. *Journal of Polymers and the Environment*, 13 (4): 375-382.

- ISHIGAKI, T.; KAWAGOSHI, Y.; IKE, M.; FUJITA, M. (1999). Biodegradation of a polyvinyl alcohol-starch blend plastic film. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 15: 321-327.
- LENZ, R. W. (1993). Biodegradable polymers. *Advances in Polymer Science*, 107: 1–40.
- MARTÍNEZ-ABAD, A. (2014) Development of Silver Based Antimicrobial Films of Coating and Food Packaging Applications. Doctoral Thesis. Supervised by: M. J. Ocio & J.M. Lagarón. Universidad Politécnica de Valencia, Spain.
- MARSH, K.; BUGUSU, B. (2007). Food Packaging-Roles, Materials and Environmental Issues. *Journal of Food Science*, 72 (3): 39-55.
- MCHUGH, T.H.; KROCHTA, J.M. (1994). Water-vapor permeability properties of edible whey protein-lipid emulsion films. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 71(3): 307-312.
- MOHANTY, S.; MISHRA, S.; JENA, P.; JACOB, B.; SARKAR, B.; SONAWANE, A. (2012). An investigation on the antibacterial, cytotoxic, and antibiofilm efficacy of starch-stabilized silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 8: 916-924.
- MPBIO. Visto el 10 de Junio de 2015. <http://www.mpbio.com/>
- NORMA ESPAÑOLA EN ISO 14855-1. (2013). Determinación de la biodegradabilidad aeróbica final de materiales plásticos en condiciones de compostaje controladas.
- PALANCA, M. (2014). Evaluación de la actividad antimicrobiana de sustancias naturales en films biodegradables. Trabajo Fin de Máster. Directora: Chelo González Martínez; Codirectora: Amalia Isabel Cano Embuena. Universidad Politécnica de Valencia.
- PARADOSSI, G.; CAVALIERI, F.; CHIESSI, E.; SPAGNOLI, C.; COWMAN, M.K. (2003). Poly(vinyl alcohol) as versatile biomaterial for potential biomedical applications. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 14 (8): 687-691.
- PAL, S.; TAK, K.; SONG, J. M. (2007). Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on shape of the nanoparticles? A study of the Gram-negative bacterium *Scherichia coli*. *Applied and Environmental Biotechnology*, 73: 1712-1720.

PLASTICS EUROPE, ASSOCIATION OF PLASTICS MANUFACTURERS. (2014). Visto el 10 de Junio de 2015.

<http://www.plasticseurope.es/centro-de-conocimiento/sala-de-prensa/comunicados-de-prensa-2014/13-de-mayo-de-2014-la-industria-plastica-mide-medidas-para-incrementar-su-competitividad.aspx>

PSEJA, J.; CHARVÁTOVÁ, H.; HRUŽÍK, P.; HRNCÍŘÍK, J.; KUPEC, J. (2006). Anaerobic biodegradation of blends based on polyvinyl alcohol. *Journal of Polymers and Environment*, 14 (2): 185-190.

RUSSO, M. A. L.; O'SULLIVAN, C.; ROUNSEFELL, B.; HALLEY, P.J.; TRUSS, R.; CLARKE, W.P. (2009). The anaerobic degradability of thermoplastic starch: Polyvinyl alcohol blends: Potential biodegradable food packaging materials. *Bioresource technology*, 100: 1705-1710.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; CHIRALT, A.; CHÁFER, M. (2011). Use of Essential Oils in Bioactive Edible Coatings. *Food Engineering Review*, 3: 1-16.

SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J. M. (2005). Plasticizers in edible films and coatings. En: Ham, J.M. (Ed.), *Innovation in Food packaging*. New York: Elsevier Publishers.

THARANATHAN, R.N. (2003). Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Food Science & Technology*, 14: 71-78.

TUDORACHI, N.; CASCAVAL, C.N.; RUSU, M.; PRUTEANU, M. (2000). Testing of polyvinyl alcohol and starch mixtures as biodegradable polymeric materials. *Polymer Testing*, 19: 785-799.

VALENCIA, A.; RIVERA, C.; MURILLO, E. A. (2013). Estudio de las propiedades de mezclas de alcohol polivinílico-almidón de yuca-sorbitol obtenidas por casting. *Revista Colombiana de Materiales*, 4: 41-55.

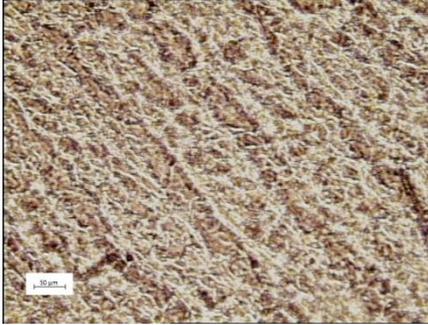
ZHAI, M.; YOSHII, F.; & KUME, T. (2003). Radiation modification of starch-based plastic sheets. *Carbohydrate polymers*, 52: 311-317.

