

MÉTODOS VERDES PARA LA OBTENCIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ALMIDÓN

Rodríguez Pineda Lina María, Prieto Suarez Gloria Astrid

Grupo de Investigación de Desarrollo y Aplicaciones de Nuevos Materiales (DANUM), Escuela de Posgrados de la Facultad de Ciencias. Maestría en Química, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Avenida Central del Norte 39-115, 150003^o, Tunja, Boyacá, Colombia.

linis1491@hotmail.com

PALABRAS CLAVE

Almidón

Nanopartículas

Biopolímero

Métodos verdes

RESUMEN: El almidón es uno de los biopolímeros más abundantes en la naturaleza y por lo general se aísla de las plantas en forma de gránulos micro escala. Los estudios recientes informaron de que partículas de almidón nano escala se podrían preparar fácilmente a partir de los gránulos de almidón, que tienen propiedades físicas únicas. Debido a que el almidón es amigable con el medio ambiente, las nanopartículas de almidón se sugieren como uno de los biomateriales prometedores para la utilización en alimentos, cosméticos, medicamentos, así como en diversos compuestos. Una visión general de los métodos verdes para la obtención de las nanopartículas de almidón se presenta en esta revisión.

KEYWORDS

Starch

Nanoparticles

Biopolymer

Green methods

GREEN METHODS FOR THE OBTAINMENT OF NANO STARCH PARTICLES

ABSTRACT: Starch is one of the most abundant biopolymer in nature and it is usually isolated from plants as granules micro scale. Recent studies reported that starch particles nanoscale could be easily prepared from the starch granules, which have unique physical properties. Because starch is friendly to the environment, the starch nanoparticles are suggested as one of the promising biomaterials for use in foods, cosmetics, medicines, and in various compounds. An overview of the methods for obtaining green nano starch particles is shown in this review.

INTRODUCCION

El almidón es un polisacárido que consiste en unidades de D-glucosa, referido como glucopiranosas, y tiene principalmente dos biomacromoléculas: amilosa y amilopectina (**Figura 1**). La amilosa es un carbohidrato con baja densidad ramificado basado principalmente en enlaces α (1-4) con un peso molecular de 10^5 a 10^6 y puede tener un grado de polimerización (GP) tan alto como 600. Por otro lado, la amilopectina es un polímero altamente ramificado con un alto peso molecular de 10^7 a 10^9 . Este es uno de los más grandes polímeros naturales en la tierra. La amilopectina se basa en enlaces α (1-4) (alrededor de 95%) y α (1-6) (alrededor de 5%), con que constituyen puntos de ramificación localizadas cada 22-70 unidades de glucosa y con cadenas pendientes de GP ≈ 15 , que son los principales responsables de cristalinidad de los materiales. Esta estructura específica tiene un profundo efecto sobre las propiedades físicas y biológicas. También, en los gránulos de almidón se encuentran pequeñas cantidades de proteínas, lípidos y fósforo. Dependiendo de la fuente, el contenido de amilosa en el almidón puede variar de entre el 1% a 83%. El contenido de amilosa tiene un gran impacto en las propiedades térmicas, reológicas y de procesamiento [1,2].

El almidón es un biopolímero que se halla entre los más abundantes y económicos, se encuentra en los tejidos de las plantas tales como hojas, tallos, semillas, raíces y tubérculos, constituyente de diversos productos naturales tales como trigo, yuca, maíz y papa [3-4]. También se encuentra en ciertas algas y bacterias. Tiene una importancia tanto a nivel nutricional como en aplicaciones tecnológicas. Su uso no alimentario inició desde el antiguo Egipto donde lo usaban como aditivo en la fabricación de papiros y textiles [5-6]. El gránulo es bien conocido por poseer estructuras multinivel de escala macromolecular, es decir, los

gránulos de almidón (<1 a $100\mu\text{m}$), alternando con capas amorfas y semi-cristalinas (100-400nm), laminillas cristalinas y amorfas (9-10 nm), y las cadenas macromoleculares ($\sim\text{nm}$). Presenta una arquitectura tridimensional concéntrica con una cristalinidad total que varía de 15% a 45% dependiendo de la fuente botánica[1].

