

Ciencia e Investigación Divulgación

CeI
Divulgación

Primera revista argentina de información científica / Fundada en enero de 1945

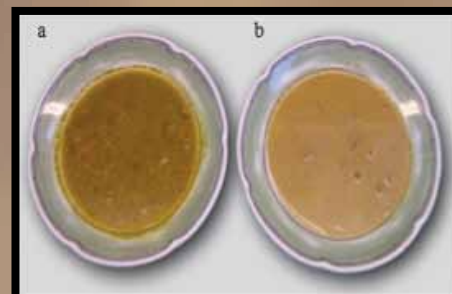


MATERIALES NANOCOMPUESTOS A PARTIR DE ALMIDÓN DESTINADOS AL SECTOR EMBALAJES

- Nancy Lis García, Laura Ribba,
Lucía Famá, Alain Dufresne,
Mirta Aranguren, Silvia Goyanes

SOPA CONCENTRADA CON AGREGADO DE LEVADURA DE CERVEZA

- M. Rabey,
J. R. Wagner



EXOPOLISACÁRIDOS DE BACTERIAS LÁCTICAS Y SU APLICACIÓN EN EL DESARROLLO DE ALIMENTOS FUNCIONALES

- Analía G. Abraham

LACTOBACILLUS RHAMNOSUS CRL1505 EL PRIMER PROBIÓTICO SOCIAL

- Julio Villena, Susana Salva,
Martha Núñez, Graciela Font,
Susana Álvarez



COMPROMISO

con el bienestar de todos

HACEMOS
ENERGÍA
NUCLEAR



NUCLEOELÉCTRICA ARGENTINA S.A.

ATUCHA I / ATUCHA II / EMBALSE

Despejá tus dudas sobre la energía nuclear en: www.na-sa.com.ar



Ministerio de
Planificación Federal,
Inversión Pública y Servicios
Presidencia de la Nación

EDITOR RESPONSABLE

Asociación Argentina para el
Progreso de las Ciencias (AAPC)

COMITÉ EDITORIAL

Editora

Dra. Nidia Basso

Editores asociados

Dr. Gerardo Castro

Dra. Lidia Herrera

Dr. Roberto Mercader

Dra. Alicia Sarce

Dr. Juan R. de Xammar Oro

Dr. Norberto Zwirner

**CIENCIA E
INVESTIGACIÓN**

Primera Revista Argentina
de información científica.

Fundada en Enero de 1945.

Es el órgano oficial de difusión de
La Asociación Argentina para el
Progreso de las Ciencias.

A partir de 2012 se publica en dos
series, Ciencia e Investigación
Divulgación y Reseñas de Ciencia e
Investigación

Av. Alvear 1711, 4° piso,
(C1014AAE) Ciudad Autónoma
de Buenos Aires, Argentina.

Teléfono: (+54) (11) 4811-2998

Registro Nacional de la
Propiedad Intelectual

N° 82.657. ISSN-0009-6733.

Lo expresado por los autores o
anunciantes, en los artículos o
en los avisos publicados es de
exclusiva responsabilidad de los
mismos.

Ciencia e Investigación se
edita on line en la página web
de la Asociación Argentina
para el Progreso de las
Ciencias (AAPC)
www.aargentinapciencias.org

Nuestra portada: en este número
se describen envases y bolsas
comestibles y biodegradables y
alimentos que ayudan a combatir
enfermedades: super sopa (a)
y super sopa con levadura (b);
kefir y sus polisacáridos y yogurito
y sus probióticos. Descubra en
nuestras páginas como estos
desarrollos están enfocados a
mejorar la calidad de vida y a
cuidar el medio ambiente.



SUMARIO

EDITORIAL

Envases verdes y alimentos funcionales: los nuevos desafíos
en la alimentación

María Lidia Herrera 3

ARTÍCULOS

Materiales nanocompuestos a partir de Almidón destinados al
sector Embalajes

**Nancy Lis García, Laura Ribba, Lucía Famá, Alain Dufresne,
Mirta Aranguren, Silvia Goyanes** 5

Sopa concentrada con agregado de levadura de cerveza

M. Rabey, J. R. Wagner 27

Exopolisacáridos de bacterias lácticas y su aplicación en el
desarrollo de alimentos funcionales

Analía G. Abraham 35

Lactobacillus rhamnosus CRL1505 el primer Probiótico Social

**Julio Villena, Susana Salva, Martha Núñez, Graciela Font,
Susana Álvarez** 47

INSTRUCCIONES PARA AUTORES 55

*... La revista aspira a ser un vínculo de unión entre
los trabajadores científicos que cultivan disciplinas
diversas y órgano de expresión de todos aquellos que
sientan la inquietud del progreso científico y de su
aplicación para el bien.*

Bernardo A. Houssay

Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias

COLEGIADO DIRECTIVO

Presidente
Dr. Miguel Ángel Blesa

Vicepresidente
Ing. Arturo J. Martínez

Secretaria
Dra. Alicia Sarce

Tesorero
Dr. Horacio H. Camacho

Protesorero
Dr. Carlos Alberto Rinaldi

Presidentes Anteriores
Dra. Nidia Basso
Dr. Alberto C. Taquini (h)

Presidente Honorario
Dr. Horacio H. Camacho

Miembros Titulares
Ing. Juan Carlos Almagro
Dr. Alberto Baldi
Dr. Máximo Barón
Dr. Eduardo H. Charreau
Dra. Dora Alicia Gutiérrez
Ing. Oscar Mazzantini
Dr. Marcelo Vernengo
Dr. Juan R. de Xammar Oro

Miembros Institucionales
Sociedad Argentina de Cardiología
Sociedad Argentina de Farmacología Experimental
Sociedad Argentina de Hipertensión Arterial
Sociedad Argentina de Investigación Bioquímica
Sociedad Argentina de Investigación Clínica
Unión Matemática Argentina

Miembros Fundadores
Dr. Bernardo A. Houssay – Dr. Juan Bacigalupo – Ing. Enrique Butty
Dr. Horacio Damianovich – Dr. Venancio Deulofeu – Dr. Pedro J. Elizalde
Ing. Lorenzo Parodi – Sr. Carlos A. Silva – Dr. Alfredo Sordelli – Dr. Juan C. Vignaux – Dr.
Adolfo T. Williams – Dr. Enrique V. Zappi

AAPC
Avenida Alvear 1711 – 4° Piso
(C1014AAE) Ciudad Autónoma de Buenos Aires – Argentina
www.aargentinapciencias.org

Envases verdes y alimentos funcionales: los nuevos desafíos en la alimentación

María Lidia Herrera ■

Investigadora Independiente de CONICET y
Profesora Adjunta del Departamento de Química
Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Natura-
les, Universidad de Buenos Aires
cidcamlh@yahoo.com.ar

Todos conocemos la importancia que tiene una buena alimentación en nuestra calidad de vida. Con referencia a esto, hoy en día hay dos temas que principalmente atraen la atención de los científicos por su impacto en el medio ambiente y en la salud: los envases verdes para alimentos y los alimentos funcionales.

La mayor contribución que se ha realizado en nuestro país en los últimos tiempos en el área de envases verdes se realizó en el laboratorio de Polímeros y Materiales Compuestos (LPyMC) de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires. Allí se prepararon films o películas compuestas obtenidas a partir de almidón de mandioca y de almidón de maíz. Los films son transparentes, flexibles, comestibles y completamente naturales y pueden degradarse en varios días bajo acción del agua. Son muy versátiles, pueden contener otros aditivos, como colorantes, antimicrobianos, vitaminas o saborizantes. Un aspecto a destacar es que estas películas pueden prepararse a partir de cáscara de mandioca. De esta manera la mandioca se podría pelar, lavar, recubrir con estos films y luego exportar. El producto tendría valor agregado, se conservaría mejor durante el transporte y no se trasladarían cáscaras. Un desecho pasaría entonces a ser la materia prima de estos “plásticos naturales”.

Un alimento puede ser considerado “funcional” cuando ejerce un efecto beneficioso sobre el organismo de tal manera que mejore el estado de salud y/o reduzca el riesgo de enfermedad. En ese marco los trabajos en el área de alimentos se han centrado en la búsqueda de productos que combatan deficiencias nutricionales y al mismo tiempo permitan luchar contra el flagelo que representan algunas enfermedades. En este número se incluyen tres desarrollos que siguen esta tendencia y se detallan a continuación:

En el marco del Programa de Alimentos Sociales de la Universidad Nacional de Quilmes, que tiene como objetivo elaborar alimentos concentrados, enlatados y esterilizados, de bajo costo y fácil de preparar para su consumo, destinados a comedores escolares y comunitarios, se elaboró sopa concentrada con agregado de levadura de cerveza deshidratada comercial, a partir de la formulación base de la sopa concentrada “Super Sopa” que previamente habían desarrollado. Esta sopa tuvo una alta aceptación de los consumidores por su

consistencia cremosa, su agradable sabor y color al mismo tiempo que presentó un incremento del 205 % en el contenido proteico, sin superar la ingesta diaria recomendada de ácidos nucleicos en adultos.

En el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA-CONICET-UNLP) se aislaron cepas de bacterias lácticas de gránulos de kefir, como el *Lactobacillus plantarum* CIDCA 83114, que es capaz de prevenir la unión *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) y minimiza las alteraciones causadas por el patógeno sobre los enterocitos. Esta cepa además puede inhibir los efectos citotóxicos de la toxina Shiga 2 producida por EHEC. Aislaron además a partir de kefir cepas productoras de kefirán un polisacárido que podría tener efecto antitumoral y que es capaz de antagonizar los mecanismos de virulencia de algunas bacterias como *Bacillus cereus*.

Con el objetivo de desarrollar un nuevo alimento funcional capaz de mejorar la inmunidad contra infecciones intestinales y respiratorias, varias cepas de *Lactobacillus* aisladas de leche de cabra fueron evaluadas en el Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA-CONICET) situado en Tucumán. Para combatir los severos casos de nutrición infantil que tuvieron lugar en esa provincia en 2003 estos investigadores desarrollaron un Yogur Probiótico con capacidad de estimular las defensas naturales (sistema inmunológico) y con efecto preventivo de infecciones respiratorias e intestinales. Este nuevo alimento probiótico ha sido incluido en programas Oficiales de Nutrición en la Argentina. Desde 2008, el yogur probiótico que contiene *L. rhamnosus* CRL1505 (YOGURITO®) se administra diariamente a más de 200 mil niños en Tucumán. El uso de la cepa CRL1505 para mejorar la salud de los niños ya ha trascendido los límites de la provincia de Tucumán y otras provincias de Argentina también están consumiendo este prebiótico YOGURITO.

Los trabajos científicos incluidos en este número tuvieron como fruto desarrollos que generaron y generarán un gran impacto en nuestro país y en otros y fueron seleccionados por su calidad y por el gran aporte a la producción de mejores alimentos y envases que representan. Agradecemos a los grupos científicos que los realizaron el haber compartido sus hallazgos con nosotros y nuestros lectores.

MATERIALES NANOCOMPUESTOS A PARTIR DE ALMIDÓN DESTINADOS AL SECTOR EMBALAJES

Palabras clave: nanocompuestos, almidón, embalaje
Key words: nanocomposites, starch, packing

En el laboratorio de Polímeros y Materiales Compuestos (LPyMC) de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires, se prepararon films o películas compuestas obtenidas a partir de almidón de mandioca y de almidón de maíz. Los films son transparentes, flexibles, comestibles y completamente naturales y pueden degradarse en varios días bajo acción del agua. Son muy versátiles, pueden contener otros aditivos, como colorantes, preservativos y contener saborizantes. Inicialmente fueron pensados como posibles sustituyentes de numerosos films y posibles embalajes utilizados hoy en día, por ejemplo para cubrir las conocidas bandejas de compra rápida de supermercados que contienen frutas o verduras. También se confeccionaron "pequeñas bolsas" o contenedores para envolver cereales, frutas al vacío, café, entre otros. Sin embargo su campo de aplicación es verdaderamente muy amplio tanto en el área de alimentos como en el área no alimenticia.

La idea original surge como respuesta a una serie de realidades concretas que hoy en día está viviendo tanto el mundo como la Argentina todas relacionadas con los envases y embalajes a base de polímeros sintéticos todos provenientes del petróleo.

■ Nancy Lis García^a,
Laura Ribba^a,
Lucía Famá^a,
Alain Dufresne^b,
Mirta Aranguren^c,
Silvia Goyanes^{a*}

a) Laboratorio de Polímeros y Materiales Compuestos, Departamento de Física, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, FCEyN-UBA, Ciudad Universitaria 1428, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

b) The International School of Paper, Print Media and Biomaterials (Pagora, Grenoble INP) BP 65, 38402 St. Martins d'Hères Cedex, France.

c) INTEMA, Av. Juan B. Justo, 4302 7608FDQ, Mar del Plata, Argentina.

* sgoyanes@gmail.com

At the composite materials and polymer laboratory (LPyMC) of the Faculty of Exact and Natural Sciences of the University of Buenos Aires composite films obtained from cassava starch and corn starch were prepared. The films are transparent, flexible, all-natural food and may degrade over several days under water action. They are very versatile and can contain additives such as colorants, preservatives and flavorings. Initially they were intended as possible substitutes of numerous films and different packaging used nowadays, i.e. for covering the well known quick purchase supermarket trays containing fruits or vegetables. Also "small pockets" or wrapping cereal containers, vacuum package for fruits, coffee, etc. were made. However, its scope is very broad indeed in both the food and non-food area. The original idea comes in response to a series of concrete realities that today occur both around the world and in Argentina, all related to packaging based on synthetic polymers all oil revenues.

