

# Desarrollo de matrices bioplásticas superabsorbentes de proteína de soja con micronutriente incorporado para su uso en horticultura

M. Jiménez-Rosado<sup>1\*</sup>, M. Alonso-González<sup>2</sup>, J. M. Aguilar<sup>1</sup> Felipe Cordobés<sup>1</sup> y A. Romero<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ingeniería Química, Escuela Politécnica Superior, Universidad de Sevilla, 41011, Sevilla, Spain.

<sup>2</sup>Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Física, Universidad de Sevilla, 41012, Sevilla, Spain

*Development of superabsorbent soy protein-based bioplastic matrices with incorporated micronutrient for use in horticulture*

*Desenvolupament de matrius bioplàstiques superabsorbents de proteïna de soja amb micronutrients incorporats pel seu ús en horticultura*

RECEIVED: 29 DECEMBER 2019; REVISED: 21 MAY 2019; ACCEPTED: 22 MAY 2019

## SUMMARY

The increase in the consumption of organic products from sustainable horticulture coupled with the concern for the effects of drought, increasingly pronounced, has increased the need to seek new techniques to help minimize the environmental impact. In this way, the elaboration of superabsorbent protein-based matrices with micronutrients has been investigated, thus being able to retain water from the medium to supply it to the plant together with the micronutrients in a controlled manner. However, the incorporation into the matrices of the generally used salts (sulfates) cause them to lose their superabsorbent capacity, so we must look for another way to incorporate these micronutrients. The main objective of this work was the evaluation of the incorporation of different salts (sulfate and hydroxycarbonate), which create different ionic forces in the medium. In this way, the effect of the ionic strength on the superabsorbent capacity of the matrices is compared. Thus, soy protein-based matrices with different concentrations of salt have been obtained, verifying that the incorporation of these to the matrices leads to worse mechanical properties. In addition, it has been proven that the incorporation of a salt that creates a weak ionic strength (hydroxycarbonate) makes the matrices have a better absorption capacity, while the incorporation of a salt with a high potential to generate ionic forces (sulfate) makes that these materials lose their superabsorbent capacity.

**Keywords:** Sustainable horticulture, matrices, micronutrients, ionic forces, superabsorbents.

## RESUMEN

El aumento en el consumo de productos orgánicos procedentes de la horticultura sostenible sumado a la preocupación por los efectos de la sequía, cada vez más pronunciada, ha incrementado la necesidad de buscar nuevas técnicas que ayuden a la minimización del impacto ambiental. De esta forma, se ha investigado la elaboración de matrices proteicas superabsorbentes con micronutrientes, pudiendo así retener agua del medio para suministrarla a la planta junto con los micronutrientes de forma controlada. No obstante, la incorporación a las matrices de las sales generalmente usadas (sulfatos) hacen que éstas pierdan su capacidad superabsorbente, por lo que hay que buscar otra forma de incorporar estos micronutrientes. El objetivo principal del presente trabajo es la evaluación de la incorporación de diferentes sales (sulfato e hidroxicarbonato), las cuales crean diferentes fuerzas iónicas en el medio a absorber. De esta forma, se compara el efecto de la fuerza iónica en la capacidad superabsorbente de las matrices. Así, se han obtenido matrices proteicas de soja con diferentes concentraciones de sales, comprobando que la incorporación de estas a las matrices conduce a peores propiedades mecánicas. Además, se ha comprobado que la incorporación de una sal que crea una fuerza iónica débil (hidroxicarbonato) hace que las matrices tengan una mejor capacidad de absorción, mientras que la incorporación de una sal con un alto potencial a generar fuerzas iónicas (sulfato) hace que estos materiales pierdan su capacidad superabsorbente.