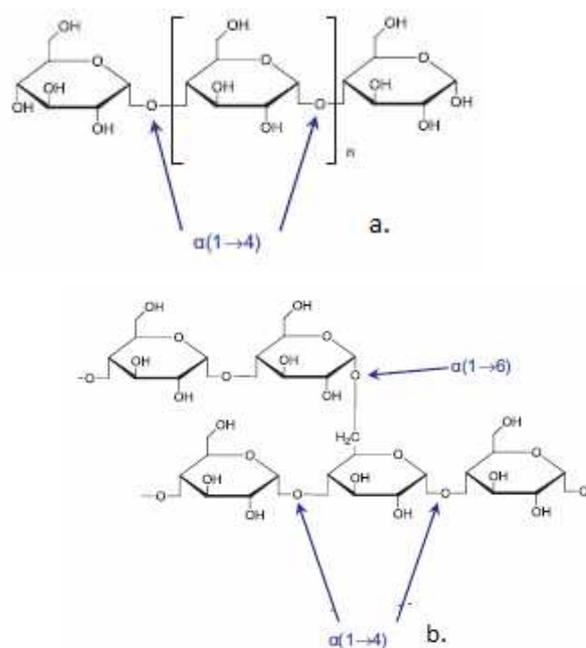


Figura 1. Estructura química amilosa (a.) y amilopectina (b.)

El uso de almidones nativos, en aplicaciones industriales está limitado por la baja resistencia a la tensión de cizallamiento, a la fácil

descomposición térmica, alta retrogradación y sinéresis. Estas deficiencias se pueden superar mediante la modificación del almidón por métodos químicos, físicos o enzimáticos, aunque esto puede incrementar su costo hasta cinco a seis veces [7].

Métodos de obtención de nanopartículas

Como una contribución al desarrollo de un enfoque sencillo y respetuoso con el medio ambiente para la preparación de NP, se presentan a continuación algunos tratamientos físicos para su obtención.

Homogeneización a alta presión

Liu *et al.*[8] desarrollaron una técnica simple, versátil y amigable con el medio ambiente para el aislamiento de nano partículas de almidón (NPA) utilizando homogeneización a alta presión. La cual se lleva a cabo en un microfluidizador donde se manipula un flujo continuo de líquido a través de canales microfabricados. El accionamiento del flujo de líquido se lleva a cabo por fuentes externas de presión, las bombas mecánicas externas, micro bombas mecánicas integradas, o mecanismos electro cinéticos[9].

En un sistema que tiene una bomba intensificadora hidráulica electrónica, la corriente de producto se acelera a altas velocidades, creando un alto esfuerzo de cizallamiento dentro de la corriente de producto. Cuando la suspensión de almidón al 5% (almidón de maíz de alta amilosa, Amilogel TM 03001) se pasó a través de un microfluidizador especialmente diseñado 20 veces bajo una presión de 207 MPa, el tamaño de partícula de los gránulos de almidón reducido 3-6µm de 10 a 20 nm. Esta reducción de tamaño se atribuyó a un resultado de la rotura de los enlaces de hidrógeno dentro de las partículas grandes por las fuerzas de cizallamiento mecánicas. Sin embargo, al mismo tiempo, se observó también que produjo la destrucción parcial o completa de la estructura cristalina. Además, debido a que sólo una baja concentración de suspensión de almidón se pudo procesar para la homogeneización, el rendimiento de recuperación para cada proceso es bajo[9].