■ 1.- ANTECEDENTES

Como es bien conocido en la actualidad, los desechos provenientes de los embalajes y envases son cada vez más numerosos. Según datos

publicados por la Cámara Argentina de la Industria Plástica (CAIP), la Argentina es el mayor consumidor de plásticos de América latina y ocupa el lugar número 11 a escala mundial. En 2007 -último dato registra-

do en el anuario de la CAIP-, el consumo anual por habitante fue de 41 kilogramos. (Figura 1). En el caso de Argentina, los campos de aplicación de los productos plásticos son los siguientes y se observan en la figura

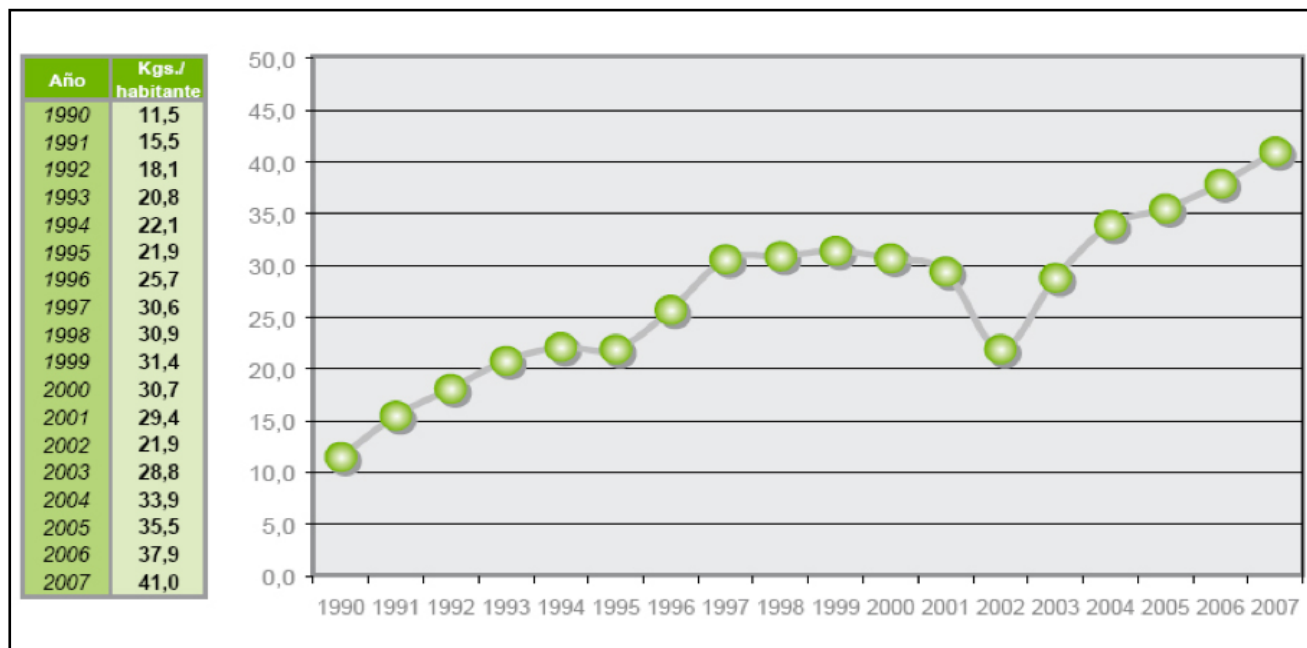


Figura 1: Evolución Anual Consumo de Plásticos por habitante.

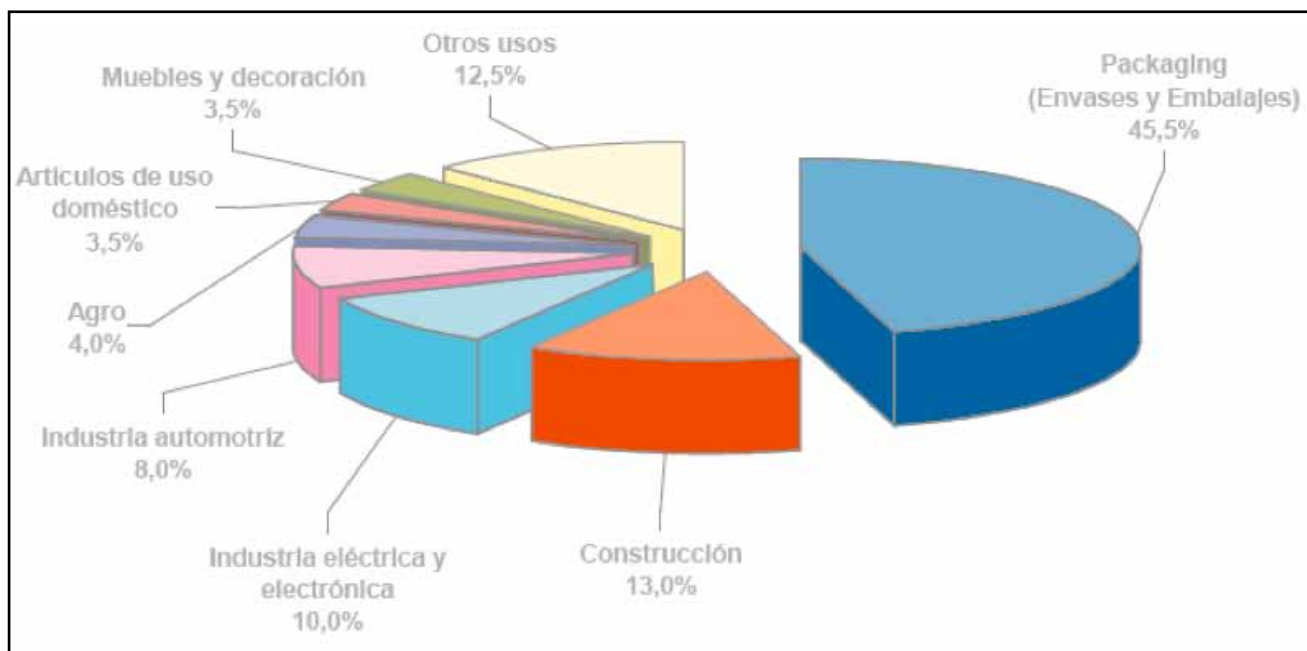


Figura 2: Proporciones de consumo de plásticos en Argentina.

2 (Cámara Argentina de la Industria Plástica, CAIP, 2010). El alto porcentaje de consumo de plásticos sintéticos destinados a los envases y embalajes en Argentina permite inferir la escala de las futuras aplicaciones de los polímeros biodegradables. Los materiales que componen los embalajes son mayoritariamente polímeros no biodegradables y difícilmente reciclables; todos ellos prove-

nientes de la industria petroquímica. Por razones de protección al medio ambiente hay un interés creciente en todos los ámbitos por la sustitución de estos plásticos por materiales biodegradables. Entre estos últimos se encuentran los polímeros naturales o biopolímeros (polisacáridos, proteínas, lípidos, ciertos poliésteres) provenientes de la biomasa.

El almidón, se estudia desde hace unos veinte años, ya que se trata de una materia prima que es económica, abundante, renovable y biodegradable, lo que lo hace interesante como futuro material de embalaje. La forma más conocida y usual de procesar films o películas de almidón, consiste en convertirlo en termoplástico a través del agregado de

un plastificante no acuoso, generalmente un polialcohol y hacerlo gelatinizar. El material resultante puede ser manufacturado utilizando la tecnología ya conocida y desarrollada para la producción de plásticos sintéticos, lo que representa una menor inversión económica. Sin embargo, hasta ahora pocas aplicaciones han podido concretarse debido, principalmente, a que el almidón termoplástico muestra gran sensibilidad al agua, acentuada por la presencia del plastificante. La naturaleza hidrofílica del almidón plastificado, lo hace muy susceptible al ataque de la humedad, resultando en cambios en su estabilidad dimensional y propiedades mecánicas. Además, la retrogradación y cristalización de las cadenas móviles del almidón conducen a cambios no deseados en sus propiedades termomecánicas.

Como respuesta a esto último, y aunando necesidad de mejorar propiedades mecánicas y de barrera de este tipo de polímeros, los últimos años se ha propuesto el desarrollo de una nueva clase de compuestos llamados **bio-nanocompuestos** o **eco-nanocompuestos** (Dorgan y

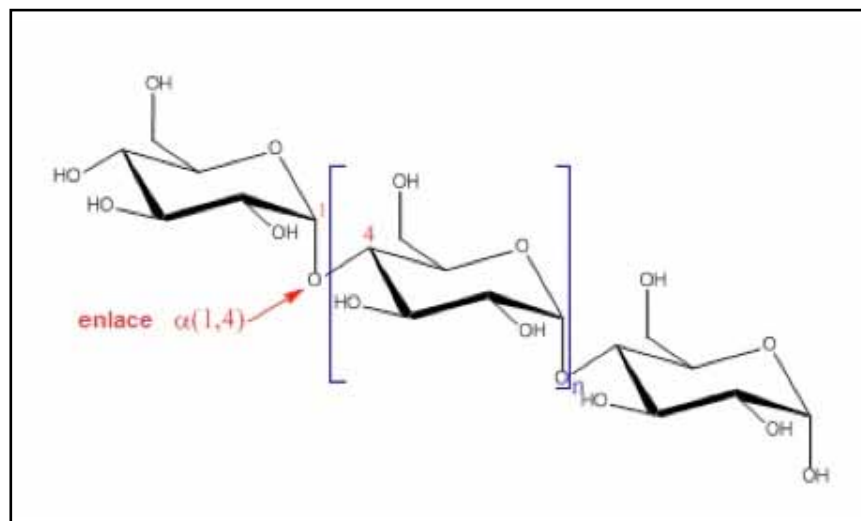


Figura 4: Estructura química de la amilosa.

col., 1993), materiales constituidos por una matriz polimérica y refuerzos de tamaño nanométrico, donde uno de ellos o ambos son de naturaleza renovable o bien provenientes de fuentes renovables.

El almidón, más allá de su conocido uso para el desarrollo de films, puede emplearse también como material base para la síntesis de **"nanocristales"**. Esto se logra mediante la hidrólisis ácida de gránulos de almidón o celulosa, en nuestro caso particular se hacen a partir de almidón

de maíz **ceroso** conocido comercialmente como "Waxy", el cual tiene como característica particular una composición rica en amilopectina (99 % en peso).

Para abordar la hidrólisis es importante hacer referencia sobre los dos tipos de polímeros que conforman el almidón, la amilosa y amilopectina. La amilosa es un polímero esencialmente lineal mientras que la molécula de amilopectina es mucho más grande y ramificada. La amilopectina está compuesta de segmentos de glucosa unidos con enlaces α -1,4 conectados por los puntos de ramificación α -1,6. Ver figura 3.

La amilosa es esencialmente un polímero lineal compuesto casi enteramente de D-glucanopiranosas con enlaces α -1,4. (Ver figura 4).

La relación amilosa y amilopectina dentro de un determinado almidón, es un punto muy importante a considerar con respecto a las funcionalidades del almidón en los alimentos. El contenido de amilosa y amilopectina afecta la arquitectura del gránulo de almidón, la gelatinización, los perfiles de la pasta que se forma y los atributos de textura de la misma. Dada la naturaleza de la ramificación de la amilopectina y el

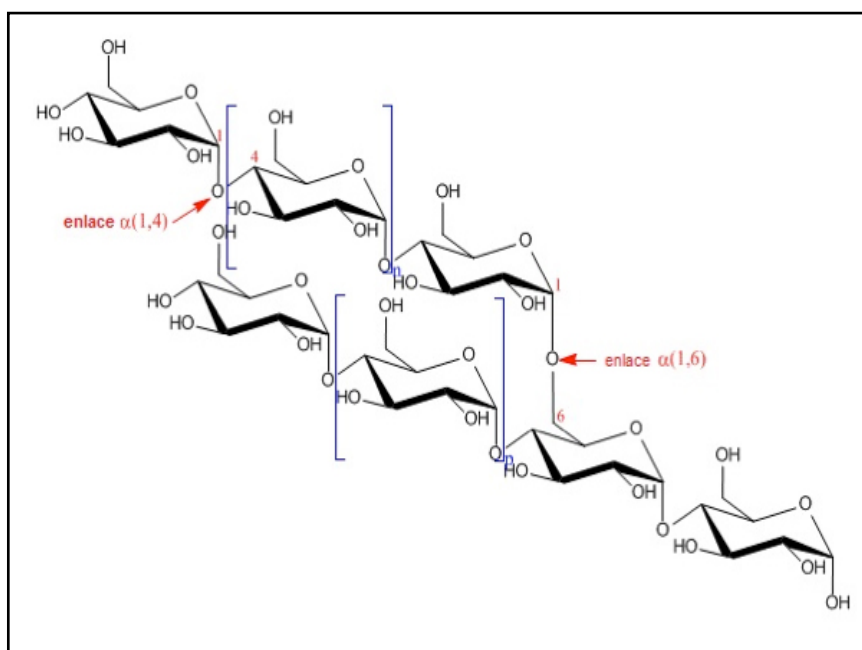


Figura 3: Estructura química Amilopectina.

TABLA N° 1:

Contenido de Amilosa y Amilopectina de los almidones más usuales.

Tipo de almidón	Contenido Amilosa (% en peso)	Contenido Amilopectina (% en peso)
Grano de maíz	25	75
Maíz ceroso (waxy)	<1	>99
Mandioca	17	83
Papa	20	80
Maíz de alta amilosa	55-70	30-45 (o menos)
Trigo	25	75
Arroz	19	81

tamaño de molécula, sus propiedades difieren de las de amilosa. Por ejemplo, la retrogradación es lenta y la formación de gel, puede retardarse o inclusive prevenirse. Algunos ejemplos de contenidos de amilosa y amilopectina en almidones comunes se muestran en la tabla 1.

