

PELÍCULAS PROTEICAS DE SOJA NANOREFORZADAS CON CELULOSA MICROFIBRILADA EXTRAÍDA DE FIBRAS DE FORMIO

Cristian Matias Ortiz¹, Pablo Rodrigo Salgado¹, Alain Dufresne²,
Adriana Noemí Mauri¹

1. RESUMEN

En este trabajo se estudió la obtención de celulosa microfibrilada (MFC) mediante tratamiento mecánico a partir de fibras de formio, lográndose obtener nanofibras de celulosa ($d \approx 50-60$ nm y $L \approx 485$ μ m). Estas nanofibras se utilizaron como nano-refuerzos en la formulación de películas en base a proteína de soja (SPI) obtenidas por *casting*. Fue posible obtener películas homogéneas hasta con un 12 % de MFC (respecto de la cantidad de SPI). El agregado de las fibras provocó un aumento progresivo en la tensión a la rotura y módulo de Young en detrimento de la elongación a la rotura, y una disminución significativa en la permeabilidad al vapor de agua y en el contenido de agua pero un aumento en la solubilidad solo para las mayores concentraciones de MFC. El efecto refuerzo que la celulosa microfibrilada estaría ejerciendo sobre las películas proteicas, daría indicio de una buena compatibilidad entre esta matriz y las nanofibras.

2. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se ha incrementado el interés en la producción y empleo de materiales biodegradables y renovables. Las agroproteínas, como las de soja, se muestran como una alternativa sustentable para reemplazar a los polímeros sintéticos no degradables en algunas aplicaciones específicas. En general, las películas

CONTACTO: Adriana Noemí Mauri anmauri@quimica.unlp.edu.ar

1. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA), CONICET, UNLP, Argentina.

2. Laboratoire de Génie des ProcédésPapetiers (LGP2), Grenoble INP-Pagora, France.

proteicas suelen presentar excelentes propiedades barrera al oxígeno, a los lípidos y a los aromas; moderadas propiedades mecánicas y alta permeabilidad al vapor de agua. Actualmente, una de las alternativas más efectivas para mejorar las propiedades mecánicas y barrera de los materiales, tanto sintéticos como naturales, es el agregado de micro o nanorefuerzos a la formulación (Song *et al.*, 2011).

En los últimos años, ha crecido el interés en los micro y nanorefuerzos obtenidos a partir de polisacáridos. El uso de celulosa, derivada de la madera o de residuos agrícolas, en productos con mayor valor agregado es una alternativa viable y está actualmente bajo intensa investigación. Las suspensiones acuosas de celulosa microfibrilada (MFC) se pueden preparar por cizallamiento mecánico de fibras de celulosa (Lavoine *et al.*, 2012; Siró *et al.*, 2010). Este tratamiento permite separar las microfibrillas constitutivas. Las partículas resultantes se producen como largos filamentos flexibles en la escala nanométrica o partículas en forma de varilla de 5-20 nm de diámetro. Como sólo contienen un pequeño número de defectos, su módulo de Young axial (≈ 150 GPa) es muy alto, mayor que el del acero y similar al del Kevlar (Dufresne *et al.*, 2012).

El objetivo de este trabajo fue obtener celulosa microfibrilada a partir de fibras de formio, y luego utilizarlas para reforzar películas proteicas de soja, analizando el efecto de su agregado sobre las propiedades fisicoquímicas de los materiales resultantes.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES

Se emplearon fibras de formio (*Phormium tenax*) para la obtención de nano-refuerzos de celulosa, un aislado proteico de soja comercial (SPI, SUPRO 500E, DuPont N & H, Brasil) como biopolímero y glicerol (Anedra, Argentina) como plastificante.

OBTENCIÓN DE NANO-REFUERZOS DE CELULOSA

Pre-tratamiento de las fibras

Las fibras de formio fueron cortadas ($\approx 5-10$ mm) y sometidas a dos tratamientos alcalinos con NaOH (1N) a 80 °C, y dos tratamientos de blanqueo con H₂O₂ (3%v/v), también a 80 °C. Luego de cada tratamiento, las fibras fueron separadas por filtración y lavadas con agua destilada y finalmente secadas en una estufa de convección forzada a 80 °C.