Ultrasonificación

Ultrasonido define las ondas de sonido a una frecuencia que está por encima del rango de audición humana normal (> 15 a 20 kHz). Se genera, ya sea con transductores piezoeléctricos o magnetostrictivos que crean vibraciones de alta energía. Estas vibraciones se amplifican y se transfieren a un sonotrodo o sonda, que está en contacto directo con el fluido. El efecto de los ultrasonidos sobre el almidón depende de muchos parámetros tales como la potencia y la frecuencia de sonicación, la temperatura y el tiempo del tratamiento, y las propiedades de dispersión de almidón (concentración de sólidos y origen botánico) [10]. Otro factor importante es la formación de burbujas de gases en el medio de suspensión, que bombardean los gránulos de almidón antes de que colapsen [11]. Este proceso se denomina cavitación. El rápido colapso de las burbujas también puede causar la aparición de la fuerza de cizallamiento que pueden romper las cadenas del polímero.

Recientemente, Sihem Bel Haaj *et al.* [12] introdujeron la ultrasonificación de suspensión de almidón como un proceso para la preparación de nano partículas de almidón. en el cual una suspensión acuosa de almidón de maíz (1,5% de sólidos) se trató por ultrasonificación en un baño de agua (8°C) durante 75 min. Con base en las observaciones de microscopía electrónica de barrido (SEM), los autores afirmaron que la colisión mecánica junto con una alta fuerza de cizalladura provocó una erosión progresiva de las partículas de almidón a partir de la superficie, los cuales

LM.Rodriguez Pineda y G.A.Prieto Suarez / Inv. Jov. 4 (1) (2017) 29-32

fueron sometidos a una mayor fragmentación hasta que se alcanzó un tamaño límite (entre 30 y 100 nm). Además, a bajas temperatura durante la ultrasonificación, las moléculas de agua no podían difundirse dentro de las cadenas de amilopectina, y no es probable que se produjera plastificación de la fase de amilopectina. Fue la primera aproximación para producir partículas de almidón de tamaño nano utilizando el método físico de alta intensidad de ultrasonidos. En comparación con la hidrólisis ácida, este proceso ofrece la ventaja de ser rápido y fácil de implementar sin la necesidad de realizar el tratamiento repetido de lavado, porque no se utilizan reactivos químicos. Debido a que no se necesita ninguna purificación adicional después de las NPA debido a que son producidas en solución, el rendimiento de recuperación puede ser del 100%. Sin embargo, con base en el análisis de difracción de rayos X, la aplicación de ultrasonido perturba seriamente la estructura cristalina en el almidón y conduce a nano partículas que presentan una baja cristalinidad o una estructura amorfa [8-12].

Extrusión reactiva

La formación de nano partículas a través de extrusión reactiva también se ha investigado [13]. La extrusión reactiva se ha definido como una reacción concurrente en el proceso de extrusión de polímeros [8]. Básicamente, el almidón y el plastificante premezclado se cargaron en una extrusora de doble tornillo, y agentes de reticulación reversibles, como el glioxal, fueron agregados. Las NPA pueden ser producidas a través de reticulación durante la extrusión reactiva, y se considera por ser "regenerador" de nano partículas de almidón [14].

Durante la extrusión, el almidón se somete a presión relativamente alta (103 psi), al calor y fuerzas de cizallamiento mecánicas. Los enlaces de hidrógeno entre las cadenas de almidón que proporcionan integridad de los gránulos de almidón se pueden romper bajo alta fuerza de cizallamiento y temperatura. Como resultado, se pueden producir cambios significativos estructurales, incluyendo la gelatinización, fusión, y la fragmentación [15]. Giezen *et al.* [8] confirmaron que las partículas de almidón con un tamaño de menos de 400 nm pueden ser producidos mediante la reacción de extrusión. Debido al contenido de agua limitado, la gelatinización completa no se produce durante la extrusión.