La obtención de nanocristales proviene de la hidrólisis catalizada por ácidos de los enlaces glucosídicos α -1,4 y α -1,6. En efecto, por razones de orden estérico, el enlace glucosídico es más fácilmente accesible en los enlaces dentro del ciclo. Por otra parte, de acuerdo con Wolfrom y col., 1973, y Banks y col. 1973, el corte será más fácil en el enlace α (1,4) que en el enlace α (1,6).

La Figura 5 muestra el mecanismo de reacción de hidrólisis ácida en los enlaces α (1,4) del almidón de acuerdo con Bemiller, 1965.

Además, la ruptura entre los ciclos es sólo en las regiones amorfas. De hecho, las regiones cristalinas son demasiado ordenadas para permitir que un ácido esté lo suficientemente cerca para romper el vínculo glucosídico.

Así, una vez que la hidrólisis ácida es completa, estamos en la presencia de un residuo cristalino, a saber los nanocristales de almidón, en nuestro caso.

El uso de films sin cargas es limitado debido a algunas de sus propiedades: son frágiles y pobres en cuanto a propiedades de barrera al agua

y gases, y aunado a esto presentan bajas temperaturas de distorsión en el procesado.

En el caso de los bioplásticos hechos a base de almidón, éstos resultan quebradizos, y a menos que el almidón se mezcle con otros materiales, o se lo modifique químicamente, no sirve para fabricar films flexibles y resistentes como por ejemplo los requeridos para envolver y envasar alimentos.

Es así como se buscó desarrollar materiales compuestos, que mediante la adición de refuerzos en matrices poliméricas permitieran aumentar sus propiedades térmicas, mecánicas y de barrera. Sin embargo, para obtener buena performance de estos materiales es muy importante que se desarrollen interacciones fuertes en la interfaz entre ambos componentes. Además, es conocido que en los refuerzos de tipo macroscópico la concentración de defectos se reduce a medida que decrece el tamaño del refuerzo.

Lo anterior nos lleva al uso de refuerzos con al menos una dimensión en el rango nanométrico (nanopartículas), para obtener polímeros nanocompuestos. La aplicación de la nanotecnología para mejorar la performance de los materiales poliméricos abre un nuevo campo de

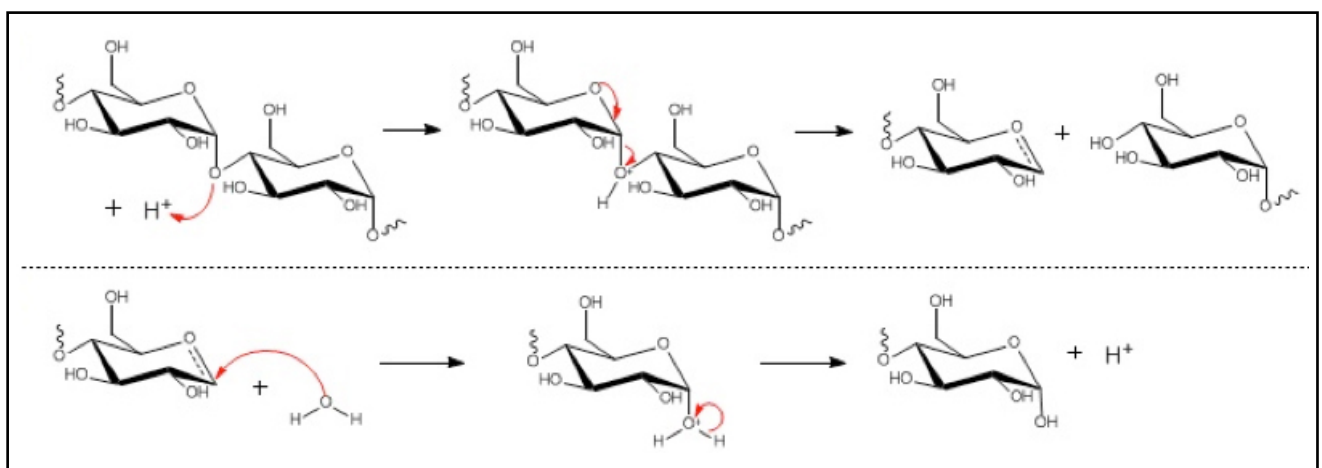


Figura 5: Mecanismo reaccional de la hidrólisis ácida sobre los enlaces α (1,4) del almidón – (Bemiller, 1965).

posibilidades, aumentando no sólo las propiedades sino además la relación costo-eficiencia.

Se pueden encontrar varios ejemplos de nanocompuestos, tal como nanotubos de carbono como refuerzo en polímeros renovables, (Famá y col., 2011; Moon y col., 2005), así como distintos polisacáridos como celulosa, almidón y quitosano como potenciales refuerzos de tamaño nanométrico provenientes de fuentes renovables, por ejemplo: almidón plastificado reforzado con microfibrilas de celulosa (Dufresne y Vignon, 1998; Dufresne y col., 2000; Kumar y Singh, 2008; Martins y col., 2009), o con nanocristales de celulosa (Anglès y Dufresne, 2000; 2001; Chang y col., 2010; Matew y Dufresne, 2002; Mathew y col., 2008; Texeira y col., 2009).

Estos tipos de refuerzos son también polímeros que se encuentran en estado semicristalino y se emplean soluciones ácidas acuosas para hidrolizar las regiones amorfas de dicho polímero. Consecuentemente, las secciones cristalinas que se encuentran en estos polisacáridos naturales, son liberadas, dando como resultado nanopartículas monocristalinas (Samir y col., 2005). Las partículas obtenidas muestran diferentes formas dependiendo de la fuente del polisacárido: nanofibras rígidas provenientes de la celulosa y quitosano y partículas con forma de plaquetas para el almidón. Además sus relaciones de aspecto son variadas: desde 10 a 65 para la celulosa y por encima de 120 para el quitosano. (Samir y col., 2005; García de Rodríguez y col., 2006).

El uso de nanopartículas de almidón ha comenzado a atraer atención debido a las características propias del almidón: es de bajo costo, renovable, biocompatible, biodegradable y no tóxico (Chakraborty y col.,

2005), además de ser un excelente candidato para materiales de implante y transporte de drogas. Además los nanocristales de almidón han demostrado poseer buenas propiedades como refuerzos (Angellier y col., 2005; Viguié y col., 2007).

Por esta razón, el estudio fue dedicado al análisis de las propiedades físico-mecánicas de un nuevo tipo de nanocompuesto (películas de almidón de mandioca reforzadas con nanocristales de almidón de maíz).

Es así como utilizando este nuevo nanocompuesto se obtiene un film, material nanocompuesto, que potencialmente será utilizada en el sector de embalaje a partir de su futuro desarrollo a escala industrial.

Las investigaciones realizadas para la obtención de este material se resumen a continuación:

La primera fase se constituyó por la metodología para obtener nanocristales de almidón con tamaños entre 20 y 50 nm. La implementación de la técnica se basó en trabajos previos realizados en convenios de investigación con el grupo de investigación de la Escuela Internacional del Papel y Biomateriales de Grenoble, Francia (PAGORA-INP Grenoble). Una optimización de las diferentes variables del proceso permitió obtener suspensiones acuosas de los nanocristales o los nanocristales en polvo luego de una etapa de liofilización. Los nanocristales fueron caracterizados morfológicamente mediante microscopía electrónica de barrido (FESEM), microscopía electrónica de transmisión convencional (TEM) y de alta resolución (HRTEM) previo estudio del tiempo de teñido de los nanocristales para realizar una observación óptima.

En la segunda etapa, se analizó la capacidad para formar films con dos

tipos de almidón: almidón de mandioca y de maíz ceroso, investigándose la influencia de la adición de un plastificante (glicerol) sobre las propiedades de cada uno de estos materiales. Se realizó una completa caracterización de estas películas discutiéndose propiedades mecánicas, cristalinidad y permeabilidad al vapor de agua, entre otras.

Una vez caracterizados los componentes a emplear en la fabricación de los nanocompuestos se procedió al desarrollo de los mismos. En esta etapa se trabajó sobre los parámetros del proceso, resolviendo los clásicos problemas de dispersión de la carga en la matriz. Se estudió, la relación entre la respuesta físico química y la estructura (composición) de los dos almidones empleados, identificándose las ventajas y desventajas de usar a cada uno de ellos como material matriz.

Las películas (*films*) fueron caracterizadas mediante diferentes técnicas a fin de determinar su cristalinidad (difracción de rayos X); comportamiento mecánico (ensayos cuasi-estáticos y dinámicos); estabilidad térmica (análisis termogravimétrico), permeabilidad al vapor de agua entre otras. Los dos tipos de nano-compuestos desarrollados mostraron respuestas muy diferentes sobre todo en lo que respecta a la permeabilidad al vapor de agua. Estas diferencias están principalmente causadas por la forma en la que se arreglan los nanocristales en la matriz de almidón. Mientras que en el caso de la matriz de mandioca los nanocristales están bien dispersos, en el caso de la matriz de almidón ceroso, los nanocristales se agrupan formando "cadenas" (García y col., 2011).

A partir de la evaluación de propiedades de ambos nano-compuestos y en función de las necesidades

y proyecciones como futuros materiales a utilizar dentro del área de los embalajes y envases, se decidió utilizar los films a partir de almidón de mandioca con nanocristales de almidón de maíz ceroso por presentar el mejor compromiso entre refuerzo mecánico y permeabilidad. Este material fue aplicado sobre diferentes alimentos y se confeccionaron a nivel laboratorio distintos embalajes. Se fabricaron envases mediante termo-sellado y se los sometió a vacío de bomba mecánica a fin de evaluar la posibilidad de su uso en las industrias de envases y embalajes. También se los sometió a otros ensayos cualitativos como por ejemplo cambios de color en el alimento envuelto.

■ 2. NANOCRISTALES DE ALMIDÓN

2.1 Caracterización de nanocristales

En la literatura se utilizan varios términos para referirse a la parte cristalina del almidón: Cristalitos de almidón, nanocristales de almidón, almidón microcristalino y almidón hidrolizado; todos ellos se obtienen por hidrólisis pero difieren en el tamaño de partícula.

El primer interés en nanocristales de almidón se estudió por analogía con los whiskers de celulosa usados como refuerzos en una matriz de almidón en 1996 por Dufresne y colaboradores. Ellos reportaron un método para producir lo que llamaron en aquel momento "Almidón microcristalino", mostrando partículas aglomeradas de algunas decenas de nanómetros en diámetro. El procedimiento consistió en la hidrólisis del almidón (5% en peso) en una suspensión de ácido clorhídrico 2.2 N durante 15 días. Dufresne y Cavaille, 1998, realizaron estudios sobre

la morfología de esos microcristales reforzando los conceptos de percolación y formación de agregados que utilizaban los clásicos modelos para polímeros que contenían partículas esféricas. En 2003, Putaux y col.; revelaron la morfología de los "nanocristales como producto de la disrupción de los gránulos de almidón de maíz ceroso por hidrólisis ácida". Luego de 6 semanas de hidrólisis, las observaciones TEM mostraron: (a) una vista longitudinal de fragmentos lamelares que consistían en un conjunto de elementos alargados con un espesor de 5-7 nm, y (b) una vista planar de plaquetas individualizadas luego de la hidrólisis.

Las formas y dimensiones laterales se derivaron de la observación individual de las plaquetas observadas en una vista planar. Se observaron ángulos agudos de entre 60-65° de bloques paralelepípedos con una longitud de 20-40 nm y un ancho de 15-30 nm. Sin embargo, se encuentran recientes publicaciones

reportando tamaños más grandes de nanocristales: 40-70 nm para nanocristales provenientes de almidón de papa (Chen y col., 2008a) con medidas de entre 30-80 nm y 60-150 nm (Chen y col., 2008 b; Yu y col., 2008; Zheng y col., 2009) para nanocristales de almidón de guisantes y 50 nm (García y col., 2009) y entre 70-100 nm (Namazi y Dadkhah, 2008) para el almidón ceroso Waxy, con aristas redondeadas y formando agregados como un racimo de uvas de 1-5 μm . La heterogeneidad del tamaño de partícula puede ser explicada debido a las diferencias en el tipo de almidón utilizado y las distintas técnicas presentadas en la preparación de las muestras a analizar; o bien porque es probable que los valores reportados en bibliografía sean agregados de nanocristales. Los nanocristales fueron obtenidos por hidrólisis ácida, utilizando un protocolo similar al empleado por Angellier y colaboradores, (2006) para la obtención de nanocristales de almidón ceroso.