## 7. ANEXOS

### 7.1. Anexo A.

#### Microscopio óptico aumento 20X

S-0

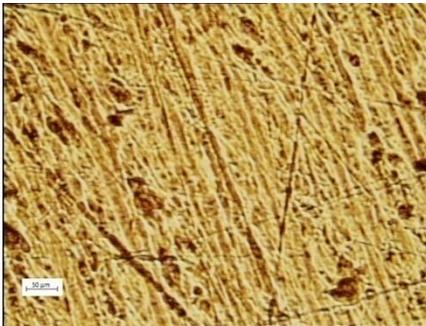


S-14

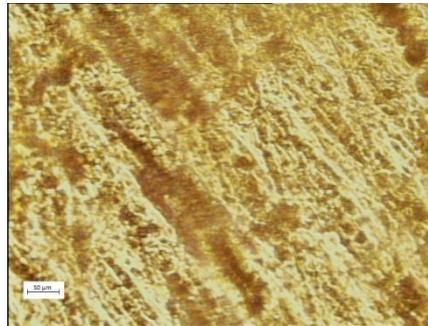
S-41

S-73

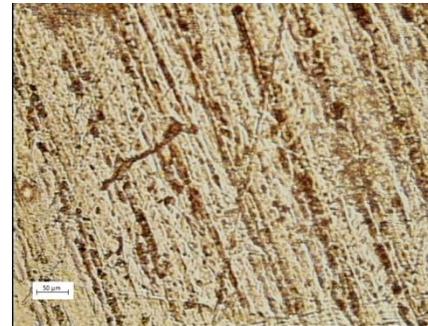
PVA-0



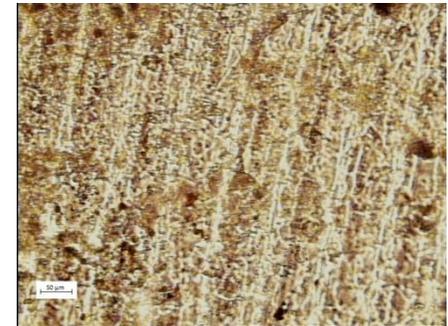
PVA-14



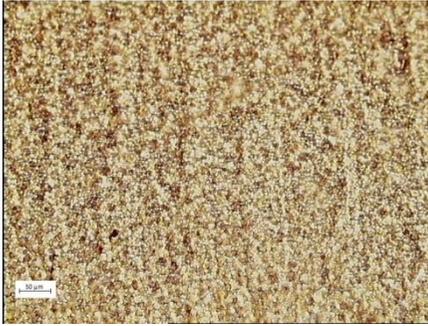
PVA-41



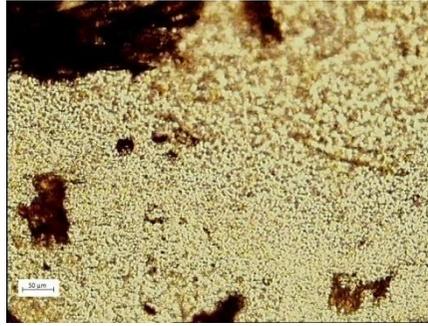
PVA-73



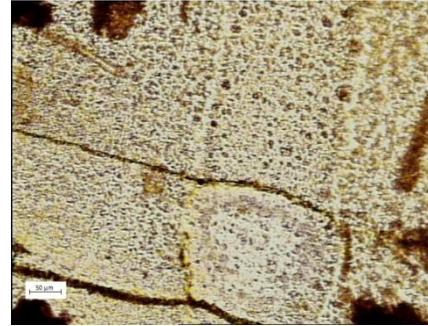
M-0



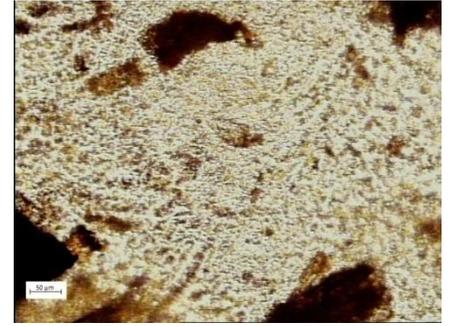
M-14



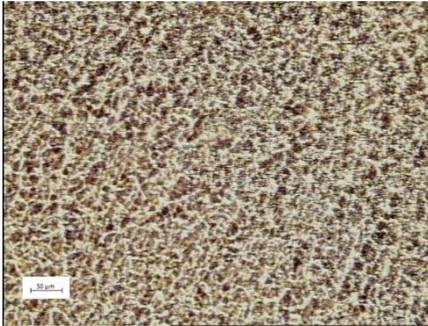
M-41



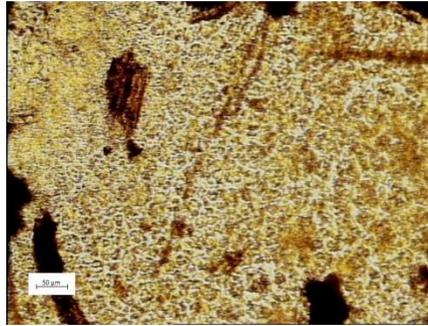
M-73



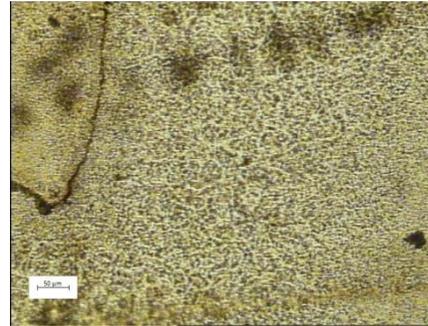
M-0



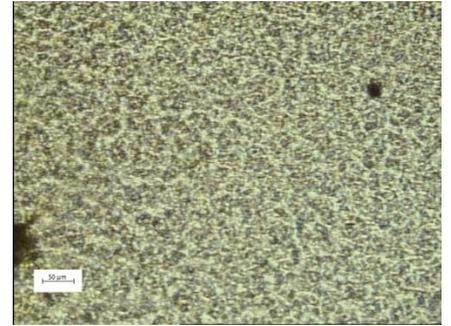
M-14



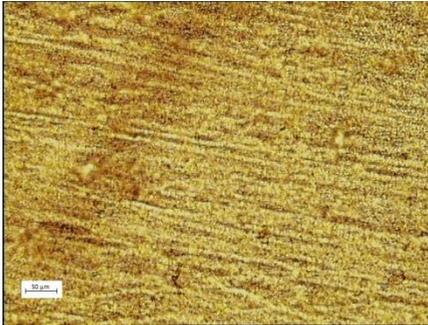
M-41



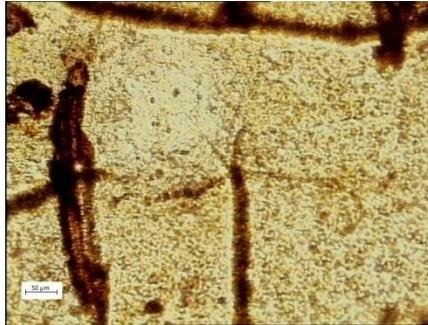
M-73



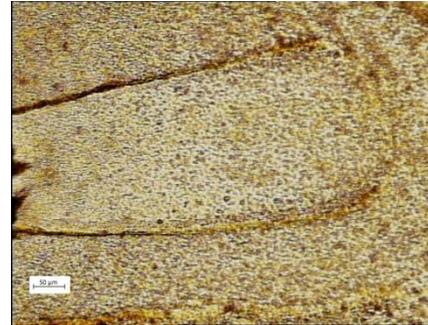