Sin embargo, a alta temperatura de extrusión, los gránulos de almidón se ablandan y funden parcialmente. Los gránulos de almidón ablandados y fundidos se separan físicamente por la fuerza de cizallamiento para permitir la transferencia de agua al interior de los gránulos de almidón. De manera similar a otros tratamientos físicos, un nivel de extrusión de alta energía causó un daño mecánico de los cristales de almidón. Las NPA preparados por extrusión presentaron baja viscosidad, pero se mantuvieron estables durante más de 6 meses [8].

Irradiación gamma

La irradiación gamma ha sido sugerida como una técnica de modificación rápida y conveniente que fragmenta las moléculas de gran tamaño mediante la ruptura de los enlaces glucosídicos [17].

Recientemente, Lamanna *et al.* [16] reportaron la preparación de NPA mediante irradiación gamma y la comparación con las NP obtenidas a partir de la hidrólisis ácida.

La irradiación gamma puede generar radicales libres que son capaces de hidrolizar los enlaces químicos, produciendo fragmentos más pequeños de almidón llamados dextrina. Según el estudio realizado por Lamanna *et*

al. [17], NPA que tienen un tamaño de aproximadamente 20 y 30 nm se obtuvieron mediante la aplicación de una dosis de irradiación de 20kG al almidón de yuca y maíz. La caracterización térmica por un análisis instrumental simultáneo reveló que las NPA obtenidas a partir de la irradiación fueron más susceptibles a la degradación térmica que el patrón de almidón nativo. Se sugiere que las NPA tienen un gran número de grupos hidroxilo en su superficie, donde la degradación térmica comienza, de manera similar a las NPA obtenidas por hidrólisis ácida [18].

Sin embargo, de manera similar a las NP obtenidas por otros tratamientos físicos, las nanopartículas de la irradiación gamma con almidón muestran un patrón amorfo de difracción de rayos X. Los autores explicaron que la transformación a la estructura amorfa no estaba relacionada con la irradiación gamma. En su lugar, sugirieron que fue causada por el tratamiento térmico (85°C) antes de la irradiación gamma, lo cual era necesario para obtener dispersiones estables.

Combinación de hidrólisis y ultrasonificación

Kim *et al.* [19] informaron de la preparación de NPA a partir de almidones de maíz ceroso por un proceso combinado de hidrólisis ácida (2 días a 40°C) y ultrasonificación (3 min). Por la hidrólisis ácida sola, el tiempo de preparación NPA llevó varios días. Sin embargo, la hidrólisis ácida durante 2 días era suficiente para eliminar la mayor parte de las regiones amorfas del almidón (50 a 70% de almidón). Teniendo en cuenta que, se informó de la cristalinidad relativa de almidón de maíz ceroso en un rango de 30% a 50% [10,16-18]. Posteriormente, se aplicó un tratamiento ultrasónico (60% de la amplitud de la vibración, 3 min) para dispersar la suspensión de las micropartículas grandes hidrolizadas de almidón, que habían sido recuperadas por una centrifugación suave (500 rpm, 10 min). Por este proceso fácil, las micropartículas pueden ser completamente transformadas a nano partículas.

Sin embargo, el tratamiento con ultrasonidos a menudo interrumpe la estructura cristalina del almidón, y el rendimiento de recuperación de las NPA cristalinas se vuelve baja (menos del 30%). Kim *et al.* [20] informaron recientemente un procedimiento para la preparar NPA sin interrumpir la cristalinidad mediante el uso de hidrólisis y ultrasonificación. En su estudio, se aplicó una temperatura baja (4°C) para facilitar la asociación de las cadenas de almidón, lo que minimiza la interrupción de la cristalinidad y formación de nueva estructura cristalina en las NPA por asociación de la cadena. Los hidrolizados de almidón, obtenidos después de 6 días de hidrólisis ácida, eran más resistentes a la posterior ultrasonificación que los obtenidos después de 2 ó 4 días, independientemente de la temperatura de hidrólisis.