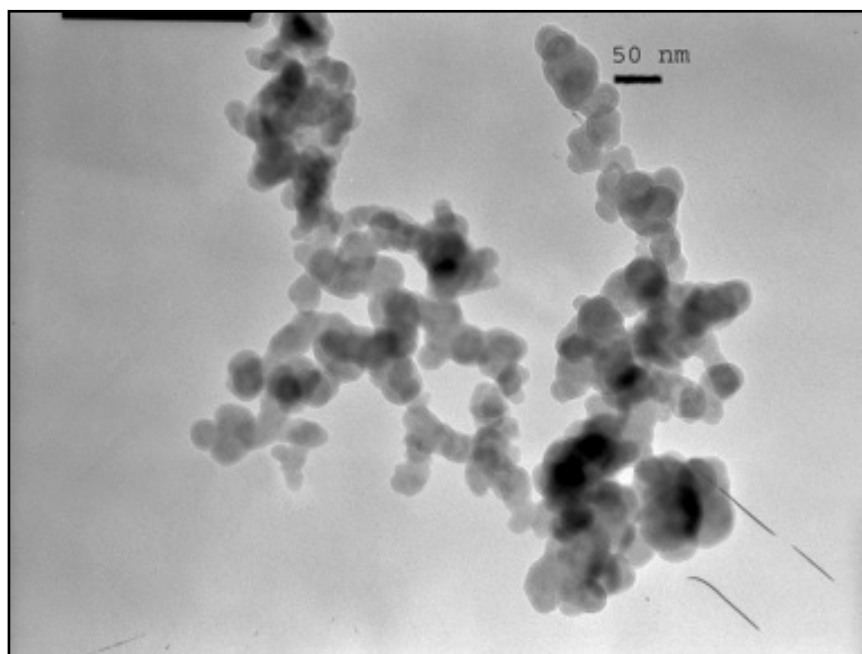


Figura 6: Microscopía Electrónica de transmisión de nanocristales de almidón de maíz ceroso.

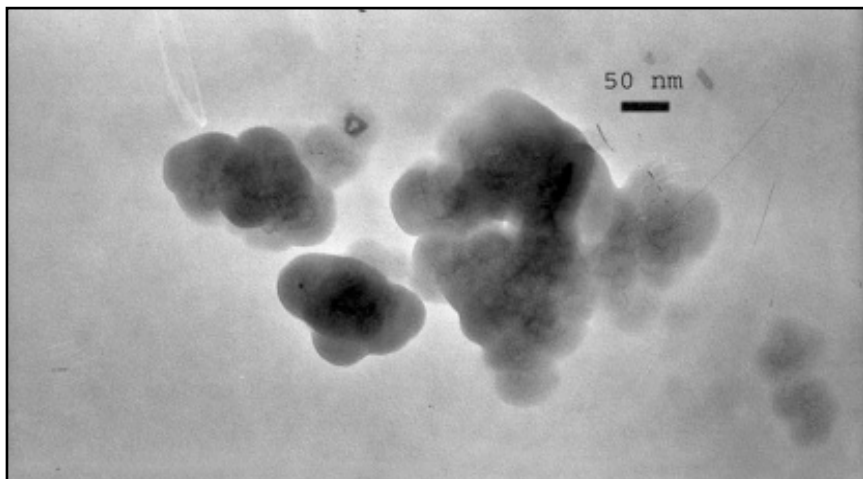


Figura 7: Microscopía Electrónica de transmisión de nanocrisales de almidón de maíz ceroso.

2.1.1 Morfología de los nanocrisales. Microscopías (TEM Y SEM)

Microscopía Electrónica de transmisión (TEM)

Las figuras 6 y 7 muestran una micrografía electrónica de transmisión TEM de nanopartículas de almidón ceroso. La microscopía fue realizada usando una gota de una suspensión de nanopartícula en agua desionizada. El contraste adecuado de las nanopartículas se logró tiñéndolas con una solución de uranilo al 2%.

Los nanocrisales obtenidos tuvieron tallas entre 20 a 50 nm y formaron agregados de 1-5 μm , mostrando características morfológicas muy similares a las reportadas por Chen y col., (2008), quienes utilizaron almidón de guisantes; Namazi y Dadkhah, (2010) con almidón ceroso de maíz y similares al presentado por Kim y col., (2008) obtenidos por hidrólisis vía enzimática.

En la figura 6, se observan los nanocrisales concatenados unidos entre sí como formando un “cordón” o “cadena”. En la figura 7 se muestra un acercamiento del mismo grupo de nanocrisales, donde debido a la aglomeración de las partículas

es difícil definir la forma de las mismas, y sus aristas son poco definidas como las presentadas en la hidrólisis de Putaux y col., (2003). Es por esto que para mejorar la definición

de la morfología cristalina de las nanopartículas también se realizó microscopía TEM de alta resolución en el Centro Atómico de Bariloche¹, (Figura 8).

En esta figura se sigue manteniendo la agrupación de nanopartículas corroborándose la alta afinidad entre partículas debido seguramente a fuerzas Van der Waals entre los grupos OH presentes en la superficie de los cristales de almidón, sin embargo las aristas de los nanocrisales son más definidas y se observan partículas que pueden tener hasta 20 nm de talla.

Tal como se observa en todas las figuras, los nanocrisales se observan formando agregados parecidos a un “ramillete de uvas”, sin embargo a

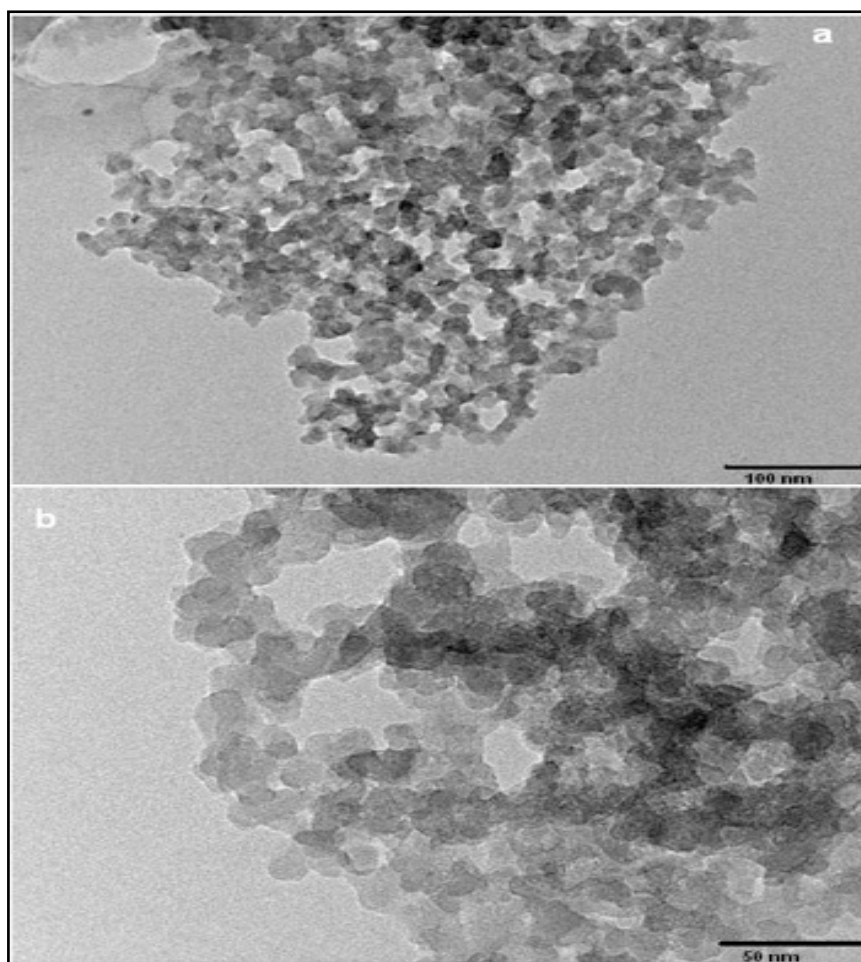


Figura 8 a-b: Microscopía Electrónica de Transmisión de alta resolución de nanocrisales de almidón ceroso.

pesar de esta agrupación se puede, tal como se reportó, detectar el tamaño individual de cada uno de los cristales.

Microscopía Electrónica de barrido SEM:

Las Figuras 9, a – c, muestran micrografías FE-SEM de los nanocristales de almidón en suspensión mientras que en las figuras 10 a y b, se muestran micrografías de los mismos nanocristales de la figura anterior pero liofilizados, es decir las imágenes corresponden al polvo de nanocristales. Para examinar las nanopartículas de las figuras 9, a y b, se colocó una gota de suspensión de las mismas previamente sonicada durante 10 minutos sobre una grilla para observación SEM con cinta de carbono. En la figura puede observarse que los nanocristales se asocian en forma de “bouquet” o “racimos”. Esta arquitectura es similar a las observaciones de Oostergetel and van Bruggen (1993) quien propuso una organización helicoidal de la amilopectina en forma de “clusters”, también comentada por Capron y col., (2007). Estructuras similares fueron observadas por Waigh, y col., (2000) en gelatinización de almidón ceroso de maíz, de maíz común y de papa.

En el caso de la figura 10 a y b, se muestra una formación de agregados de tipo laminar con una gran área específica, similares a las estructuras reportadas por Thielemans et al., (2006). El polvo luego de la liofilización tiene gran tendencia a aglutinarse entre sí mostrando agregados indicando como se mencionó anteriormente que las nanopartículas poseen grupos hidroxilos disponibles para unirse entre sí. Es una observación importante si se piensa por ejemplo, en una posible modificación superficial de la nanopartícula, este resultado hace inferir la ne-

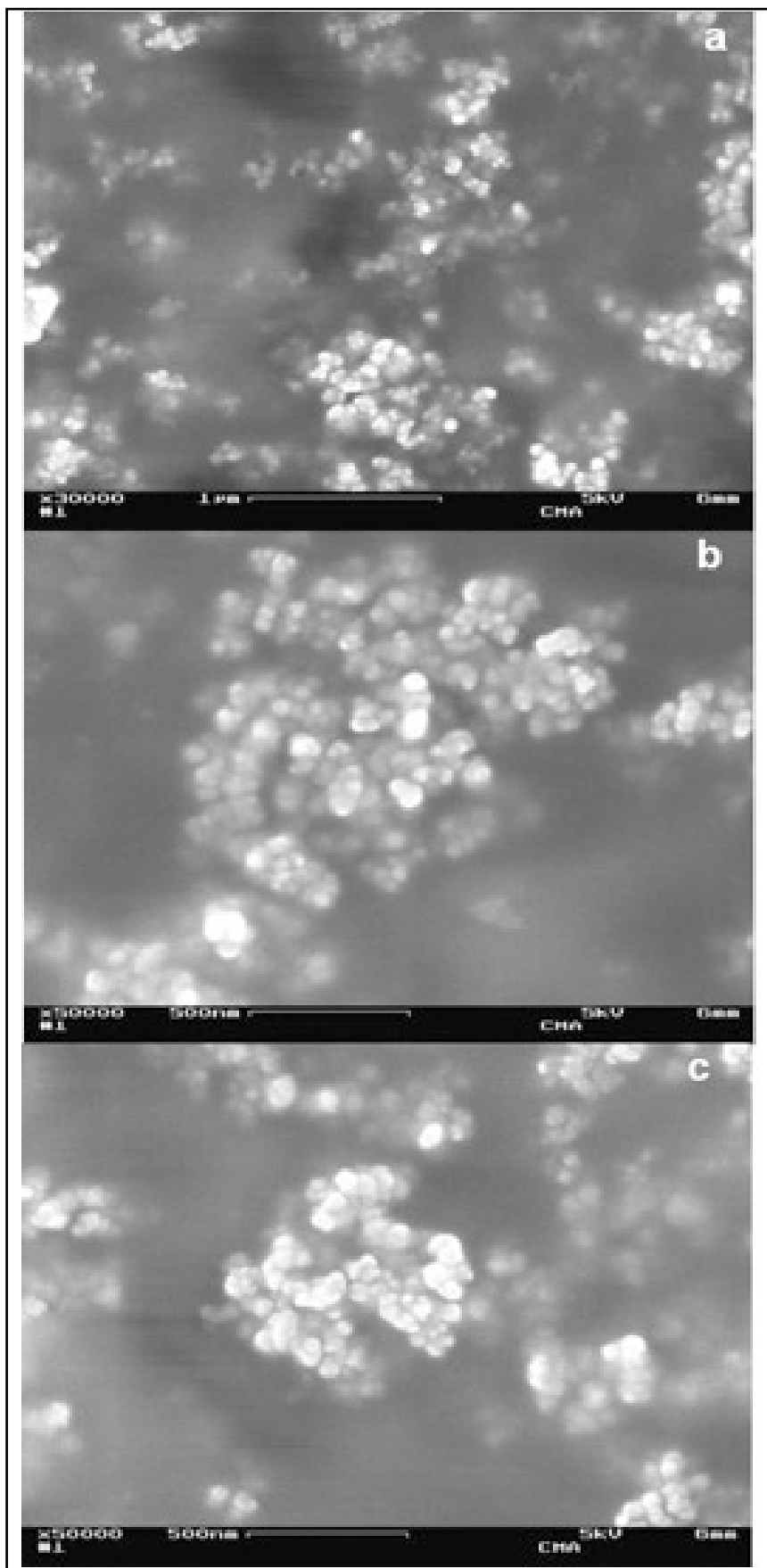


Figura 9 a-c: Microscopía Electrónica de barrido de nanocristales de almidón de maíz ceroso.