M-1N-0



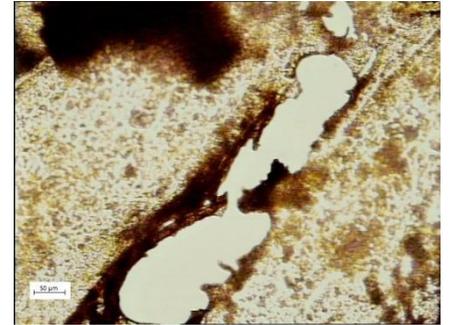
M-1N-14



M-1N-41



M-1N-73



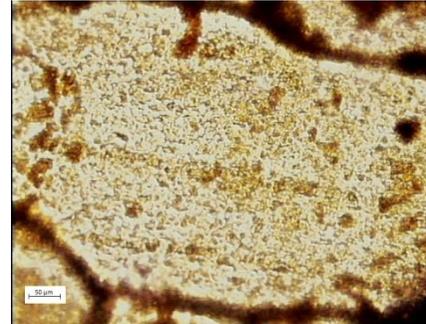
M-2N-0



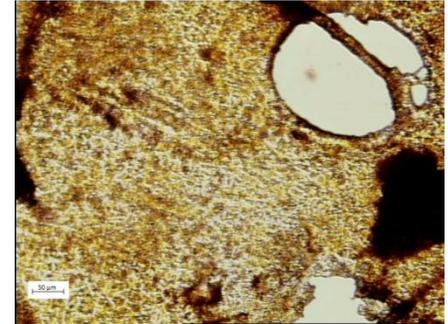
M-2N-14



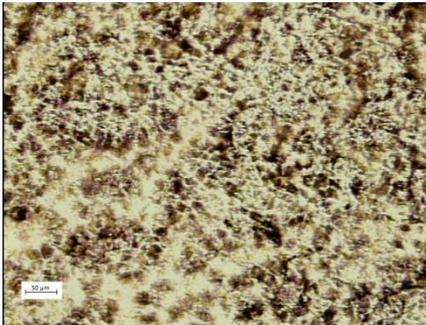
M-2N-41



M-2N-73



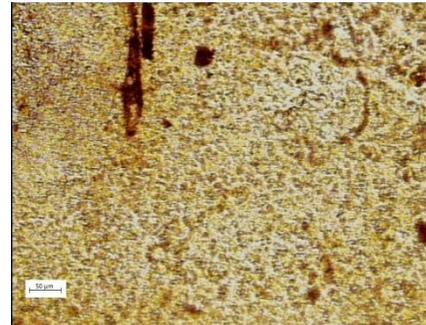
M-10-0



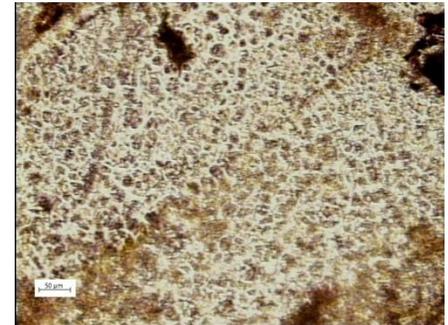
M-10-14



M-10-41



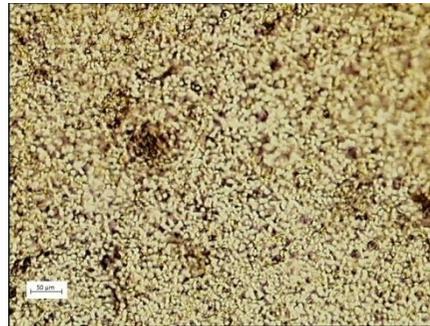
M-10-73



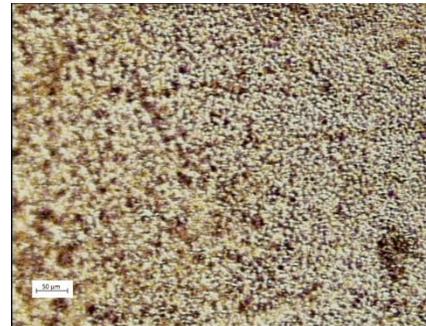
M-20-0



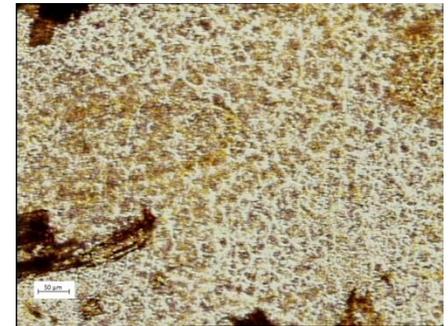
M-20-14



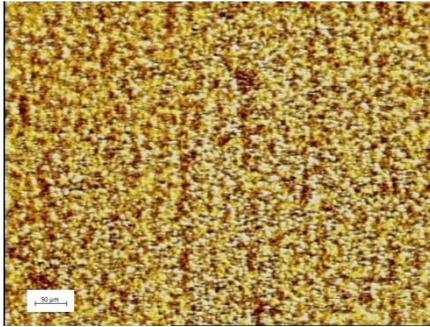
M-20-41



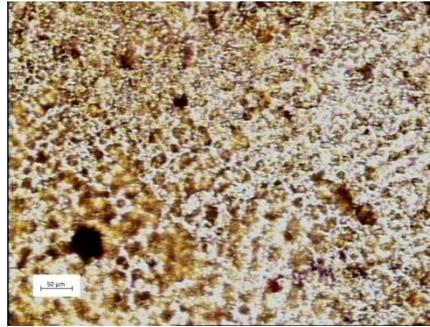
M-20-73



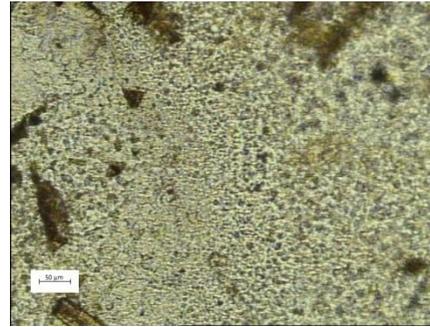
M-1 Ag-0



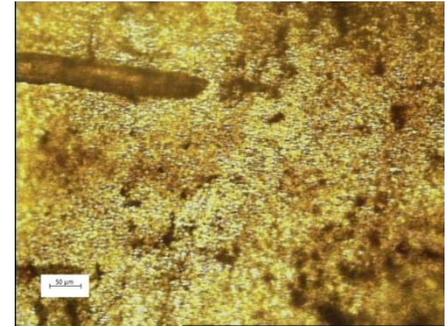
M-1 Ag-14



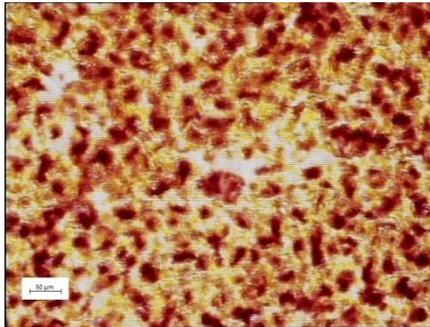
M-1 Ag-41



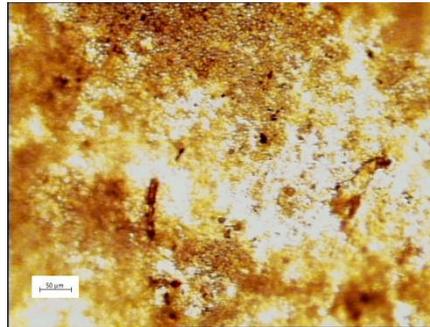