\*Corresponding autor: [mjimenez42@us.es](mailto:mjimenez42@us.es)

**Palabras clave:** Horticultura sostenible, matrices, micronutrientes, fuerza iónica, superabsorbentes.

## RESUM

L'augment en el consum de productes orgànics procedents de l'horticultura sostenible sumat a la preocupació pels efectes de la sequera, cada vegada més pronunciada, ha incrementat la necessitat de buscar noves tècniques que ajudin a la minimització de l'impacte ambiental. D'aquesta manera, s'ha investigat l'elaboració de matrius proteiques superabsorbents amb micronutrients, podent així retenir aigua del medi per subministrar-la a la planta juntament amb els micronutrients de forma controlada. No obstant això, la incorporació a les matrius de les sals generalment usades (sulfats) fan que aquestes perdin la seva capacitat superabsorbent, de manera que cal buscar una altra forma d'incorporar aquests micronutrients. L'objectiu principal del present treball és l'avaluació de la incorporació de diferents sals (sulfat i hidroxicarbonato), amb anions oposats a les sèries de Hofmeister, per comprovar el seu efecte en la capacitat superabsorbent de les matrius. Així, s'han obtingut matrius proteiques de soja amb diferents concentracions de sals, comprovant que la incorporació d'aquestes a les matrius condueix a pitjors propietats mecàniques. A més, s'ha comprovat que la incorporació d'una sal "salting out" (sulfat) fomenta la hidrofobicitat de les matrius, mentre que una sal "salting in" (hidroxicarbonat) fomenta la seva hidrofilitat.

**Paraules clau:** Horticultura sostenible, matrius, micronutrientes, sèries Hofmeister, superabsorbents.

## 1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años los consumidores presentan una tendencia creciente a consumir productos orgánicos provenientes de una horticultura sostenible<sup>1</sup>. La horticultura sostenible es un conjunto de políticas y técnicas que, aplicadas a la producción hortícola, persiguen minimizar el impacto medioambiental. De esta forma, persigue que los sistemas usados para la producción sean compatibles con el entorno en el que se encuentran, aprovechando eficazmente todos los recursos que este les brinda y evitando o minimizando la producción de residuos tóxicos<sup>2</sup>. No obstante, esta producción también debe abastecer a la gran demanda del mercado, cada vez más creciente, sin encarecerse en demasía, por lo que se buscan técnicas cada vez más innovadoras que ayuden a este fin.

Dentro de esta horticultura sostenible, uno de los campos que más interés ha generado en los últimos años, alentado por los largos periodos de sequía registrados, es el uso de técnicas que mejoren la eficiencia del ciclo del agua<sup>3,4</sup>. De esta forma, se evita el uso de sistemas de riego, que van en contra de los objetivos de la horticultura sostenible y encarecen el producto final. Una de las alternativas más interesantes en este sentido es el uso de materiales poliméricos superabsorbentes<sup>5,6</sup>. Estos se incorporan en los cultivos, puesto

que son capaces de retener una gran cantidad de agua (hasta 1000 veces su peso), suministrándola a las plantas de forma controlada en función de sus necesidades, aprovechando así los escasos periodos de precipitaciones para retener agua y liberándola a las plantas en los momentos de sequía. No obstante, los materiales poliméricos utilizados hasta ahora tienen su principal inconveniente en el hecho de que provienen del petróleo, no siendo biodegradables y pudiendo ocasionar problemas de toxicidad en los cultivos<sup>7</sup>. Para evitar estos inconvenientes, últimamente se están investigando la elaboración de materiales (bio)poliméricos con propiedades superabsorbentes y biodegradables (SAB)<sup>7</sup>. Estos SAB pueden crearse a partir de distintas materias primas, siendo los polisacáridos y las proteínas las más habituales<sup>8</sup>. Los primeros han sido más estudiados, sin embargo, su elevado coste supone una barrera para la sustitución de los SAP comerciales<sup>9</sup>. En el caso de las proteínas, estas presentan beneficios tanto tecnológicos como económicos, que sumados a los ambientales ya comentados, hacen que tengan un alto potencial para su uso como SAB. En primer lugar, su gran variabilidad en composición aminoacídica y el amplio intervalo de formulaciones potenciales, hacen que haya una gran variedad de técnicas de procesamiento aplicables, siendo una de las más comunes el moldeo por inyección, lo cual facilita su traslado a escala industrial<sup>10</sup>. Por otro lado, las proteínas son la materia prima más desaprovechada y subvalorada a nivel industrial, por lo que su uso como materiales SAB les aportaría un valor añadido<sup>11</sup>. Además, gracias a su alto contenido en nitrógeno pueden suponer un aporte extra de nutrientes tras su degradación.