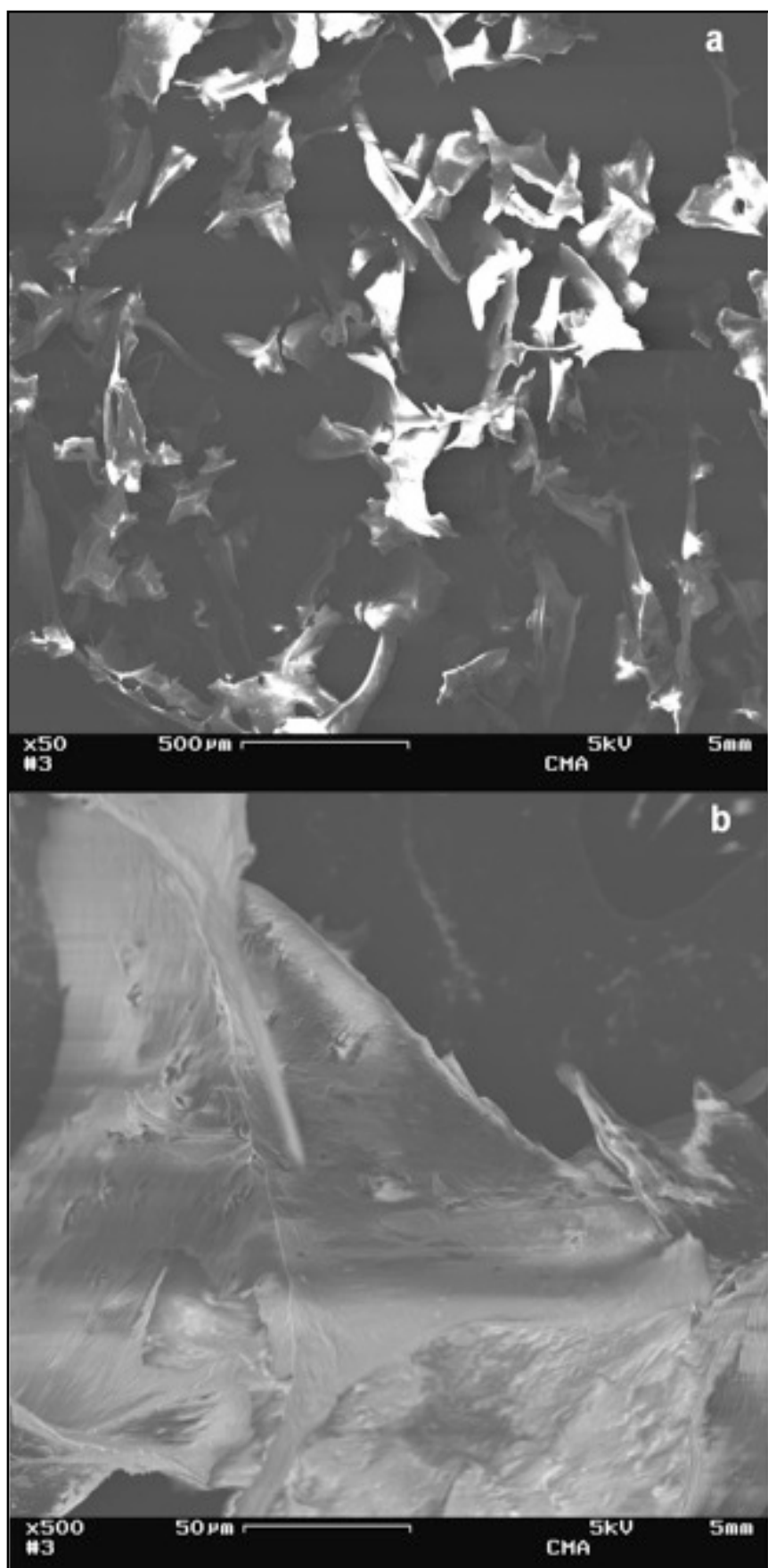


Figura 10 a-b: Microscopía Electrónica de barrido de nanocristales de almidón de maíz ceroso.

cesidad de separarlas o bien en un solvente adecuado, o utilizando una modificación química conveniente aprovechando grupos funcionales que aseguren la separación entre ellas.

Éstas y otras técnicas de caracterización de los nanocristales utilizados en los compuestos de almidón tales como: Difracción de rayos X, Espectroscopia Infrarroja, Análisis termogravimétrico y Calorimetría diferencial de barrido DSC son descritos con detalle en García y col., (2011) y García y col., (2012).

■ 3.- FILMS DE ALMIDÓN TERMOPLÁSTICO CON NANOCRISTALES DE ALMIDÓN DE MAÍZ CEROSO

La obtención de films o películas termoplásticas de almidón con nanocristales de almidón, fue obtenida por la técnica de disolución y evaporación del solvente conocida como “casting”.

Los films obtenidos tienen aspecto similar al de los films conformados con almidón de mandioca sin nanocargas, como se puede ver en la figura 11.

Varias caracterizaciones fueron realizadas con los films compuestos de almidón de mandioca y nanocristales de almidón, entre ellas están Espectroscopia Infrarroja, Difracción de Rayos X, Análisis Mecánico Dinámico, Microscopía Electrónica de Barrido, Análisis Termogravimétrico, Absorción de Agua y Permeabilidad al Vapor de Agua. Por razones de espacio se tratarán en esta publicación el Análisis Mecánico Dinámico, la Microscopía Electrónica de barrido y la Permeabilidad al vapor de agua.



Figura 11: Films de almidón de mandioca y nanocristales de almidón ceroso obtenidos según el protocolo descrito en la sección 4.2.

3.1 Caracterización de films

3.1.1. Análisis Mecánico Dinámico (DMA)

La figura 12 presenta la evolución isócrona (1Hz) con la temperatura de la tangente de pérdida ($\tan \delta$), y del logaritmo del módulo de almacenamiento relativo (E'/E_g), de-

finido como la relación entre el módulo a la temperatura T y el módulo en el estado vítreo, para los biofilms de mandioca sin reforzar y del compuesto reforzado con 2,5% en peso de nanocristales.

Los resultados en la curva de módulo de almacenamiento relativo en función de la temperatura muestran

que la magnitud del módulo de almacenamiento se incrementa cuando se incorporan los nanocristales a la matriz de almidón, por ejemplo, el valor del módulo en el estado denominado gomoso a una temperatura de 50°C se incrementa de $3,80 \times 10^7$ Pa para la matriz a $1,47 \times 10^8$ Pa para el compuesto, lo que significa un aumento del 386% en el módulo.

En la curva de $\tan \delta$ se observan dos picos: el primero alrededor de -60°C y el segundo, amplio y de baja intensidad entre los -20°C y los 60°C . De acuerdo a la literatura el primero corresponde a la relajación de la fase rica en glicerol (designada como T_1 en la figura 12) y el segundo a la fase rica en almidón (denotada como T_2 en la misma figura). Mathew y Dufresne, (2002), reportaron un pico de relajación alrededor de los 0°C , el cual asociaron con el rearreglo de las cadenas amorfas del almidón en presencia de humedad. Este fenómeno conocido como retrogradación, es favorecido por el efecto plastificante del agua. En nuestro caso se observa también una segunda relajación más definida en la curva $\tan \delta$ del compuesto que con respecto a la matriz, esto hace inferir que el contenido de agua es mayor para el compuesto, hecho que se comprobó más tarde por medio de un análisis termogravimétrico y del seguimiento de la cinética de absorción de agua.

La relajación asociada a la fase rica en glicerol se desplaza levemente hacia mayores temperaturas, además se ensancha, disminuye su intensidad y es más asimétrica en el compuesto reforzado con los nanocristales. Este resultado sugiere que la presencia de nanocristales contribuye al establecimiento de enlaces hidrógeno entre el glicerol y las nanocargas. Esta conclusión se corresponde con los resultados obtenidos de la espectroscopía infrarroja y las

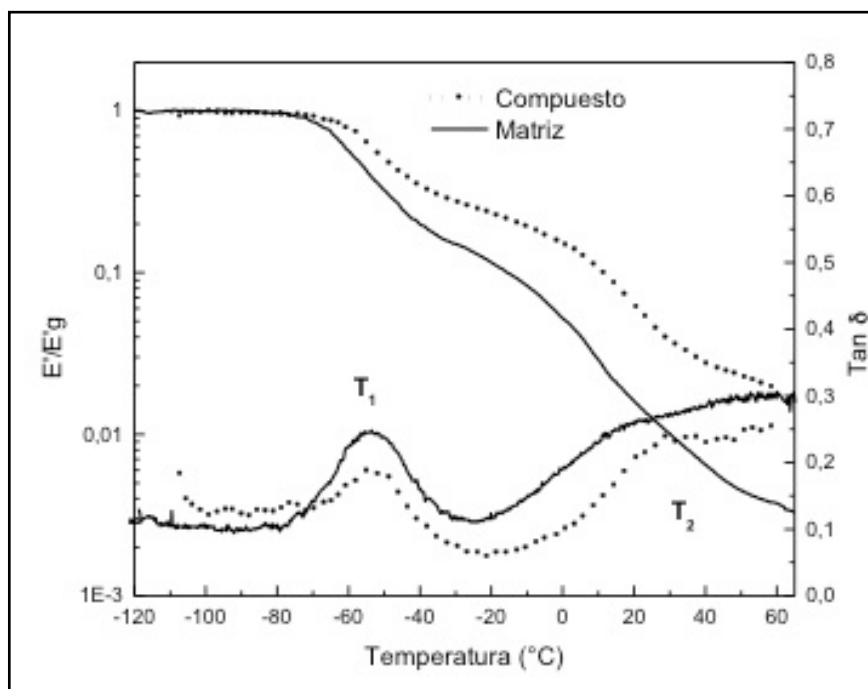


Figura 12: Evolución de las propiedades mecánico- dinámicas del film de mandioca y del compuesto matriz de mandioca con nanocrisales con la temperatura. $E'g$ es el valor del módulo de almacenamiento en el estado vítreo.

observaciones por microscopía FE-SEM cuando se incorporan nanocrisales de almidón de maíz ceroso.

3.1.2. Caracterización Morfológica por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).

La figura 13 muestra las micrografías de las superficies fracturadas criogénicamente del film de mandioca y del film compuesto conteniendo 2,5% de nanocrisales, respectivamente.

Cuando los nanocrisales de almidón de maíz ceroso son añadidos a la matriz de almidón de mandioca, el aspecto de la superficie de fractura es completamente diferente, tal como se observa en la micrografía 13 b. Es una superficie lisa que contiene un patrón de venas bien desarrollado, característica usual que se encuentra cuando la deformación es controlada por la matriz homogénea y amorfa. Algunos resultados similares fueron reportados por ejemplo para otro tipo de nanocompuestos plastificados con glicerol como es el caso de films de almidón de Cará reforzados con arcilla mineral, tal como lo presenta Wilhen y col., (2003).

Zillia y col. (2005) también informaron sobre una superficie de fractura con patrón de venas para un nanocompuesto conformado por nanotubos de carbono como refuerzo.

Las micrografías muestran que para el nanocompuesto la superficie de fractura no presenta las irregularidades que aparecen en la fractura criogénica de la matriz plastificada,

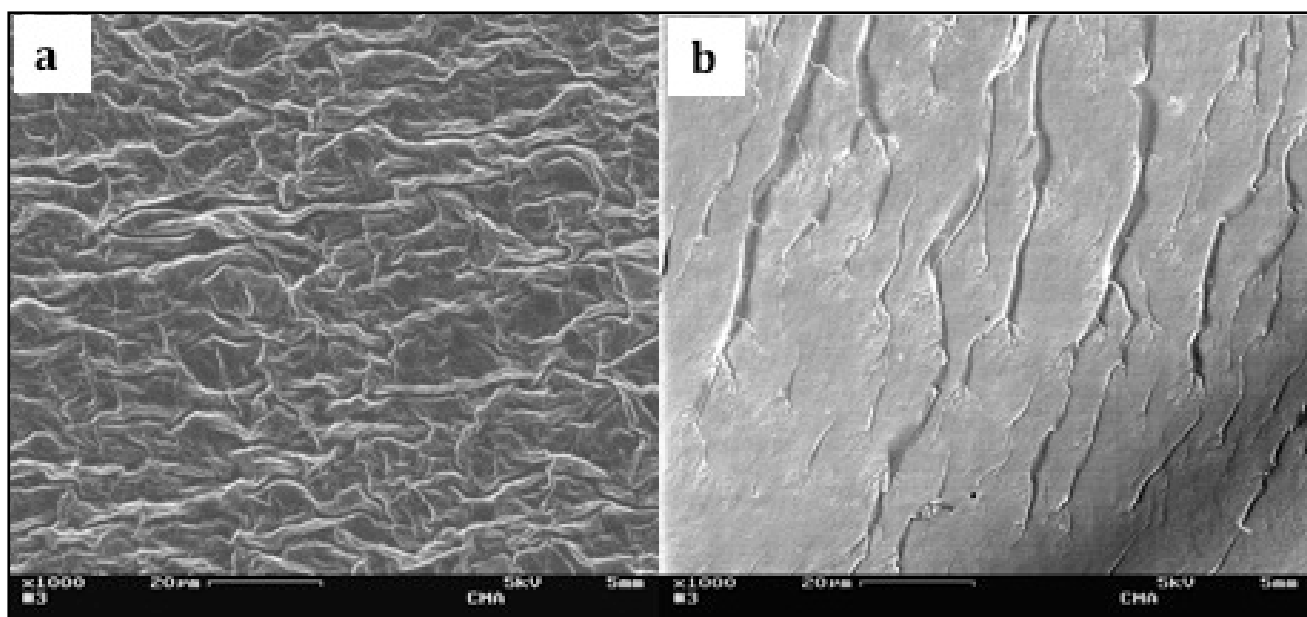


Figura 13: Imágenes SEM de las superficies crio fracturadas de a) el film de mandioca, y b) el film de almidón de mandioca con nanocrisales de almidón de maíz ceroso.

lo que hace inferir que el glicerol es distribuido más homogéneamente en el nanocompuesto que en la matriz de mandioca sin reforzar. Los nanocristales probablemente interactúan con las moléculas de glicerol por enlaces hidrógeno lo cual permite una distribución más uniforme de la concentración remanente y reducida de glicerol.

3.1.3. Permeabilidad al vapor de agua (WVP)

Los valores de permeabilidad al vapor de agua con un gradiente de humedad relativa de 0-58%, obtenidos para los films de almidón de mandioca y almidón de mandioca con nanocristales según la norma ASTM E96, (1996); son dados en la tabla 2. Los valores de WVP obtenidos para los films de almidón de mandioca sin reforzar son similares a los valores reportados previamente por Famá y col., (2005).