M-1 Ag-73



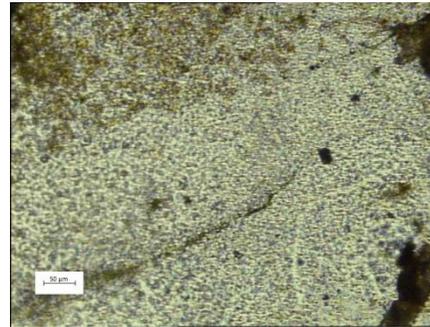
M-2 Ag-0



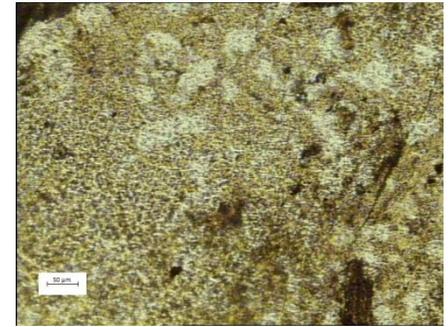
M-2 Ag-14



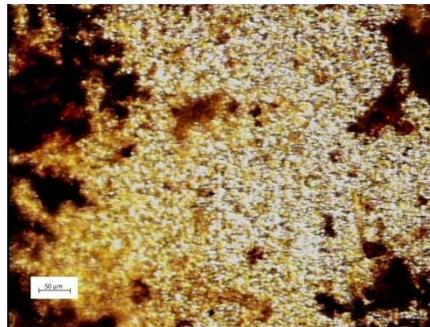
M-2 Ag-41



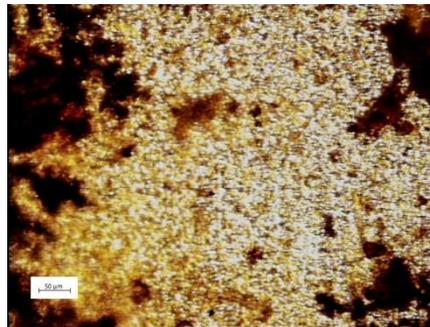
M-2 Ag-73



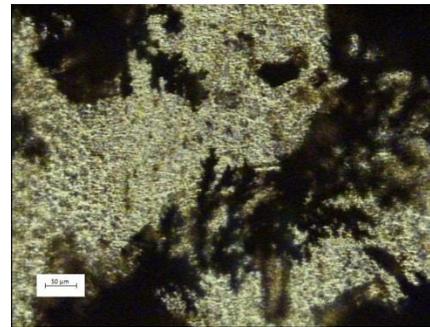
M-3 Ag-0



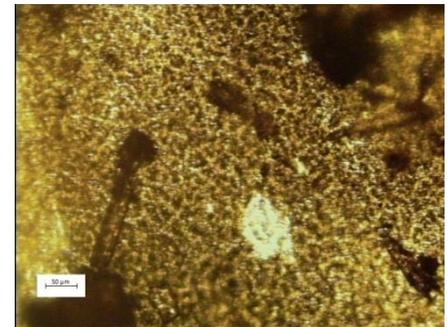
M-3 Ag-14



M-3 Ag-41



M-3 Ag-73

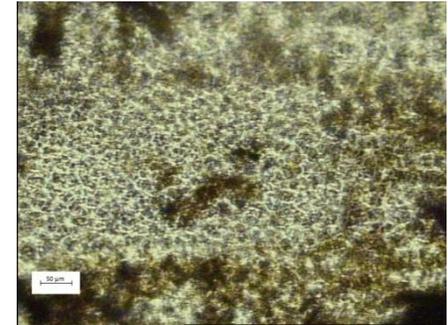
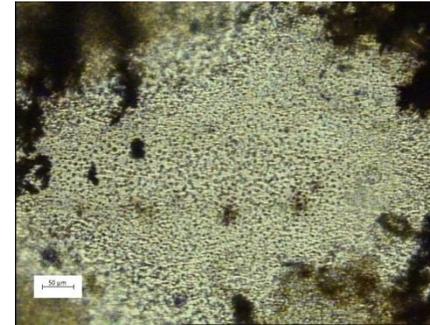
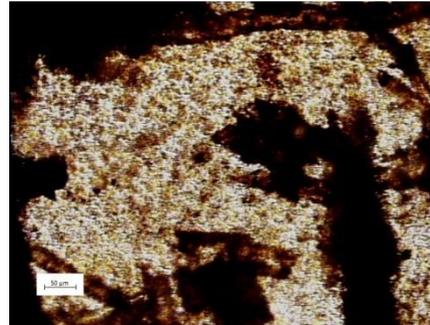


M-4 Ag-0

M-4 Ag-14

M-4 Ag-41

M-4 Ag-73



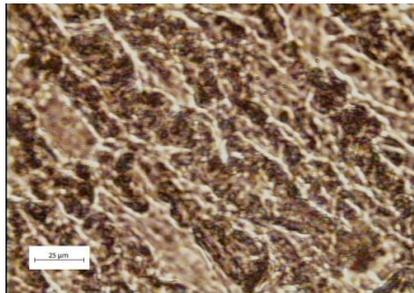
Microscopio óptico aumento 63X

S-0

S-14

S-41

S-73

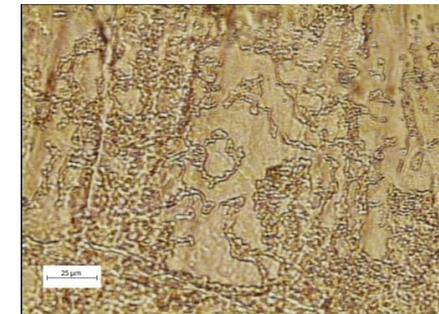
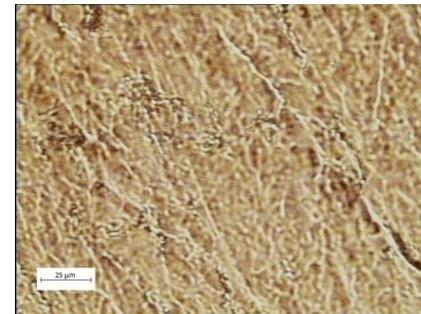
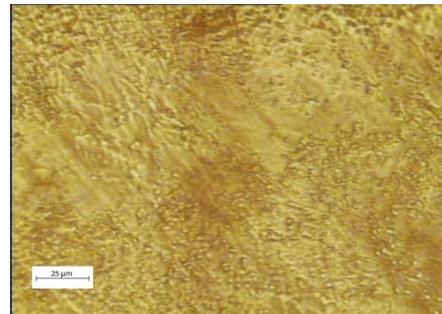
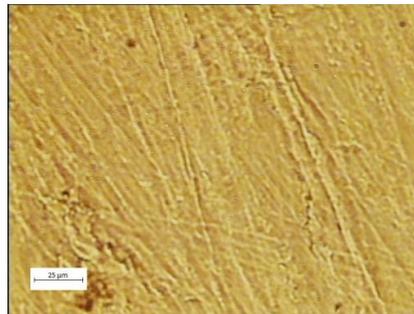