Estos beneficios se pueden incrementar si estos materiales, además de suministrar agua y nitrógeno, pudieran liberar micronutrientes esenciales para los cultivos de forma controlada con la ayuda de su biodegradabilidad. De esta forma, se evitarían los típicos excesos de los fertilizantes convencionales, que contaminan las aguas subterráneas por excesos de nutrientes y que tanta preocupación general están provocando hoy en día<sup>12,13</sup>.

Entre todas las proteínas que han sido estudiadas como materiales SAB (salvado de arroz<sup>14</sup>, proteína de guisante<sup>15</sup> (50°C, harina de cangrejo<sup>16</sup>, proteína de soja<sup>17</sup>, gluten<sup>18</sup>), la proteína de soja es el que ha presentado mayor capacidad superabsorbente. Ello, posiblemente sea debido al alto contenido que presenta esta proteína en ácido glutámico y aspártico, aminoácidos muy hidrófilos<sup>17</sup>. No obstante, la incorporación de micronutrientes, como el zinc (Zn), a estas matrices proteicas de soja, mediante las sales comúnmente usadas para la subsanación de su déficit (sulfatos mayoritariamente) hace que estas matrices pierdan su capacidad superabsorbente<sup>19</sup> (SPI). Esta pérdida de absorción se debe a la solubilidad presente por estas sales en agua, lo que hace que las fuerzas iónicas que se generen en el medio sean demasiado altas, impidiendo el hinchamiento de la matriz, y por ende, la absorción de agua por parte de la misma<sup>20</sup>.

En vista de todo esto, el objetivo principal del presente trabajo es el desarrollo de matrices bioplásticas

con base proteica de soja con zinc (micronutriente) incorporado. Para ello, se compara el efecto de la incorporación de sales, que generan fuerzas iónicas de mayor o menor magnitud en el medio de absorción, en las matrices proteicas de soja: sulfato de zinc heptahidratado ( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ) como sal que genera una alta fuerza iónica y hidroxicarbonato de zinc (mezcla comercial en relación 2:3 de  $ZnCO_3$  y  $Zn(OH)_2$ ) como sal que genera una fuerza iónica relativamente baja en el medio, comparando tanto las propiedades mecánicas como la capacidad absorbente de las mismas.

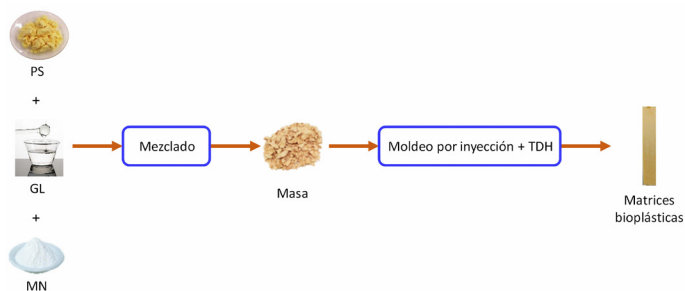
## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Materiales

Para elaborar las matrices bioplásticas con base proteica se utiliza como biopolímero el aislado proteico de soja (PS) suministrado por Protein Technologies International (SUPRO 500E, Bélgica). Este aislado tiene un 91% (p/p) de proteínas, un 6% de humedad y un 3% de cenizas. Además, se utiliza la glicerina (GL), proporcionada por Panreac Química Ltd. (España), como plastificante. Por último, como sales minerales que proporcionan el micronutriente seleccionado (MN) se utilizan el sulfato de zinc heptahidratado ( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ) como sal "salting out" y el hidroxicarbonato de zinc (mezcla comercial  $2ZnCO_3$ ,  $3Zn(OH)_2$ ) como sal "salting in", ambas suministradas por Panreac Química Ltd. (España).