La tabla 2 muestra que la permeabilidad al vapor de agua decrece alrededor de un 40% con sólo un agregado de nanocristales de almidón de 2,5% en peso.

A partir de la Ley de Fick y Ley de Henry se obtiene que (cuando no hay poros o fallas en las películas) la permeabilidad es igual al producto del coeficiente de difusión (D) que representa la movilidad de las moléculas del permeante en el polímero, y del coeficiente de solubilidad (S)

que representa la concentración del permeante en el film en equilibrio con la presión externa (Bertuzzi y col., 2002):

$$P = D \cdot S \quad (4.1)$$

El coeficiente de difusión (D) indica la velocidad de transporte de las moléculas de gas penetrante a través de las membranas, mientras que el coeficiente de solubilidad (S) es un coeficiente termodinámico y es determinado por las interacciones polímero-penetrante y la cantidad de volumen libre existente entre las cadenas de los polímeros amorfos. Además, tanto difusión como solubilidad responden a un conjunto complejo de factores: temperatura, tamaño, forma y polaridad de la molécula de permeante que difunde y las características del film, tales como cristalinidad, presencia de plastificante, etc. (de Leiris, 1986; Pascat, 1986; Schwartzberg, 1986; 1993). En el presente caso, es muy probable que cinéticamente el vapor de agua difunda lentamente, debido a que los nanocristales presentes dentro de la matriz pueden crear un camino difícil para la difusión de la molécula permeante. Este efecto es asociado al fenómeno del "camino tortuoso" que debe seguir el vapor que difunde, como fue planteado por Matayabas y Turner, 2000. La presencia de nanocristales crea un camino que afecta la difusión de las moléculas de agua a través del film a pesar de la baja concentración de

carga. Esta alta eficiencia se atribuye a su tamaño nanométrico.

A continuación, la tabla 3 muestra valores de permeabilidad informados en la bibliografía (a: Genadios y col., 1994; b: Krochta, 1992; c: Bertuzzi y col., 2002) para algunas películas comestibles y de polímeros sintéticos. A pesar de que los datos de diferentes autores son difíciles de comparar debido a las diferencias en los métodos y condiciones en que se llevaron a cabo las mediciones, los mismos ponen de manifiesto características generales de las películas de biopolímeros comparadas con las de polímeros sintéticos.

Observando los valores presentados en la tabla 3, puede verse que los valores de permeabilidad al vapor de agua obtenidos en el presente caso son del mismo orden de magnitud que los valores obtenidos para algunos films biodegradables, están por debajo de los valores de películas comestibles elaboradas a base de proteínas y son entre 2 y 3 órdenes de magnitud mayores que los de los polímeros sintéticos típicamente utilizados para empaque.

■ 4- POTENCIALES APLICACIONES EN EL ÁREA DE EMBALAJES.

A partir de la evaluación de las propiedades de los compuestos obtenidos con los dos tipos de almidones y en función de las necesidades y proyecciones como futuros materiales a utilizar dentro del área de los embalajes y envases, se decidió utilizar los films de almidón de mandioca con nanocristales de almidón de maíz ceroso para confeccionar a nivel laboratorio distintos tipos de posibles embalajes. La elección se basó en que el almidón de mandioca con nanocristales presentó el mejor compromiso entre refuerzo mecánico y permeabilidad entre otras características.

TABLA N° 2:

Permeabilidad al vapor de agua de la matriz y el compuesto.

Almidón	WVP ($\text{g m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$) $\times 10^{10}$ (0/58%) RH
Mandioca	4.5 ± 0.6
Mandioca con 2,5% en peso de nanocristales	2.7 ± 0.7

TABLA N° 3:

Permeabilidad al vapor de agua de películas comestibles y sintéticas.

<i>Film</i>	<i>WVP (g m⁻¹ s⁻¹ Pa⁻¹)</i>
Acetato de celulosa ^a	0,5-1,6 x 10 ⁻¹¹
Almidón de alta amilosa ^c	2,0-10 x 10 ⁻¹⁰
Gluten de trigo ^a	1,4-4,6 x 10 ⁻⁹
Aislado de proteína de soja ^a	1,6-4,4 x 10 ⁻⁹
Cloruro de Polivilideno ^a	0,7-2,4 x 10 ⁻¹³
Polietileno de alta densidad ^{a,b}	2,4 x 10 ⁻¹³
Etilen-vinil acetato ^a	7,3 -9,7 x 10 ⁻¹³
Poliéster ^a	2,4-4,9 x 10 ⁻¹³
Celofán ^b	1,2-1,5 x 10 ⁻¹²

Este film forma parte de la nueva tendencia de los envases “verdes” (biopackaging) que consiste en el uso de recursos renovables, materiales reciclables y/o nuevos materiales, que permitan la reducción de residuos sólidos generando así impactos positivos en el medio ambiente, a diferencia de los envases tradicionales que son elaborados a partir de recursos no renovables de difícil degradación en el medio ambiente.

El uso de polímeros naturales (almidón de mandioca) con la combinación de nanocristales de almidón ceroso, otorgan al film las propiedades de ser flexible, biodegradable, biocompatible, no tóxico, comestible, translúcido, inodoro e insípido, permitiendo una buena adhesión y alta resistencia al manipuleo.

Estas cualidades del film, lo hacen apto para la protección y conservación de ciertas sustancias alimenticias, productos farmacéuticos, cosméticos y de limpieza, entre otros.

Las características distintivas respecto del proceso de producción están referidas a la disponibilidad de las materias primas básicas (almidón de maíz, almidón de mandioca y glicerol utilizado como plastificante) y el bajo requerimiento de equipa-

miento necesario para su elaboración a nivel laboratorio.

En particular, en Argentina, la producción de mandioca resulta de muy fácil acceso, alcanzando las 200 mil toneladas en el año 2009 y destinándose a la industria el 14 % de la producción. (FAO, 2010)

A pesar de que actualmente en Europa y Estados Unidos, ya se ha comenzado a producir un importante número de materiales para embalajes específicos, a base de polisacáridos (celulosa y sus derivados, quitosano), los procesos de manufactura de los materiales se caracterizan por ser considerablemente costosos.

Esta nueva generación de compuestos, que hoy se está introduciendo en nichos de mercado muy definidos, permite pensar en la sustitución de los polímeros sintéticos en la medida en que se vayan adaptando sus características, prestaciones funcionales y procesos productivos a los requerimientos del packaging de productos de consumo masivo (alimentos, higiene personal, limpieza y productos farmacéuticos).

La fuerza o rigidez con que la legislación vigente exija el cumplimiento de pautas en materiales y tratamiento de los mismos con relación al cuidado del medioambiente, será

determinante para la evolución de la demanda y el desarrollo de esta nueva generación de compuestos.

En definitiva, se trata de una innovación incremental dentro de los nuevos envases biodegradables a base de almidón de mandioca y radical si se la compara con los envases tradicionales a base de polímeros sintéticos.

4.1. Ensayos Cualitativos.

4.1.1. Sellado de Films

A fin de valorar la posibilidad de conformar pequeñas bolsas o contenedores a partir de los films compuestos, se sellaron pares de películas en sus bordes exteriores utilizando para tal fin una selladora convencional de calor (utilizada habitualmente en el sellado de bolsas de polietileno, por ejemplo) con una temperatura alrededor de los 90°C durante 15 minutos, tal como se observa en la figura 14:

Tal como se observa en la figura, los films resisten la temperatura y presión utilizadas con la selladora de bolsas sin mostrar aparente degradación térmica, durante el ensayo.

Los films se cortaron en las dimensiones y geometrías deseadas, luego se humedecieron los bordes y fueron sometidos al sellado por calor. Es importante recalcar que los films se adhieren fácilmente entre sí en presencia de humedad cuando son recientemente despegados de sus moldes luego del proceso de “casting” y antes de sellarse por calor.

Para estos ensayos se utilizaron películas con espesores de entre 200 y 250 micrómetros de espesor.



Figura 14: Sellado de films a través de una selladora convencional de bolsas plásticas.



Figura 15: Confección de bolsas para envolver café en polvo.

4.1.2 Confección de bolsas para alimentos.

Las diferentes "bolsas" o "sobres" preparados a través del sellado por calor fueron utilizadas para envasar distintos productos alimenticios. Entre los productos seleccionados se encuentran cereales de distintas fuentes, café (Figura 15), granos, frutas con gran sensibilidad a la oxidación como kiwis, frutillas y bananas.

En el caso de los cereales pudo confirmarse cualitativamente que los mismos no dejaban de ser crocantes, ni perdían su sabor, cuando fueron evaluados durante un período de tiempo de 24 horas a temperatura ambiente dentro de las bolsas selladas con calor. Lo mismo sucedió con el café, a pesar de que los films no poseen permeabilidad nula, el contenido de café en polvo, no perdió ni su aroma característico ni su humedad natural. El procedi-

miento mencionado se encuentra en un video a disposición del lector en los anexos al final de este trabajo. (Spot Biodegradables: Video en la web: http://youtu.be/vcoyMPzF_IA)

4.1.3. Confección de bolsas para productos de perfumería y/o limpieza

En la figura 16 se muestran las bolsas o contenedores evaluados para envasar gel de baño de diversas calidades.

Las bolsas ensayadas permitieron mantener el contenido de gel sin pérdidas del producto y sin daño del film a causa del contenido de agua del producto.

Este prototipo fue ensayado con miras a una futura aplicación por ejemplo para los detergentes en polvo, de tal manera de dosificar la medida exacta del producto y evitar el contacto con las mucosas, además de generar menos residuos referidos al embalaje. Cabe destacar que este embalaje podría colocarse directamente sobre el dispositivo de carga de detergente, ya que el mismo se degrada en agua en cortos períodos de tiempo sin generar desechos no-degradables.

4.1.4. Confección de bolsas para otros productos.

Se ensayaron otros productos distintos, como el caso de la figura 17 donde se prepararon bolsas para contener fertilizantes. Se ha pensado que con esta presentación, el producto podría ser utilizado para la dosificación de fertilizantes sin contaminar el medio ambiente ya que el film se degrada en condiciones de alta humedad. Incluso es un film que perfectamente puede actuar como film protector de plantas (por ejemplo en invernaderos) a las cuales se les quiere dosificar determi-

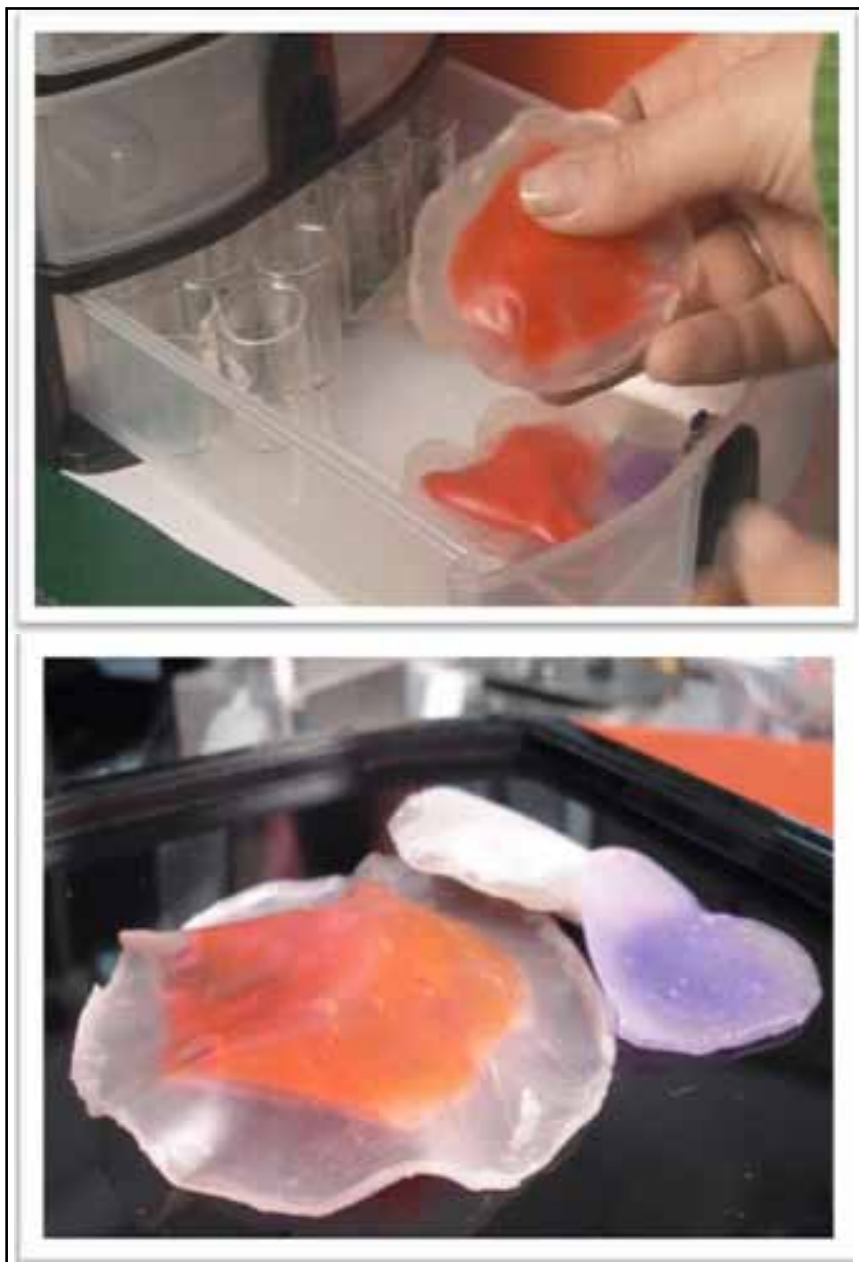


Figura 16: Sobres confeccionados conteniendo gel de baño.

nados componentes, que se deseen aplicar de forma paulatina y en pocas cantidades.