PVA-0

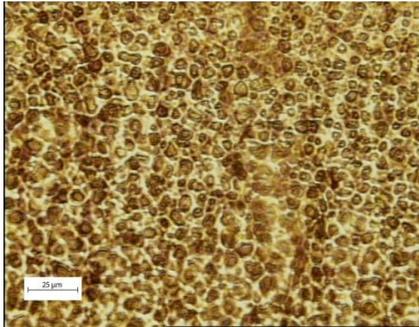
PVA-14

PVA-41

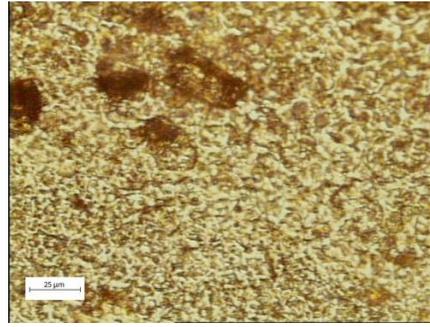
PVA-73



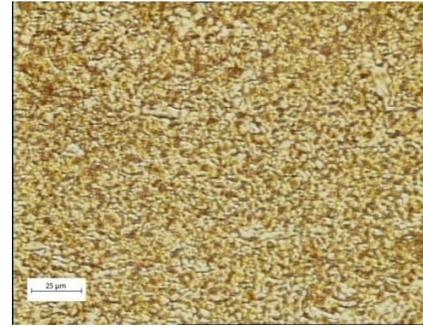
**M-0**



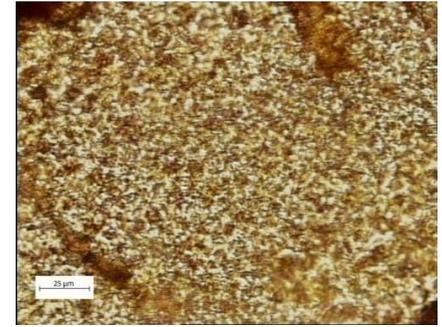
**M-14**



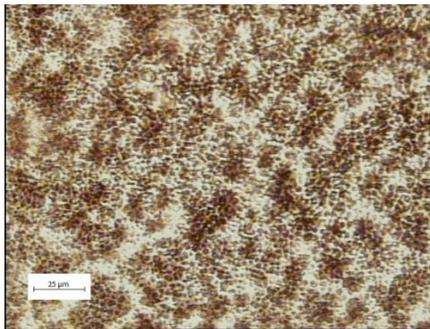
**M-41**



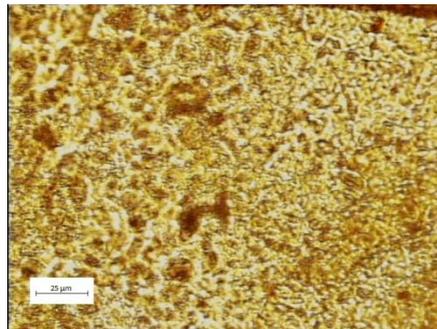
**M-73**



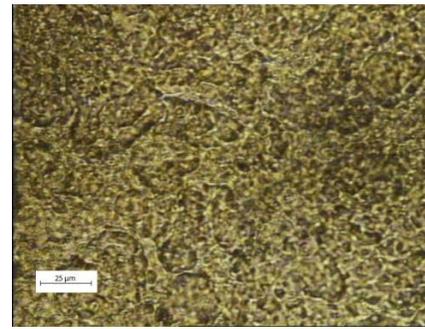
**M-0**



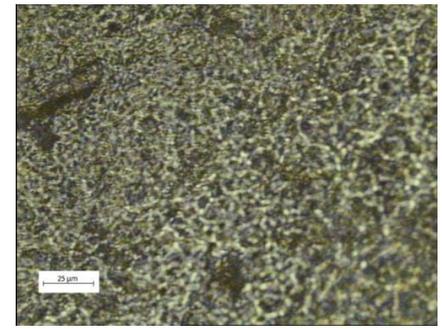
**M-14**



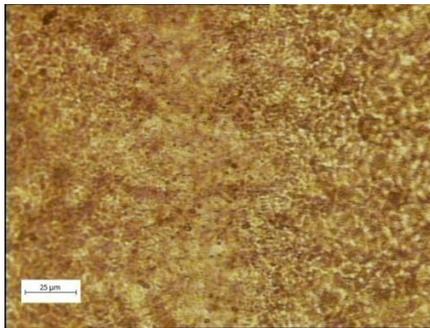
**M-41**



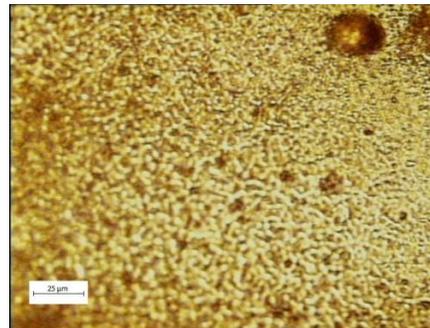
**M-73**



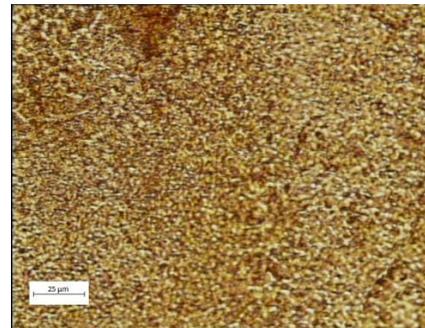
**M-1N-0**



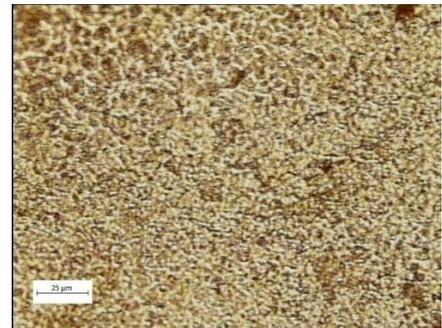
**M-1N-14**



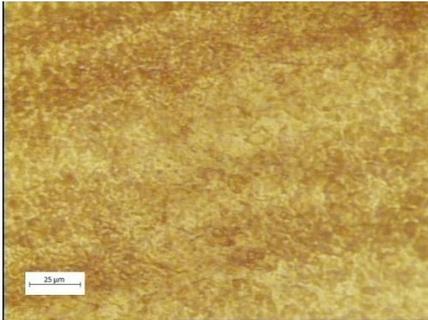
**M-1N-41**



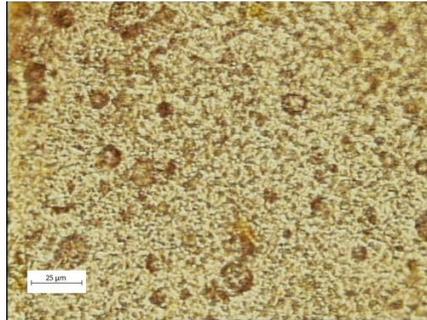
**M-1N-73**



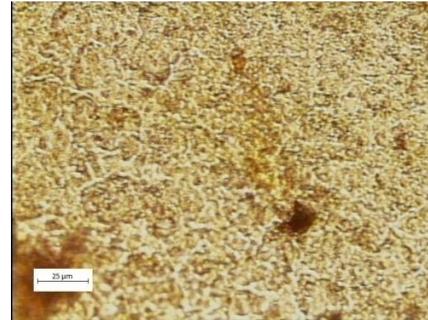
**M-2N-0**



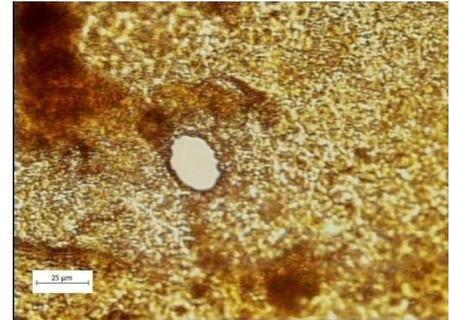