Obtención de celulosa microfibrilada (MFC)

Las fibras de formio pre-tratadas se dispersaron en agua destilada (1%p/v) durante 16 horas a temperatura ambiente. La suspensión resultante se sometió a tratamiento mecánico en un equipo Masuko Super Masscolloider (a 3125 rpm) y se analizó el efecto del número de ciclos de homogeneización (10-100 ciclos) sobre las propiedades de las nano-fibras resultantes. La dispersión de MFC fue almacenada en refrigeración hasta su empleo.

Caracterización de la celulosa microfibrilada

La longitud de las fibras fue determinada en un equipo TECHPAP LB 01 Morfi (0,3 % g fibra/L). La morfología se observó con un microscopio de fuerza atómica.

FORMACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS NANOCOMPUESTAS

Obtención de las películas

Se formularon películas por *casting* a partir de dispersiones acuosas del aislado proteico de soja (SPI, 5% p/v), glicerol (1,25% p/v) y diferentes concentraciones de celulosa microfibrilada (0, 4, 8 y 12 g MFC/100 g de SPI a pH 10,5. El comportamiento de flujo de las dispersiones filmogénicas fue evaluado en un reómetro ReoStress 600 (Termo Haake, Karlsruhe, Alemania) y los resultados experimentales se ajustaron al modelo reológico de Herschel-Bulkley. Estas dispersiones se moldearon y secaron a 60 °C. Las películas resultantes se acondicionaron 48 horas a 58 % de humedad relativa previo a ser caracterizadas.

Caracterización de las películas

Se determinó el espesor de las películas empleando un medidor digital (Check Line DCN-900, USA), el contenido de agua según la norma ASTM D644-99 (ASTM, 2004) y la solubilidad mediante la técnica propuesta por Gontard y col. (1992). La permeabilidad al vapor de agua se determinó según la norma ASTM E96-00 (ASTM, 2004) a 20 °C, empleando un gradiente de humedad relativa de 75 %. Las propiedades mecánicas se midieron en ensayos de tracción según la norma ASTM D882-02 (ASTM, 2004).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados fueron analizados mediante análisis de varianza (ANOVA). Las medias fueron comparadas por el Test de Tukey con un nivel de significación $\alpha \leq 0,05$. Para ello se empleó el programa SYSTAT (versión 12, Systat Software, Inc., Chicago, EE.UU).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CARACTERIZACIÓN DE LA CELULOSA MICROFIBRILADA OBTENIDA

A PARTIR DE FIBRAS DE FORMIO

En la Figura 1 se muestran fotografías de las fibras de formio sin tratar (panel A) y las pre-tratadas (panel B). Se analizó el efecto del número de ciclos de homogeneización (entre 10 y 100 ciclos) sobre las propiedades de las nano-fibras resultantes. Se seleccionó el proceso que utilizaba 50 ciclos de homogeneización como el adecuado, ya que con el mismo se obtuvo una dispersión acuosa de celulosa microfibrilada (MFC) que contenía nano-fibras de celulosa con $d \approx 50-60$ nm y $L \approx 485$ μ m. En la Figura 2 se muestra el aspecto visual de la dispersión acuosa (panel A), así como también su caracterización por microscopía de fuerza atómica (panel B). Estas nano-fibras de celulosa (MFC) se emplearon como nano-refuerzos en películas proteicas de soja.

CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA DE LAS DISPERSIONES FILMOGÉNICAS

La Tabla 1 resume las características reológicas de las dispersiones filmogénicas. Los valores experimentales de esfuerzo de corte en función del gradiente de velocidad de corte se ajustaron satisfactoriamente al modelo de Herschel – Bulkley, obteniéndose coeficientes de correlación mayores a 0,99 para todos los casos. Todas las dispersiones mostraron una disminución en la viscosidad aparente a medida que aumentaba el gradiente de velocidad de deformación ($0 < n < 1$). Este comportamiento se volvió progresivamente más pronunciado al aumentar el contenido de MFC en la formulación, observándose una disminución en el índice de flujo (n) y un incremento en la consistencia de las dispersiones filmogénicas (mayores valores de K , t_0 y de viscosidad aparente). Si bien el aumento en la viscosidad aparente de las dispersiones al incrementar la concentración de MFC en las formulaciones fue observado en todo el rango de gradiente de velocidades de corte analizadas, éste

fue mayor a bajas velocidades de corte. El aumento de la viscosidad aparente de las dispersiones filmogénicas en función del contenido de MFC puede atribuirse al aumento en el contenido de sólidos en las formulaciones y a las posibles interacciones que se generan entre los distintos componentes. Las dispersiones filmogénicas que contenían hasta 12 g de MFC por 100 g de SPI mostraron viscosidades adecuadas a fin de permitir la eliminación de burbujas durante la agitación y una fluidez adecuada para verter las dispersiones durante la etapa de moldeo. Por encima de esa concentración de MFC no fue posible obtener películas homogéneas debido a que las viscosidades de esas formulaciones aumentaron a un punto tal que se dificultaba el mezclado y la remoción de burbujas.