4.1.5. Envasado al vacío

Otro de los ensayos llevado a cabo, consistió en aplicar vacío (eliminación del aire) a la bolsa conformada y evaluar la estabilidad del film y el comportamiento del producto envuelto (en este caso se utilizó un trozo de banana cortado). Figura 18



Figura 17: Bolsitas confeccionadas para guardar fertilizantes.

Tal como se observa en la figura, el film resistió la aplicación de vacío con bomba mecánica (10-2 bares) sin mostrar deterioro alguno, por otra parte el proceso de oxidación de la fruta fue significativamente más rápido cuando la misma no fue envasada con el film biodegradable. La fruta recubierta fue mantenida a temperatura ambiente en condiciones óptimas durante más de 8 horas de evaluación.

Este ensayo crea la posibilidad de utilizar este material para envasado de alimentos en atmósfera modificada o controlada, comúnmente conocido como MAP, prolongando la vida útil del alimento, manteniendo la calidad original y minimizando



Figura 18: Evaluación del envasado al vacío con films de almidón de mandioca y nanocristales cerosos. Ambos cortes de fruta realizados al mismo tiempo.

do el uso de aditivos y conservantes. Puede utilizarse para el mantenimiento de frutas y verduras, así como de quesos u otros productos alimenticios.

4.1.6. Aditivos.

La preparación de estos films siguiendo el protocolo que se indicó en el punto 3 permite adicionar a la receta de fabricación distintos colorantes naturales así como otros agentes tales como antimicrobianos, por ejemplo sorbato de potasio, polvo de ajo, etc., con un procedimiento similar al presentado por Famá y col., (2010).

La figura 19 muestra los films preparados con un colorante natural.

4.1.7. Otros ensayos cualitativos

Se realizaron diversas pruebas de orden cualitativo con los films compuestos.

- Ensayo de tracción manual (Figura 20)
- Muestra de Transparencia (Figura 21)
- Ensayos de resistencia al pH: A fin de evaluar la resistencia de estos films a pH similares al pH estomacal y con miras a la utilización de estos films en el área por ejemplo farmacéutica, se prepararon soluciones con pH= 3 y se sumergieron por 48 horas los films. La primera hora el film se disgregó en pequeñas partes y al cabo de 8 horas el film estaba completamente dividido y presentaba signos de disolución, blanqueamiento, y reblandecimiento de su consistencia original.
- Ensayos de resistencia de carga:



Figura 19: Films de almidón de mandioca con nanocrisales con colorante natural.



Figura 20: Tracción manual de un film de almidón de mandioca y nanocrisales de almidón de maíz ceroso.



Figura 21: Ejemplo que muestra la transparencia de los films.

Los films fueron utilizados para sostener una carga de 5 kilos, durante un período de más de 15 minutos sin mostrar signos de roturas, tal como se observa en la figura 22.

- Ensayo de Rotulamiento: Las superficies de las películas se pueden rotular con marcadores de tinta indeleble.
- Ensayo de Congelamiento: Los films fueron sometidos a congelamiento a -18°C durante tres meses. A pesar de las bajas temperaturas, los films no presentaron daños estructurales detectables a simple vista.

4.2. VENTAJA COMPARATIVA DEL PRODUCTO DESARROLLADO

Una de las ventajas que caracteriza el film de mandioca es que su refuerzo (los nanocristales de almidón de maíz ceroso) se encuentran bien dispersos dentro de la matriz y esto queda demostrado gracias a las pruebas de permeabilidad realizadas y a las micrografías de superficie de fractura. En comparación con la matriz se puede afirmar que posee:

- Mayores módulos elásticos
- Mayor tensión a ruptura
- Resiste elongación a ruptura del orden del 90%
- Disminuye la permeabilidad al vapor de agua y por lo que se observa evaluando el par-



Figura 22: . Ensayo de resistencia a la carga en films de almidón.

deamiento de frutas y verduras disminuye la permeación al oxígeno, (lo que deberá evaluarse a futuro según la norma ASTM D3985)

La permeabilidad puede controlarse variando el contenido de nanopartículas (se realizaron ensayos con 5% de nanocristales de almidón ceroso, aún no reportados).

La tabla 4 resume a modo comparativo las tres principales características del compuesto con respecto a su matriz:

■ CONCLUSIONES

Todos los resultados llevan a la conclusión que nos referimos a un material con buenas propiedades de

barrera y permeación combinado con buenas propiedades mecánicas, que son resultado del agregado de nanopartículas. Cabe destacar que este material tiene altas probabilidades de ser procesado utilizando las maquinarias típicas ya existentes para materiales plásticos sintéticos, como lo son las de extrusión, inyección, soplado, etc. Una de las razones es que actualmente se han ensayado films de almidón sin refuerzos en este tipo de tecnología. La segunda razón es que, los nanocristales no pierden su patrón cristalino cuando son sometidos a las temperaturas comúnmente utilizadas para el procesamiento de films. Esta última característica permitiría obtener los nanocompuestos sin necesidad de desarrollar nueva tecnología que encarecería su aplicación.

TABLA N° 4: Principales características del compuesto almidón de mandioca.		
	COMPUESTO	MATRIZ
Modulo Elástico	Mayor a 140 MPa ^a	38 MPa
Tensión a ruptura	Mayor a 3,5 MPa ^a	1 MPa
Permeabilidad al vapor de agua	Menor que 2,7 x 10 ⁻¹⁰ g.m ⁻¹ .s ⁻¹ .Pa ⁻¹	4,5 x 10 ⁻¹⁰ g.m ¹ .s ⁻¹ .Pa ⁻¹
<i>a: Famá y col., Patente P100100044. (2010)</i>		

Existe una tercera razón: se presentó un breve análisis económico de factibilidad para la fabricación de los films de mandioca en los Premios Iberoamericanos de la Innovación y el Emprendimiento 2010 preparada por nuestro equipo de investigación (Goyanes y col., 2010). Este trabajo fue seleccionado entre los ganadores del concurso. Este análisis de tipo económico evaluado por expertos, podría considerarse como un primer indicio de la viabilidad económica del producto.

Por todo lo anterior, este material presenta una gran potencialidad para llevarse a escala industrial y ser utilizado en un área tan solicitada hoy en día como lo es el sector de embalajes y envases, que busca emplear productos amigables con el medio ambiente, biodegradables y cuyos desechos no presenten efectos nocivos para la salud humana, ni para la naturaleza.

■ REFERENCIAS

- Angellier H, Molina-Boisseau S, Lebun L, Dufresne, A. (2005) Processing and structural properties of waxy maize starch nanocrystals reinforced natural rubber. *Macromolecules*. 38: 3783-92.
- Angellier H, Molina-Boisseau S, Dole P, Dufresne A. (2006) Thermoplastic starch-waxy maize starch nanocrystals nanocomposites. *Biomacromolecules*. 7: 531-9.
- Angles MN, Dufresne A. (2000) Plasticized starch/tunicin whiskers nanocomposites. 1. Structural Analysis. *Macromolecules*. 33: 8344-53.
- Angles MN, Dufresne, A. (2001) Plasticized starch/tunicin whiskers nanocomposites. 2. Mechanical behavior. *Macromolecules*. 34: 2921-31.
- ASTM E96-00. Standard test methods for water vapor transmission of materials. Annual book of ASTM. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.
- Banks W, Greenwood CT, Muir DD. (1973) The characterization of starch and its components. 5. Observations on the quantitative acid hydrolysis of starch and glycogen. *Die Stärke*. 25: 405-8.
- Bemiller JN. (1965) Acid hydrolysis and other lytic reactions of starch. In: *Starch: Chemistry and Technology*. Whistler RL Ed. New York, Academic Press, pp. 495-516.
- Bertuzzi MA, Armada M, Gottifredi JC, Aparicio AR, Jimenez P. (2002) Estudio de la permeabilidad al vapor de agua de films comestibles para recubrir alimentos. Congreso regional de ciencia y tecnología NOA 2002. Universidad Nacional de Catamarca.
- Capron I, Robert P, Colonna P, Brogly M, Planchot V. (2007) Starch in rubbery and glassy states by FTIR spectroscopy. *Carbohydrate Polymers*. 68: 249-59.
- Chang PR, Jian R, Zheng P, Yu J, Ma X. (2010). Preparation and properties of glycerol plasticized-starch (GPS)/cellulose nanoparticle (CN) composites. *Carbohydrate Polymers*. 79: 301-5.
- Chakraborty S, Sahoo B, Teraoka I, Miller LM, Gross RA. (2005) Enzyme catalyzed regioselective modification of starch nanoparticles. *Macromolecules*. 38: 61-8.
- Chen G, Wei M, Chen J, Huang J, Dufresne A, Chang PR. (2008) Simultaneous reinforcing and toughening: new nanocomposites of waterborne polyurethane filled with low loading level of starch nanocrystals. *Polymer*. 49: 1860-70.
- De Leiris JP. (1996) Water Activity and permeability. In: *Food packaging and preservation. Theory and Practice*. M Mathlouthi. Ed. Elsevier applied Science Pub. London. pp. 213-34.
- Dufresne A, Cavallé JY. (1998) Clustering and percolation effect in microcrystalline starch reinforced thermoplastic. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*. 36: 2211-24.
- Dufresne A, Dupeyre D, Vignon MR. (2000). Cellulose microfibrils from potato cells: Processing and characterization of starch/cellulose microfibrils composites. *Journal of Applied Polymer Science*. 76: 2080-92.
- Dufresne A, Vignon MR. (1998). Improvement of starch films performances using cellulose microfibrils. *Macromolecules*. 31: 2693-96.
- Famá LA, Rojas M, Goyanes S, Gerschenson LN. (2005) Mechanical properties of tapioca-starch edible films containing sorbates, *LWT - Food Science and Technology* 38: 631-9.
- Famá LA, Bittante AMBQ, Sobral, PJA, Goyanes S, Gerschenson, LN. (2010) Garlic powder and wheat bran as fillers: Their effect on the physicochemical properties of edible biocomposites. *Materials Science and Engineering*. 30: 853-9.

- Famá LA, Ribba L, Goyanes S, Aranguren M, García N. (2011) Patente Solicitud P100100044. BOLETÍN N° 632 Boletín de Patentes Instituto Nacional de la Propiedad Industrial AÑO X 02 de marzo de 2011 ISSN - 0325 – 6545.
- FAO. Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura. <http://www.fao.org/ag/esp/revista/0610sp1.htm> 2006.
- Feuilloley P. (2004) Ce plastique faussement biodegradable. *La Recherche*. 374 : 52-5.
- García de Rodriguez NL, Thielemans W, Dufresne A. (2006) Sisal cellulose whiskeys reinforced polyvinyl acetate nanocomposites. *Cellulose*. 13 : 261-70.
- García NL, Ribba L, Dufresne A, Aranguren M, Goyanes S. (2011) Effect of glycerol on the morphology of nanocomposites made from thermoplastic starch and starch nanocrystals. *Carbohydrate Polymers*. 84: 203-10.
- García NL, Ribba L, Lamanna M, D'Accorso N, Dufresne A, Aranguren M, Goyanes S. Biodegradable materials from grafting of modified PLA onto starch nanocrystals. *Polymer Degradation and Stability*. 97: 2012-26.
- Genadios A, Weller CL, Gooding CH. (1994) Measurement errors in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. *Journal of Food Engineering*. 21: 395-409.
- Goyanes S, Aranguren M, Famá L, Ribba L, García N. (2010) Premios Iberoamericanos a la Innovación y al emprendimiento. <http://segib.org/actividades/2011/01/05/premios-iberoamericanos-a-la-innovacion-y-el-emprendimiento-2011/>
- Kim JY, Park DJ, Lim ST. (2008) Fragmentation of waxy rice starch granules by enzymatic hydrolysis. *Cereal Chem*. 85: 182–7.
- Krochta JM. (1992) Control of mass transfer in food with edible-coatings and Films. In: *Advances in Food Engineering*. Singh RP, Wira-kartakusumah MA editors. CRC Press, Florida. pp 517-37.
- Kumar AP, Singh RP. (2008) Biocomposites of cellulose reinforced starch: Improvement of properties by photo-induced crosslinking. *Bioresource Technology*. 99: 8803–9.
- Martins IMG, Magina SP, Oliveira L, Freire CSR, Silvestre, AJD, Neto, CP, Gandini A. (2008) New biocomposites based on thermoplastic starch and bacterial cellulose. *Composites Science and Technology*. 69: 2163-8.
- Matayabas JC, Turner SR. (2000) Nanocomposite technology for enhancing the gas barrier of polyethylene terephthalate. In: *Polymer-clay nanocomposites*. T. J. Pinnavaia, G.W. Beall, Eds., John Wiley & Sons, Chichester, Chapter 11, pp. 207–25.
- Mathew AP, Dufresne A. (2002) Morphological investigation of nanocomposites from sorbitol plasticized starch and tunicin whiskers. *Biomacromolecules*. 3: 609–17.
- Mathew AP, Thielemans W, Dufresne A. (2008) A mechanical properties of nanocomposites from sorbitol plasticized starch and tunicin whiskers. *Journal of Applied Polymer Science*. 109: 4065–74.
- Moon SI, Jin F, Lee C, Tsutsumi S, Hyon SH. (2005) Novel Carbon Nanotube/Poly(L-lactic acid) Nanocomposites; Their Modulus, Thermal Stability, and Electrical Conductivity. *Macromol. Symp.* 224: 287-95.
- Morin A, Dufresne A. (2002) Nanocomposites of chitin whiskers from *Riftia* tubes and poly (ϵ -caprolactone). *Macromolecules*. 35: 2190-9.
- Namazi H, Dadkhah A. (2008) Surface modification of starch nanocrystals through ring-opening polymerization of ϵ -caprolactone and investigation of their microstructures. *J. Appl. Polym. Sci.* 110: 2405–12.
- Oostergetel GT, van Bruggen, EJJ. (1993) The crystalline domains in potato starch granules are arranged in a helical fashion. *Carbohydrate Polymer*. 21: 7–12.
- Pascat B. (1986) Study of some factors affecting permeability. In: *Food packaging and preservation. Theory and Practice*. M Mathlouthi. Ed. Elsevier applied Science Pub. London. pp 7-24.
- Putaux JL, Molina-Boisseau S, Momauro T, Dufresne A. (2003) Optimization of the preparation of aqueous suspensions of waxy maize starch nanocrystals using a response surface methodology. *Biomacromolecules*. 4: 1198–202.
- Rutot-Houzé D, Degée P, Gouttebaron R, Hecq M, Narayan R, Dubois P. (2004) In-depth characterization of granular starch-graft-polyester compositions as obtained by in situ polymerization of lactones from the starch surface. *Polymer International* 53: 656–63.