### 2.2 Procesado de matrices bioplásticas con base proteica

La obtención de matrices bioplásticas con base proteica de soja sigue el proceso indicado en la Figura 1. Este proceso consiste en dos etapas: (i) homogenización de las materias primas (mezclado), dando lugar a una masa, y (ii) la obtención de la matriz bioplástica, que engloba el moldeo por inyección de la masa, y su estructuración mediante un tratamiento dehidrotérmico (TDH).



**Figura 1:** Diferentes etapas en la elaboración de matrices bioplásticas superabsorbentes con base proteica. Materias primas: proteína de soja (PS), glicerina (GL) y sal que incorpora el micronutriente (MN:  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  ó  $2ZnCO_3$ ,  $3Zn(OH)_2$ ). TDH: tratamiento dehidrotérmico.

#### 2.2.1 Mezclado

PS y GL se mezclan en una relación 1:1 con diferentes porcentajes de  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  ó  $2ZnCO_3$ ,  $3Zn(OH)_2$  (2,5 y 5,0% en peso) usando un reómetro discontinuo de mezclado Haake PolyLab QC (ThermoHaake,

Alemania). Este proceso se realiza adiabáticamente a temperatura ambiente ( $25 \pm 5$  °C) y 50 rpm durante 10 min, siguiendo el mismo protocolo usado en estudios anteriores, donde se obtuvieron bioplásticos proteicos de soja mediante este procesado<sup>17,21</sup>.

Durante esta etapa, se estudian tanto la variación del par de torsión ( $M$ ) como el incremento de temperatura ( $\Delta T = 100 \cdot (T - T_0) / T_0$ , donde  $T$  es la temperatura del sistema en el momento de la medida y  $T_0$  es la temperatura inicial del sistema) que se producen durante el mezclado.

#### 2.2.2 Moldeo por inyección

Una vez realizado el mezclado, las masas se procesan mediante un moldeo por inyección, a escala de laboratorio, con la finalidad de obtener las matrices bioplásticas. Este moldeo se realiza en una inyectora MiniJet Piston Injection Moulding System II (ThermoHaake, Alemania). Los parámetros definidos para dicha inyección se escogieron en función de estudios anteriores donde se evaluaban los parámetros óptimos para la obtención de bioplásticos de soja con las mejores propiedades superabsorbentes posibles<sup>17,21,22</sup>. De esta forma se ha definido la temperatura del cilindro (40 °C), la temperatura del molde (70 °C), la presión de inyección (500 bar durante 20 s) y la presión de post-inyección (200 bar durante 300 s).

#### 2.2.3 Tratamiento dehidrotérmico (TDH)

Después del moldeo por inyección, las matrices bioplásticas se someten a un tratamiento dehidrotérmico con la finalidad de conferirle un cierto grado de fortalecimiento a la red biopolimérica, que ayuda a mantener la integridad de las matrices a la hora de absorber agua. Esta etapa se realiza en un horno convencional a una temperatura de 50 °C durante 24 horas<sup>23</sup>.

#### 2.2.4 Incorporación del micronutriente

El micronutriente (MN) se incorpora en forma de sal sulfato ( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ) o hidroxicarbonato ( $2ZnCO_3$ ,  $3Zn(OH)_2$ ). Esta sal se introduce en el sistema junto con el resto de las materias primas en el mezclado.

El  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  no se puede incorporar de forma sólida en las masas ya que hace que estas no sean inyectables<sup>1</sup> este motivo se incorpora disolviéndolo en agua, formando una solución saturada de  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  (1 g de  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  / mL de  $H_2O$ ). No obstante, como el agua actúa de plastificante, la relación PS/GL se tiene que corregir para no variar la relación proteína/plastificante. Por otro lado, el  $2ZnCO_3$ ,  $3Zn(OH)_2$  si se incorpora de forma sólida directamente en el mezclado junto con el resto de las materias primas (SP y GL).