CARACTERÍSTICAS DE LAS PELÍCULAS NANO-REFORZADAS

Se obtuvieron películas homogéneas con un contenido máximo de 12 g de MFC por 100 g de SPI. Al incrementar el contenido de MFC incorporado en la matriz proteica, se observó un pequeño aumento en el espesor de las películas (de $64,8 \pm 5,1$ a $71,9 \pm 4,0$ μm para las películas con 0 y 12 % de MFC incorporada respectivamente). En la Tabla 2 se presentan el contenido de agua, solubilidad en agua y permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas estudiadas.

Solo se observó una modificación de la susceptibilidad al agua para las películas proteicas con 8 y 12 % de nanofibras. Esta modificación se verificó en una disminución significativa del contenido de agua y de la permeabilidad al vapor de agua, pero a la vez un aumento en la solubilidad de las películas nanocompuestas respecto de las proteicas. Estos resultados sugieren que la MFC estaría generando mayor tortuosidad en la matriz proteica para la difusión de las moléculas de agua a través de ella (y de ahí la menor WVP encontrada), y estaría interfiriendo en el entrecruzamiento proteico (y por esto la mayor solubilidad de las películas nanocompuestas).

En la Tabla 3 se presentan las propiedades mecánicas de las películas medidas en tracción. Las mismas fueron significativamente afectadas por la incorporación de MFC a la matriz proteica. El incremento de la concentración de nanofibras en la formulación provocó un aumento progresivo de la tensión a la rotura y módulo de Young en detrimento de la elongación a la rotura. Así por ejemplo para las películas con 12 % de MFC las mejoras en la tensión a la rotura y módulo de Young fueron de 784 % y 1496 % respectivamente, y la disminución de la elongación a la ruptura de un 90 %. Estos resultados demuestran el gran efecto refuerzo que la celulosa mi-

crofibrilada estaría ejerciendo sobre las películas proteicas, lo que daría indicio de una buena compatibilidad entre esta matriz y las nanofibras.

5. CONCLUSIONES

Fue posible obtener celulosa microfibrilada a partir de fibras de formio, obteniéndose a través de este procesamiento nanorefuerzos naturales totalmente biodegradables. Estas nanofibras de celulosa lograron reforzar en gran medida a películas proteicas de soja obtenidas por *casting*. Este refuerzo fue verificado principalmente en mejoras muy significativas en las propiedades mecánicas y mejoras en la WVP solo a partir de concentraciones de fibras superiores al 4 %.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT 2010-1837), a la Universidad Nacional de La Plata (UNLP 11-X618) y al CONICET y CNRS (CONICET+CNRS 2012) por el financiamiento recibido.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASTM. (2004). Annual book of ASTM standards; ASTM International: Philadelphia, PA, USA.
- DUFRESNE, A. (2012). Nanocellulose: From Nature to High Performance Tailored Materials. Walter de Gruyter GmbH, Berlin/Boston, 460 páginas.
- GONTARD, N., Guilbert, S. & Cuq, J. L. (1992). Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. *J. Food Sc.*, 57, 190-195.
- LAVOINE, N., Desloges, I., Dufresne, A., Bras, J. (2012). Microfibrillated cellulose – Its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review. *Carb. Polymers*, 90, 735-764.
- SIRÓ, I, Plackett, D. (2010). Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: A review. *Cellulose*, 17, 459-494.
- SONG, F., Tang, D-L., Wang, X-L. & Wang, Y-Z. (2011). Biodegradable soy protein isolate-based materials: A review. *Biomacromolecules*, 12, 3369-3380.