En comparación con el proceso normal de hidrólisis ácida [21], la combinación de hidrólisis ácida y ultrasonificación aumenta el rendimiento de recuperación de NPA (15% vs 78%). Además, la hidrólisis ácida a baja temperatura en el proceso combinado fue un proceso eficaz para la producción en masa de NPA cristalinas.

Como se ha descrito previamente [19], las partículas pequeñas de almidón (~500 nm) se podrían preparar por hidrólisis de almidón de arroz ceroso usando α -amilasa. Sin embargo, debido a la ultrasonificación después de este tratamiento enzimático se incrementó el diámetro del almidón hidrolizado. Lo anterior indica que el tratamiento con ultrasonido induce la agregación de los hidrolizados de almidón. Bajo el perfil de distribución de tamaño, la densidad de población de las dos fracciones principales (picos de 0,5 y 3,6 μ m) se redujo por el tratamiento

con ultrasonidos. Además, cuando el grado de hidrólisis enzimática fue mayor, el aumento de tamaño por el tratamiento con ultrasonidos fue más significativo. Este hallazgo indica que los hidrolizados de almidón se volvieron más susceptibles al tratamiento de sonicación cuando el nivel de hidrólisis fue mayor. La ultrasonificación también puede cambiar el patrón de difracción de rayos X del almidón. No se observó cambio hasta 180 segundos de tratamiento, pero después 420 segundos del tratamiento, el difractograma manifestó que hubo una disminución importante de la cristalinidad. Sobre la base de los resultados anteriores, la α -amilasa hidroliza los enlaces α (1-4) glucosídicos en las cadenas de amilopectina y amilosa. En consecuencia, se observaron algunas grietas y poros en la superficie de los gránulos de almidón hidrolizados, causando la fragmentación de los gránulos. Sin embargo, estas partículas eran inestables y por lo tanto fácilmente hinchados por el post tratamiento con ultrasonido, induciendo la formación de agregados de almidón. Por lo tanto, para utilizar el presente proceso (combinación de hidrólisis enzimática y ultrasonificación) para la producción de NPA, se necesita un control más preciso tanto en la hidrólisis como en la ultrasonificación.

DISCUSIÓN

En los últimos años, las nanopartículas de biopolímeros se han originado a partir de polisacáridos (por ejemplo, almidón, celulosa) las cuales han sido ampliamente estudiadas en cuanto a su obtención y utilización. A pesar de los grandes potenciales de las nanopartículas de almidón para aplicaciones industriales, es necesario llevar a cabo más investigaciones sobre la producción eficiente de nanopartículas a escala industrial. Un proceso que mejora el rendimiento de recuperación de las nanopartículas y es de bajo costo, pero sobre todo es amigable con el medio ambiente, corresponde a la ultrasonificación. Además, se han estudiado la combinación del tratamiento de hidrolisis y ultrasonificación para la obtención de las nanopartículas, pero no se han encontrado resultados óptimos.

REFERENCIAS

- [1] F. Xie, E. Pollet, P. J. Halley, L. Avérous, "Starch-based nanobiocomposites", *Prog. Polym. Sci.* 38 (10-11), **2013**, 1590-1628.
- [2] A. C. Bertolini, *Starches: characterization, properties, and applications*. Boca Raton London, New York: CRC Press, **2010**.
- [3] L. M. Zárate Polanco, L. M. Ramírez Suárez, N. A. Otálora Santamaría, L. Prieto, M. S. Garnica Holguín, M. S. Cerón Lasso, J. H. Argüelles, "Extracción y caracterización de almidón nativo de clones promisorios de papa criolla (*Solanum tuberosum*, Grupo Phureja)," *Rev. Latinoam. La Papa*, vol. 18(1), **2014**, 1-24.
- [4] Y. Benavent-gil, C. M. Rosell, "Morphological and physicochemical characterization of porous starches obtained from different botanical sources and amyolytic enzymes," *International Journal of Biological Macromolecules* 103, **2017**, 587-595.
- [5] F. Zhu, "Structures, properties, modifications, and uses of oat starch," *Food Chem.*, 229, **2017**, 329-340.
- [6] F. C. Ogbo, E. N. Okafor, "The resistant starch content of some cassava based Nigerian foods," *Niger. Food J.*, 33 (1), **2015**, 29-34.
- [7] N. Masina, Y. E. Choonara, P. Kumar, L. C. du Toit, M. Govender, S. Indermun, V. Pillay, "A review of the chemical modification techniques of starch," *Carbohydr. Polym.*, 157, **2017**, 1226-1236.
- [8] H. Y. Kim, S. S. Park, S. T. Lim, "Preparation, characterization and utilization of starch nanoparticles," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, 126,