## 2.3 Caracterización de las matrices bioplásticas

Una vez elaboradas las matrices bioplásticas con micronutriente incorporado, estas se caracterizan midiendo sus propiedades mecánicas y su capacidad de absorber agua. La finalidad de estos ensayos es comparar las matrices en función de las diferentes sales incorporadas. Cabe destacar que se utiliza una matriz sin micronutriente incorporado como referencia (Ref.).

#### 2.3.1 Ensayos de tracción hasta la rotura

Los ensayos de tracción hasta la rotura se realizan en un analizador dinamo-mecánico RSA3 (TA Instruments, EE.UU.) siguiendo una modificación del

protocolo indicado en la norma ISO 527-2:1993<sup>24</sup>. El propósito de estos ensayos es evaluar la resistencia mecánica de las diferentes matrices bioplásticas.

En estos ensayos, las matrices bioplásticas se someten a un esfuerzo uniaxial creciente hasta la rotura del material a una velocidad de 1 mm/min, estudiando la relación entre el esfuerzo ( $\sigma$ ) y la deformación ( $\epsilon$ ). Además, para tener una mejor comparación de los sistemas, se evalúan la deformación en la rotura ( $\epsilon_{\max}$ ), el esfuerzo máximo ( $\sigma_{\max}$ ) y el módulo de Young.

### 2.3.2 Cálculo de la capacidad de absorción de agua y pérdida de material soluble

Se realizan ensayos para determinar la capacidad de absorción de agua y la pérdida de material soluble de las diferentes matrices bioplásticas, y así determinar si las matrices con micronutriente incorporado tienen carácter superabsorbente. Para realizar estos ensayos, se utiliza una modificación de la norma ASTM D570-98<sup>25</sup>, introduciendo las matrices bioplásticas en un recipiente cerrado con 300 mL de agua destilada durante 24 h. A continuación, se obtiene la capacidad de absorción de agua siguiendo la ecuación 1:

$$\text{Capacidad de absorción de agua (\%)} = \frac{m_2 - m_3}{m_3} \cdot 100 \quad (1)$$

Donde  $m_2$  es el peso de la matriz después de la etapa de absorción y  $m_3$  es el peso de la matriz seca después de la absorción, secándola mediante una etapa de liofilización (-80 °C y <15 Pa durante 24 h en un equipo liofilizador LyoQuest (Teslar, España)).

Finalmente, la pérdida de material soluble se calcula siguiendo la ecuación 2:

$$\text{Pérdida de material soluble (\%)} = \frac{m_1 - m_3}{m_1} \cdot 100 \quad (2)$$

Donde  $m_1$  es el peso de la matriz bioplástica después del tratamiento dehidrotérmico.

Además, se tomaron medidas de la conductividad del medio después de la absorción para comprobar el efecto de las fuerzas iónicas.

### 2.3.3 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Por último, se realizan micrografías de las diferentes matrices bioplásticas con la finalidad de comprobar la microestructura de las mismas antes y después de la absorción con agua. Las micrografías se obtienen siguiendo el mismo protocolo usado por Orawan et al.<sup>26</sup>. Para ello, las matrices se recubren primero con Paladio/Oro para mejorar su conductividad, y así, la calidad de las imágenes. A continuación, las muestras se observan con un microscopio electrónico de barrido Zeiss EVO (EE. UU.), usando un voltaje de aceleración de 10 kV.