**M-2N-14**



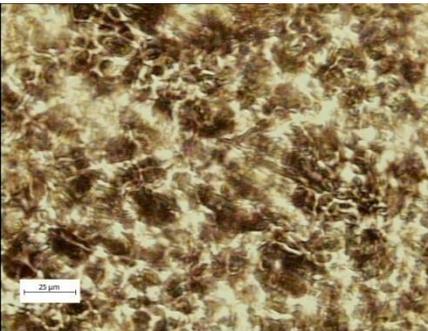
**M-2N-41**



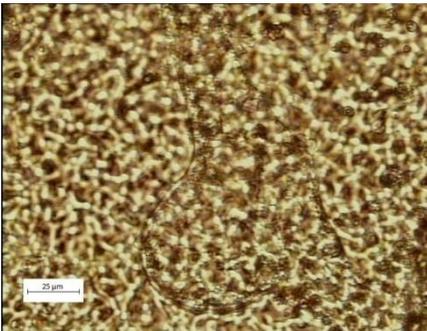
**M-2N-73**



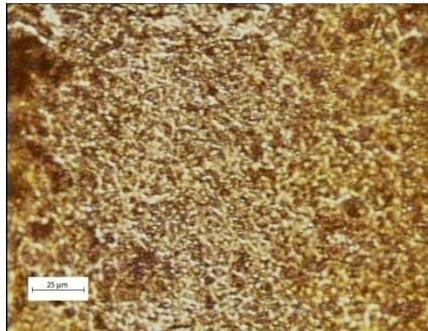
**M-10-0**



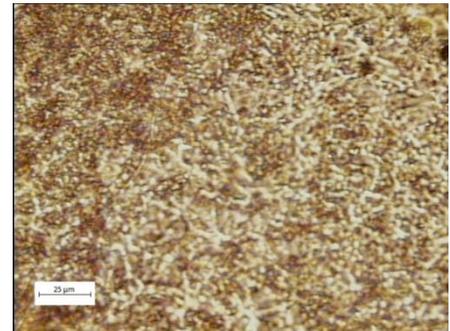
**M-10-14**



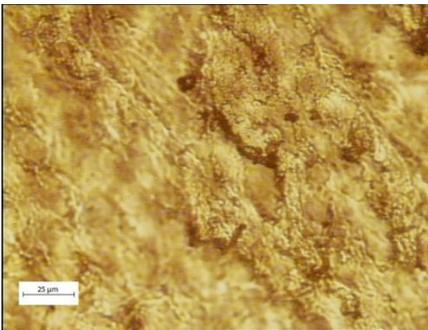
**M-10-41**



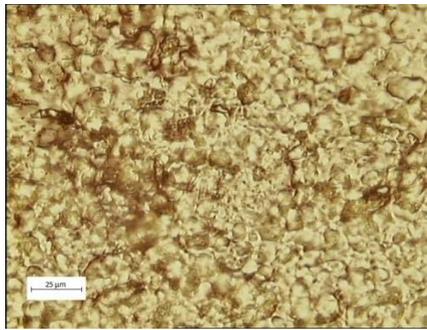
**M-10-73**



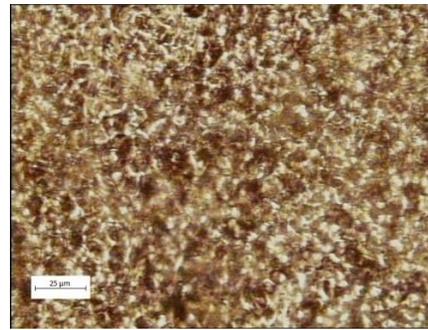
**M-20-0**



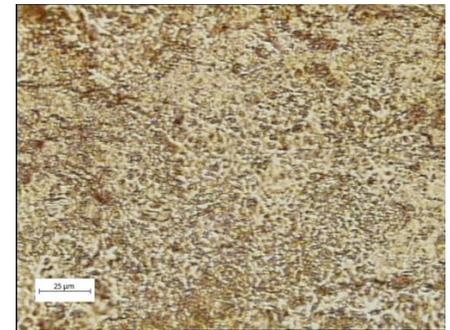
**M-20-14**



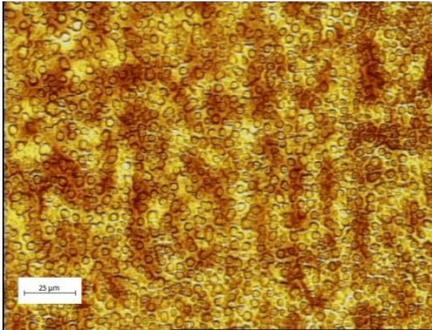
**M-20-41**



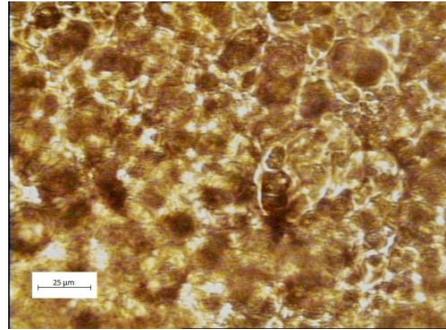
**M-20-73**



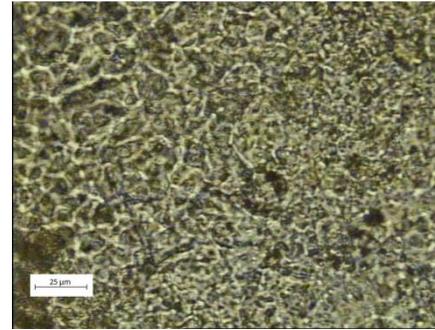
**M-1 Ag-0**



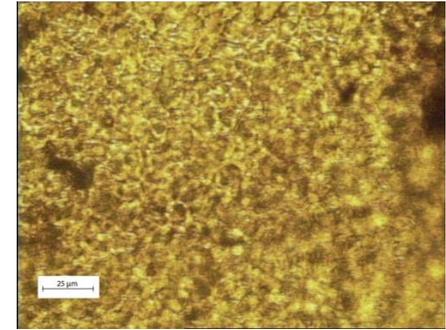
**M-1 Ag-14**



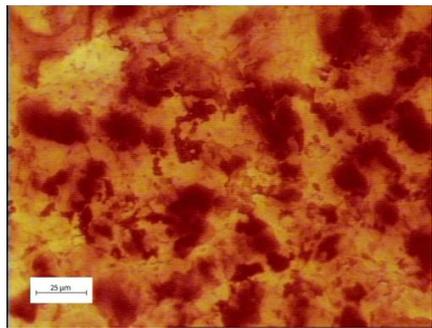
**M-1 Ag-41**



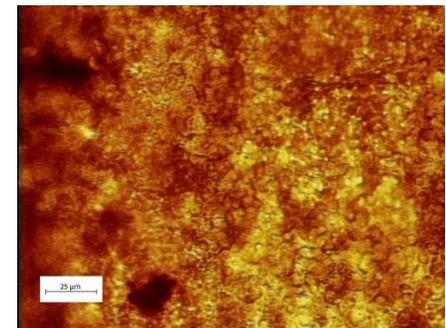
**M-1 Ag-73**



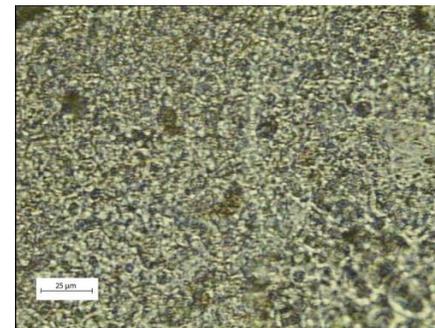