7. TABLAS Y FIGURAS

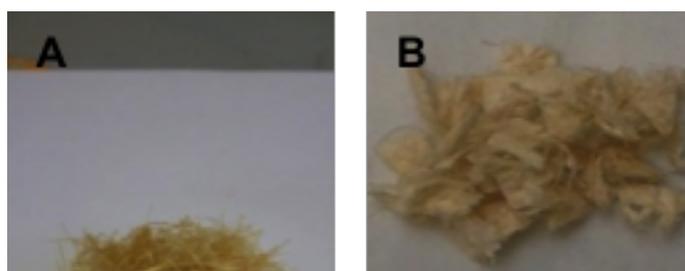


FIGURA 1. Fibras de formio (*P. tenax*) sin tratamiento (A) y pre-tratadas con tratamientos alcalino y blanqueo (B)

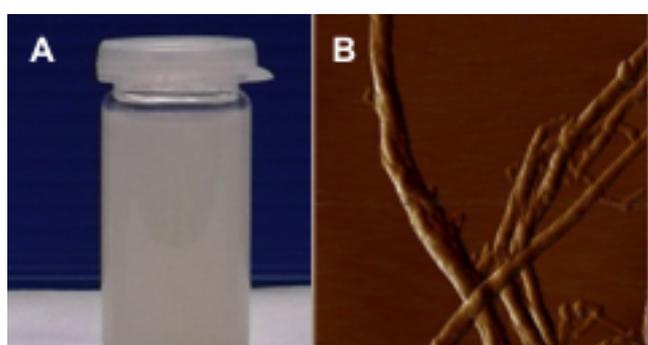


FIGURA 2. Celulosa microfibrilada (MFC) obtenida a partir de fibras de formio (*P. tenax*). Aspecto visual de la dispersión (A) y microscopía de fuerza atómica de las nanofibras obtenidas (B)

TABLA 1. Comportamiento reológico de dispersiones filmogénicas en base a proteína de soja (SPI) con diferentes concentraciones de MFC. (A) umbral de fluencia (t_0), índice de consistencia (K), y de comportamiento de flujo (n). (B) viscosidad aparente calculada a diferentes velocidades de cizallamiento (D), de 60, 300, y 500 s^{-1}

g MFC 100 g ⁻¹ SPI	A. Parámetros reológicos (Herschel-Bulkley)			B. Viscosidad Aparente (mPa s)		
	t_0 (Pa)	K (Pas ⁿ)	n	D= 60 s ⁻¹	D= 300 s ⁻¹	D= 500 s ⁻¹
0	0,07 ± 0,01 d	0,04 ± 0,01 c	0,85±0,03 a	20,2 ± 1,2 d	15,9 ± 0,6 d	15,3 ± 0,3 d
4	1,17 ± 0,11 c	0,06 ± 0,01 c	0,78±0,03 ab	46,9 ± 1,7 c	21,9 ± 0,5 c	19,3 ± 0,4 c
8	2,63 ± 0,17 b	0,09 ± 0,02 b	0,75±0,02 b	81,5 ± 1,2 b	31,5 ± 0,9 b	27,1 ± 1,4 b
12	4,67 ± 0,18 a	0,18 ± 0,01 a	0,64±0,01 c	124,6 ± 2,5 a	38,6 ± 0,8 a	31,4 ± 0,6 a

Letras verticales diferentes indican diferencia significativa con $\alpha=0,05$ (Tukey).

TABLA 2. Contenido de agua, solubilidad en agua y permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas proteicas de soja (SPI) con diferente concentración de MFC

g MFC 100 g ⁻¹ SPI	Contenido de agua (%)	Solubilidad en agua (%)	WVP*
0	15,7 ± 0,3 a	32,1 ± 1,6 b	14,9 ± 1,8 a
4	15,5 ± 0,1 a	33,1 ± 0,5 b	15,7 ± 1,9 a
8	15,4 ± 0,1 a	36,6 ± 1,7 a	08,9 ± 0,6 b
12	14,7 ± 0,1 b	37,4 ± 0,4 a	09,7 ± 0,3 b

*WVP en g H₂O m⁻¹ Pa⁻¹ s⁻¹

Letras verticales diferentes indican diferencia significativa con α=0,05 (Tukey).

TABLA 3. Propiedades mecánicas (medidas en ensayos de tracción) de las películas proteicas de soja (SPI) con diferente concentración de MFC

g MFC 100 g ⁻¹ SPI	Tensión a la ruptura (MPa)	Elongación (%)	Modulo de Young (MPa)
0	1,55 ± 0,2 c	119 ± 17 a	0,23 ± 0,04 b
4	4,18 ± 0,5 b	33,5 ± 1,3 b	0,47 ± 0,05 b
8	11,75 ± 1,3 a	14,4 ± 1,0 c	3,35 ± 0,29 a
12	12,20 ± 1,0 a	11,8 ± 1,1 c	3,47 ± 0,34 a

Letras verticales diferentes indican diferencia significativa con α=0,05 (Tukey).