2015, 607–620.

- [9] D. Liu, Q. Wu, H. Chen, P. R. Chang, "Transitional properties of starch colloid with particle size reduction from micro- to nanometer," *J. Colloid Interface Sci.*, 339 (1), **2009**, 117–124.
- [10] F. Xie, E. Pollet, P. J. Halley, L. Avérous, "Starch-based nanobiocomposites," *Prog. Polym. Sci.*, 38, (10–11), **2013**, 1590–1628.
- [11] A. Hu, S. Jiao, J. Zheng, L. Li, Y. Fan, L. Chen, Z. Zhang, "Ultrasonic frequency effect on corn starch and its cavitation," *LWT - Food Sci. Technol.*, 60, **2015**, 941–947.
- [12] S. Bel Haaj, A. Magnin, C. Pétrier, S. Boufi, "Starch nanoparticles formation via high power ultrasonication," *Carbohydr. Polym.*, 92 (2), **2013**, 1625–1632.
- [13] D. Song, Y. S. Thio, Y. Deng, "Starch nanoparticle formation via reactive extrusion and related mechanism study," *Carbohydr. Polym.*, 85 (1), **2011**, 208–214.
- [14] D. Le core, J. Bras, A. Dufresne, "Starch Nanoparticles: A Review," *Biomacromolecules*, 11, **2010**, 1139–1153.
- [15] M. Perez Herrera, T. Vasanthan, L. Chen, "Rheology of starch nanoparticles as influenced by particle size, concentration and temperature," *Food Hydrocoll.*, 66, **2017**, 237–245.

- [16] M. Lamanna, N. J. Morales, N. L. Garcia, S. Goyanes, "Development and characterization of starch nanoparticles by gamma radiation: Potential application as starch matrix filler," *Carbohydr. Polym.*, 97 (1), **2013**, 90–97.
- [17] S. Singh, N. Singh, R. Ezekiel, A. Kaur, "Effects of gamma-irradiation on the morphological, structural, thermal and rheological properties of potato starches," *Carbohydr. Polym.*, 83 (4), **2011**, 1521–1528.
- [18] N. L. García, M. Lamanna, N. D'Accorso, A. Dufresne, M. Aranguren, S. Goyanes, "Biodegradable materials from grafting of modified PLA onto starch nanocrystals," *Polym. Degrad. Stab.*, 97 (10), **2012**, 2021–2026.
- [19] J. Y. Kim, D. J. Park, S. T. Lim, "Fragmentation of waxy rice starch granules by enzymatic hydrolysis," *Cereal Chem.*, 85 (2), **2008**, 182–187.
- [20] H.-Y. Kim, J.-A. Han, D.-K. Kweon, J.-D. Park, S.-T. Lim, "Effect of ultrasonic treatments on nanoparticle preparation of acid-hydrolyzed waxy maize starch," *Carbohydr. Polym.*, 93 (2), **2013**, 582–588.
- [21] H. Y. Kim, D. J. Park, J. Y. Kim, S. T. Lim, "Preparation of crystalline starch nanoparticles using cold acid hydrolysis and ultrasonication," *Carbohydr. Polym.*, 98,(1), **2013**, 295–301.