**M-2 Ag-0**



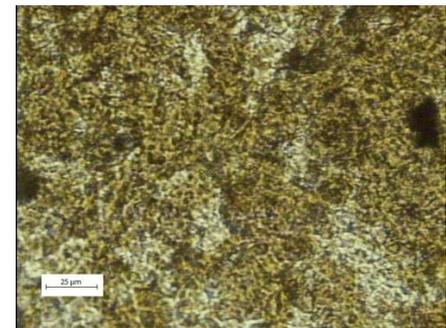
**M-2 Ag-14**



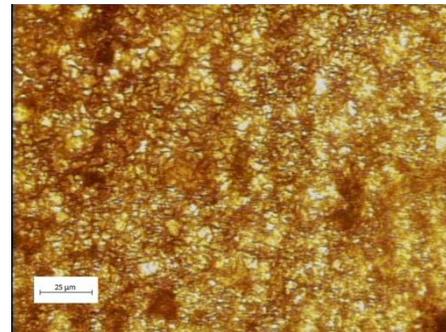
**M-2 Ag-41**



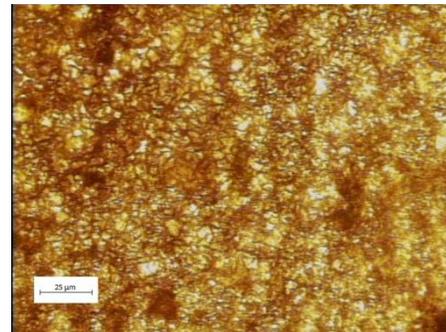
**M-2 Ag-73**



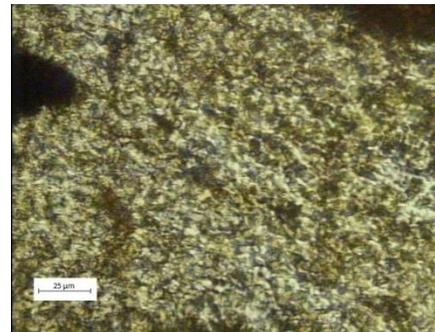
**M-3 Ag-0**



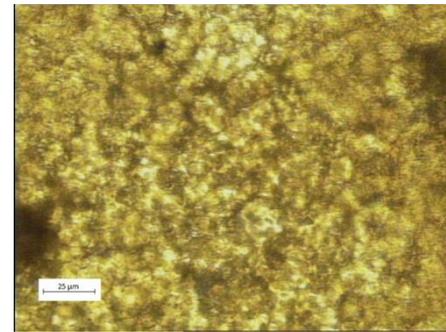
**M-3 Ag-14**



**M-3 Ag-41**



**M-3 Ag-73**



**M-4 Ag-0**

**M-4 Ag-14**

**M-4 Ag-41**

**M-4 Ag-73**

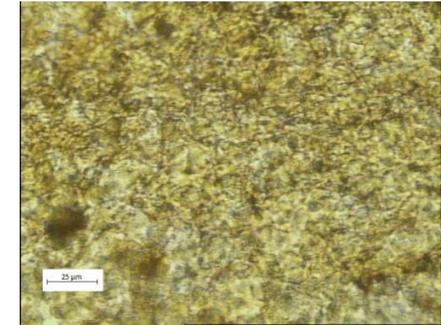
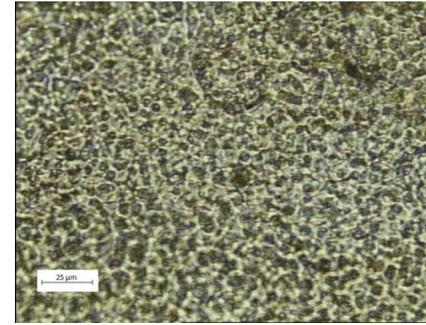
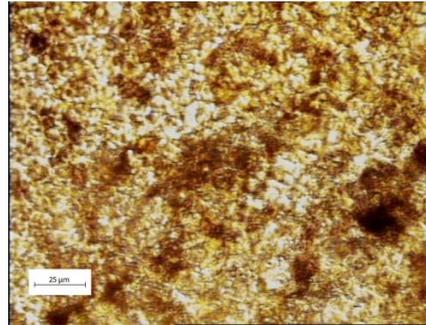
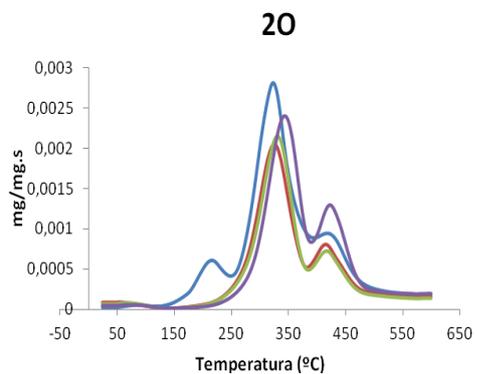
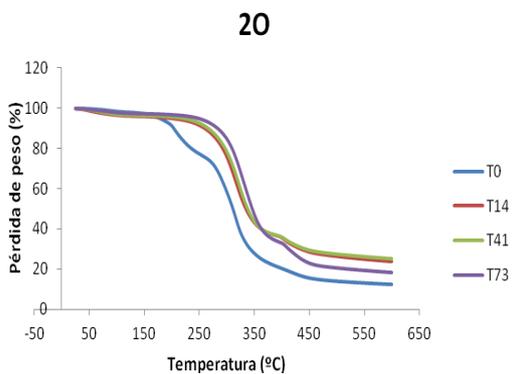
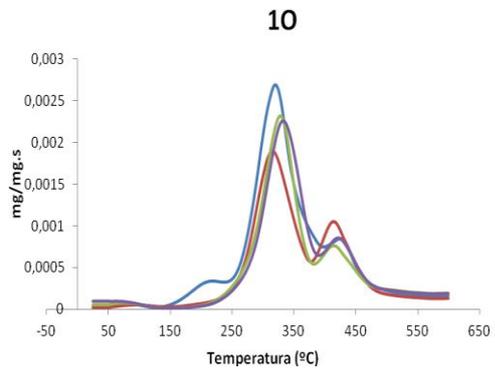
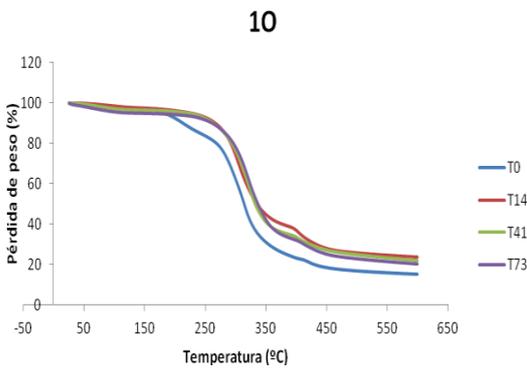
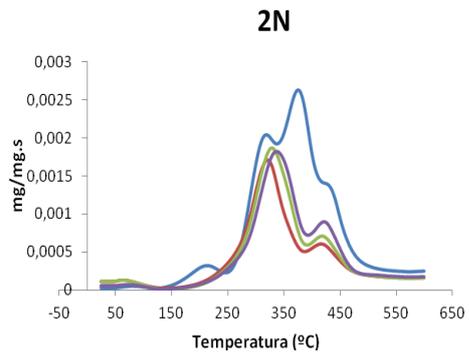
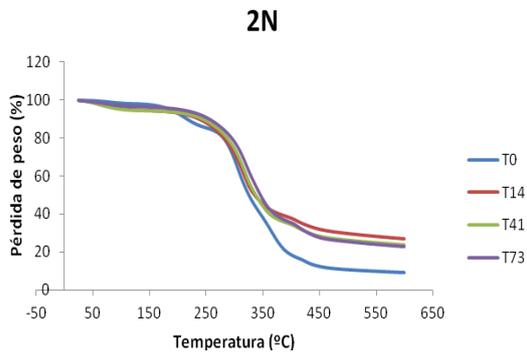
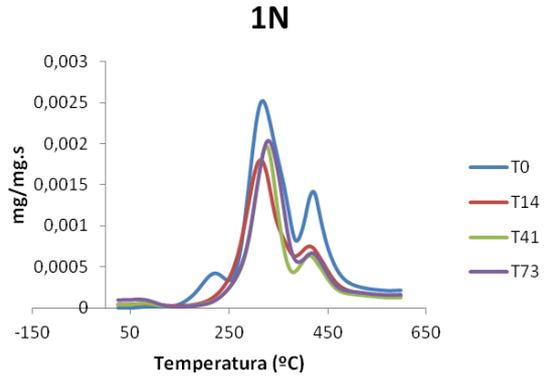
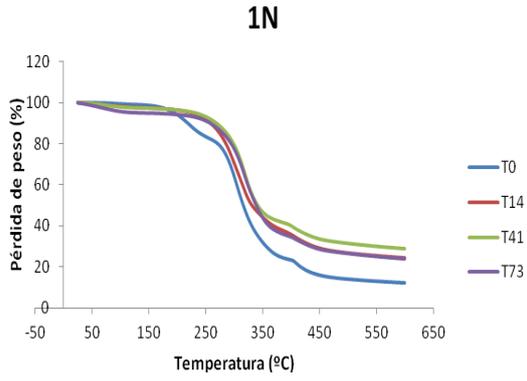