- Samir MASA, Alloin F, Dufresne A. (2005) Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their application in nanocomposite field. *Biomacromolecules*. 6: 612–26.
- Schwartzberg HG. (1986) Modeling of gas and vapor transport through hydrophilic films. In: *Food packaging and preservation. Theory and Practice*. M Mathlouthi. Ed. Elsevier applied Science Pub. London. pp 115–36.
- Spot Biodegradables: Video en la web: <http://youtu.be/vcoyMPzFLA>
- Teixeira EM, Pasquini D, Curvelo AAS, Corradini E, Belgacem MN, Dufresne A. (2009) Cassava bagasse whiskers reinforced plasticized cassava starch. *Carbohydrate Polymers*. 78: 422–31.
- Thielemans W, Belgacem MN, Dufresne A. (2006) Thermoplastic starch-waxy maize starch nanocrystals nanocomposites. *Langmuir*. 22: 4804–10.
- Yu J, Ai F, Dufresne A, Gao S, Huang J, Chang PR. (2008) Structure and mechanical properties of poly (lactic acid) filled with (starch nanocrystal)-graft-poly (ϵ -caprolactone). *Macromolecular Materials and Engineering*. 293: 763–70.
- Viguié J, Molina-Boisseau S, Dufresne A. (2007) Processing and characterization of waxy maize starch films plasticized by sorbitol and reinforced with starch nanocrystals. *Macromolecular Bioscience*. 7: 1206–16.
- Waigh TA, Gidley MJ, Komanshek BU, Donald AM. (2000) The phase transformations in starch during gelatinisation: a liquid crystalline approach. *Carbohydrate Research*. 328: 165–76.
- Wilhelm HM, Sierakowski MR, Souza GP, Wypych F. (2003) Starch films reinforced with mineral clay. *Carbohydrate Polymers*. 52: 101–10.
- Wolfrom ML, Thompson A, Timberlake CE. (1963) Comparative hydrolysis rates of the reducing disaccharides of D-glucopyranose. *Cereal Chemistry*. 40: 82–6.
- Zillia D, Chilotte C, Escobar MM, Bekeris V, Rubiolo GR, Cukierman AL, Goyanes S. (2005) Magnetic properties of multi-walled carbon nanotube-epoxy composites. *Polymer* 46: 6090–95.
- **GLOSARIO**
- Almidón WAXY-** Almidón cuyo contenido de amilopectina es de cerca del 95% o más. Se encuentra en ciertos cereales como el maíz y el arroz.
- Amilosa-** Polímero del almidón, esencialmente lineal compuesto de moléculas D-glucanopiranosas unida en enlaces α 1,4. Un pequeño número de ramas unidas en enlaces α 1,6 puede encontrarse.
- Amilopectina-** Polímero del almidón, más extenso y ramificado que la amilosa que contiene ambos enlaces: α 1,4 y α 1,6. El enlace α 1,6 representa el punto de ramificación.
- Birrefringencia-** Fenómeno que ocurre cuando la luz polarizada interactúa con una estructura ordenada, como un cristal. Se crea un patrón de difracción cruzado generalmente conocido como “Cruz de Malta” por la rotación de la luz polarizada por una región cristalina, como la encontrada en un gránulo de almidón.
- D-Glucanopiranos-** El anillo que conforma el monosacárido D-glucosa.
- Gelatinización-** Es el colapso (disrupción) del orden molecular dentro del gránulo de almidón, manifestado por cambios irreversibles en propiedades como el hinchamiento granular, la fusión cristalina, la pérdida de birrefringencia y la solubilización del almidón.
- Retrogradación-** Proceso durante el cual las cadenas de almidón comienzan a reasociarse en una estructura ordenada. Dos o más cadenas inicialmente forman un punto de coyuntura, a partir del cual se desarrollan regiones ordenadas y sobre condiciones favorables, un orden cristalino.
- Biodegradable:** Para calificar un material de embalaje biodegradable, la norma europea EN 13432:2000 prevé la realización de las pruebas:
- Condiciones: (i) Test realizado dentro de algún medio (agua dulce, agua de mar, el suelo). (ii) Periodo del test de 6 meses máximo
 - Resultados físicos y efectos sobre el medio ambiente (i) La masa inicial del material debe ser degradado a 90% (ii) los residuos deben representar como máximo el 10% de la masa de partida del material de prueba. (iii) el resultado de la biodegradación no debe tener efectos ecotoxicológicos sobre el medio ambiente.
- Compostable:** Para calificar un material de embalaje como compostable, EN 13432:2000 prevé la realización de las pruebas:

- Condiciones: (i) Pruebas deben realizarse en un compuesto industrial. (ii) período de prueba debe ser de 12 semanas máximo.
- Resultados y efectos físicos en el compost: (i) los residuos deben representar como máximo el 10% de la masa a partir del material de inicio (ii) el tamaño de los residuos debe ser inferior a 2 mm (desintegración), (iii) ausencia de efectos negativos sobre el proceso de compostaje y (iii) el resultado del compostaje no debe presentar efectos ecotoxicológicos de compost.

Las pruebas que se realizan de compostaje deben compararse con un abono de control.

Bio-fragmentable: los materiales de embalaje conocido como bio-fragmentables, fragmentables u oxo-fragmentables son mezclas de polímeros sintéticos (tipo po-

lietileno) con aditivos vegetales o minerales.

El final de la vida de estos materiales se traduce por una biodegradación de los aditivos y la degradación física (visuales), sin desintegraciones moleculares.

Estos materiales no cumplen con los requisitos establecidos por la norma. De hecho pruebas de desintegración y de la ecotoxicidad no son compatibles. Estos materiales no son biodegradables ni compostables. El término bio-fragmentable, no obstante, de uso frecuente y, a veces incorrecto para referirse a los plásticos con aditivos.

Oxo-degradables, estos materiales a veces llamados oxo-biodegradables para darles cierto carácter de biodegradabilidad son materiales termoplásticos aditivados. Estas poliolefinas que contienen

un agente oxidante que es, según algunos expertos, ditiocarbamato o estearato de hierro, níquel o manganeso tienen como función promover la degradación. Tal como muestra un estudio reciente (Feuilloley P. y col., 2005), son débilmente biodegradables, más bien 'oxo-degradables' con la reducción de peso molecular con la fragmentación del material. No se sabe los efectos a largo plazo de la acumulación de oligo o poliolefinas en el suelo (incluso si el material se vuelve invisible a simple vista). Por otra parte, los primeros aditivos utilizados contenían metales pesados. Los ditiocarbamatos son tóxicos, incluso si no contienen metales pesados. Estas sustancias actualmente no cumplen las normas o las etiquetas de la biodegradabilidad de materiales. En este sentido, nos encontramos con un buen artículo en la revista "La recherche", escrito por P.Feuilloley, 2004.

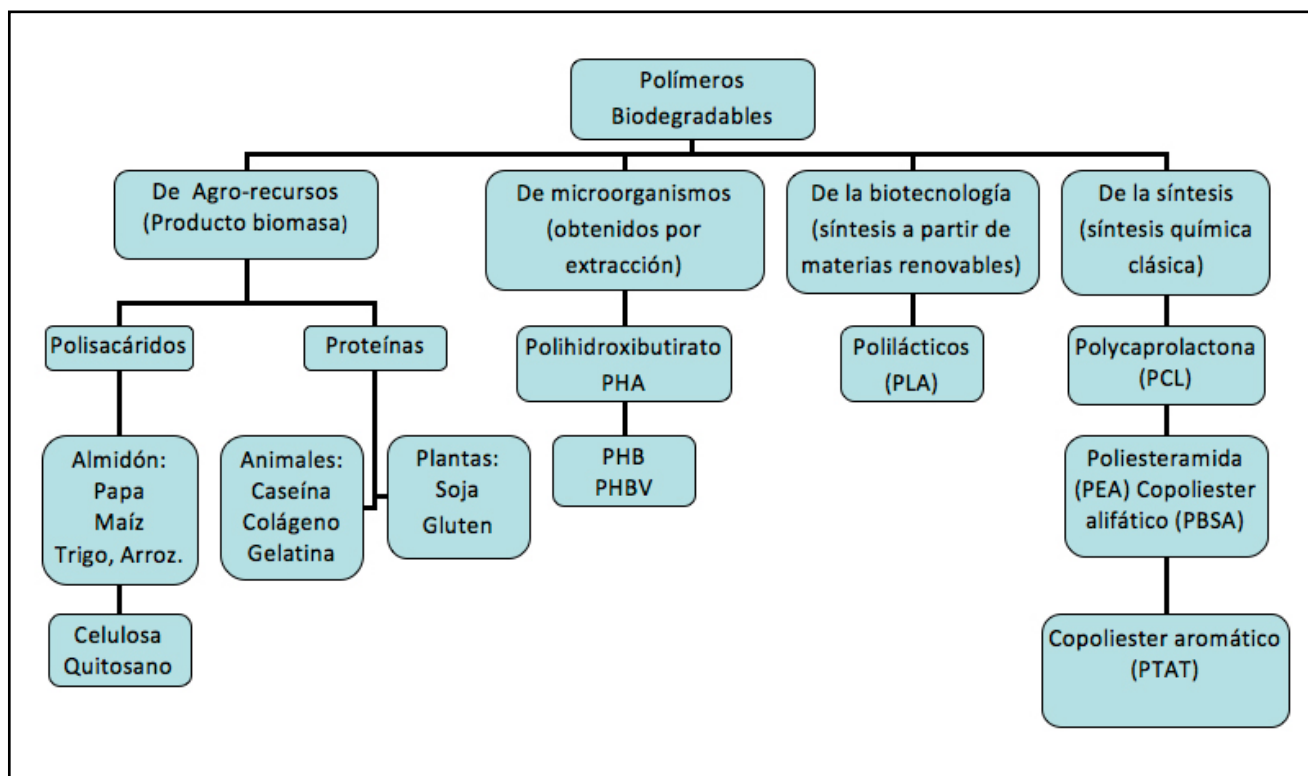


Figura 23: Clasificación de los biopolímeros.

Clasificación de los biopolímeros:

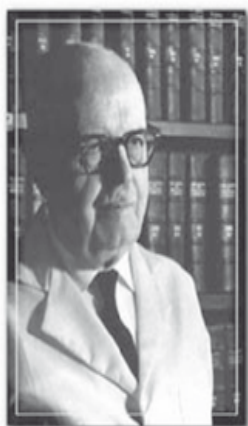
Los polímeros biodegradables se pueden clasificar en dos grandes grupos (Figura 23). Un primer grupo incluye polímeros derivados directamente de la biomasa (agro-polímeros) y sus derivados (GFP, 2000), por ejemplo, los polisacáridos y proteínas. Un segundo grupo se compone principalmente de poliésteres biodegradables (Rutot y Dubois, 2004) y puede subdividirse en tres subgrupos: (i) los polímeros

obtenidos principalmente por la fermentación bacteriana como polihidroxialcanoatos (PHA) con, por ejemplo polihidroxibutirato (PHB) o poli (hidroxibutirato-co-hydroxyvalerato) (PHBV), (ii) polímeros en los que sólo los monómeros son producidos a partir de biomasa, como los polímeros derivados del ácido láctico (PLA) y (iii) los polímeros cuyos monómeros son derivados de los recursos fósiles. Estos policaprolactona (PCL), poliéster

(PEA) y diferentes copoliésteres aromáticos o alifáticos. Hay, por ejemplo, poli (butileno-co-adipato de etileno) (por ejemplo, PBAT, Ecoflex) y poli (adipato de butileno succinato-co) (por ejemplo, PBSA, Bionolle).

■ NOTAS

1 Agradecemos la ayuda de Sergio Moreno del Centro Atómico de Bariloche por su colaboración en la toma de micrografías.



Dr. Bernardo A. Houssay

Instituto de Biología y Medicina Experimental

IBYME

El Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME), asociado al CONICET, fue fundado por el Dr. Bernardo A. Houssay en 1944. Su misión es impulsar el conocimiento en diversas áreas como: oncología, endocrinología, reproducción, neurociencias, comportamiento, inmunopatología y biotecnología. Todo ello está orientado a ampliar el conocimiento de los principios fundamentales que rigen el funcionamiento de los seres vivos y desarrollar aplicaciones tecnológicas en el área de la biomedicina.