Figura 7.1. Imágenes a dos aumentos de las películas observadas mediante microscópio óptico.



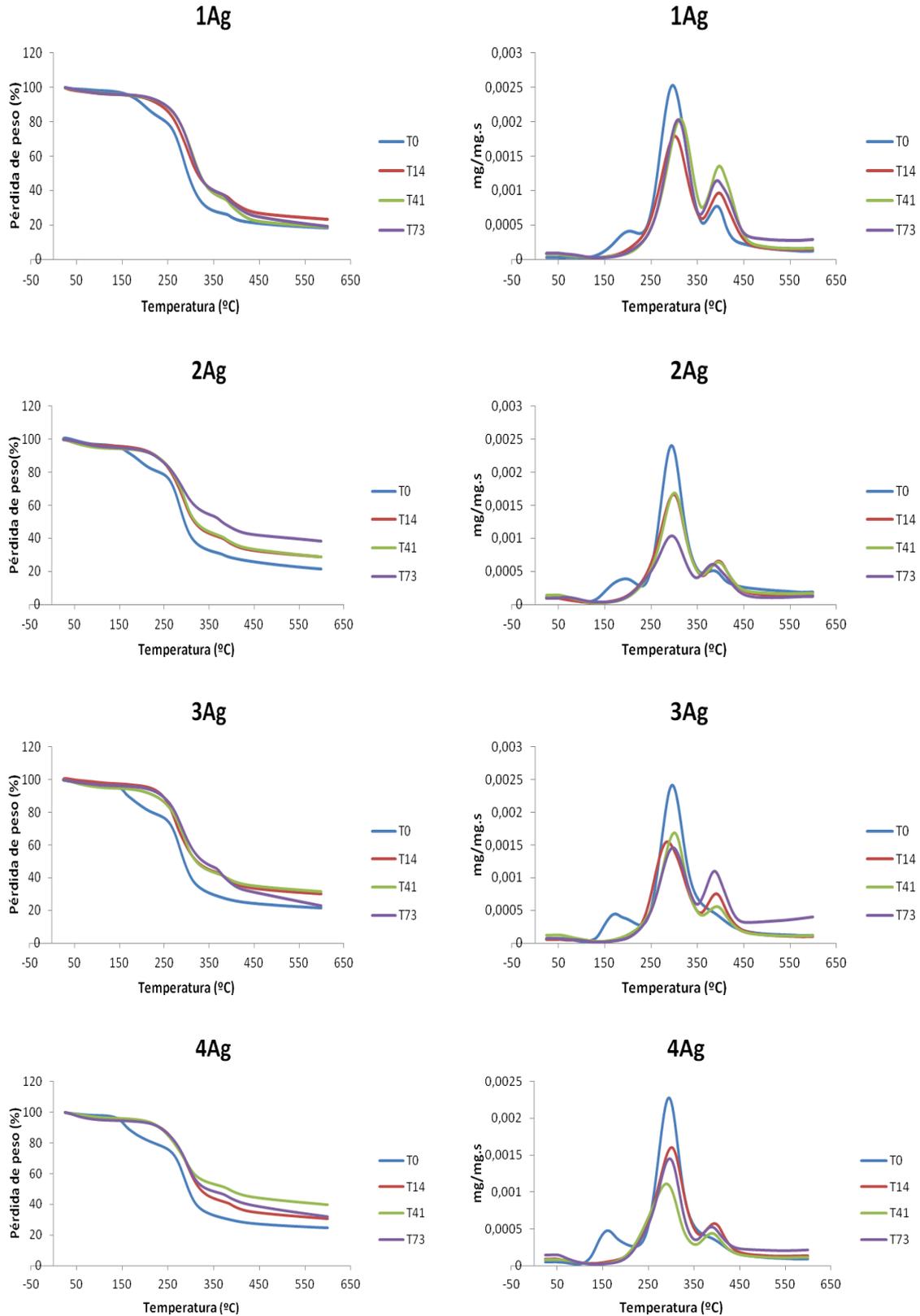


Figura 7.2. Análisis termogravimétrico. Izquierda: curvas TG, derecha: curvas DTG de las películas que incorporan agentes antimicrobianos.