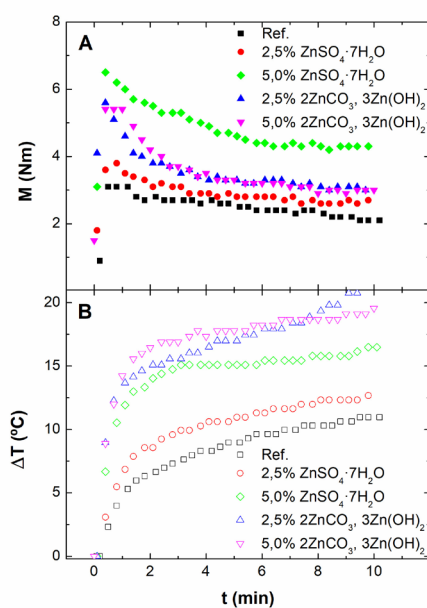
## 2.4 Análisis estadístico

Se realizan al menos tres réplicas de cada medida. El análisis estadístico se lleva a cabo mediante un test de comparación de medias (test de t de Student) y un análisis de varianza ( $p < 0,05$ ), usando un paquete estadístico de Windows (Versión 18: SPSS, Chicago, IL). Además, se calcula la desviación estándar de los parámetros seleccionados.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Preparación de matrices bioplásticas con base proteica de soja y micronutriente incorporado

En la Figura 2 se puede observar la variación que experimenta el par de torsión ( $M$ ) y el incremento de temperatura ( $\Delta T$ ) que se producen durante el mezclado de las masas con diferentes sales incorporadas (2,5 y 5,0% en peso de  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  y 2,5 y 5,0% en peso de  $2\text{ZnCO}_3, 3\text{Zn(OH)}_2$ ).



**Figura 2:** Evolución del (A) par de torsión y (B) el incremento de temperatura sufrido durante el tiempo de mezclado de las masas de proteína de soja, glicerina y diferentes porcentajes de sal que incorpora el micronutriente (2,5 y 5,0% (p/p)  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ó  $2\text{ZnCO}_3, 3\text{Zn(OH)}_2$ ).

El par de torsión (Figura 2A) presenta una evolución parecida en todos los sistemas estudiados. Así, se observa una subida hasta un máximo en los primeros instantes del mezclado, disminuyendo, a continuación, hasta un valor constante. Además, se observa que la incorporación de sal al sistema hace que se incremente el par de torsión registrado, debido posiblemente a la disminución del porcentaje de GL incorporado, lo que hace que los sistemas tengan una consistencia más pronunciada, y, por tanto, oponiendo una mayor resistencia al mezclado. Los mayores valores del par de torsión se observan para el sistema que incorpora un 5,0% en peso de  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , siendo el sistema más viscoso de todos. Este incremento más pronunciado puede relacionarse con el mayor porcentaje de GL retirado en el sistema, ya que no solo se reduce este para incorporar la sal, sino que se tiene que detraer también para compensarse con la cantidad de agua añadida para no modificar la relación proteína/plastificante<sup>27</sup>.

En cuanto al incremento de temperatura ( $\Delta T$ ) obtenido durante el mezclado (Figura 2B), se observa como todos los sistemas presentan una rápida subida

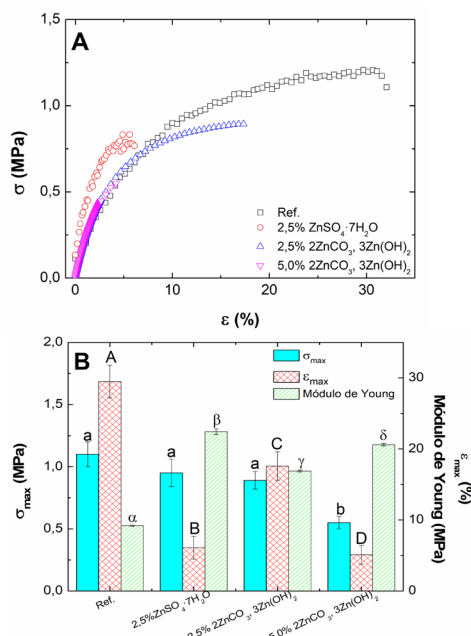
de su temperatura en el inicio del mezclado, atenuándose hacia un valor constante conforme transcurre el mismo. En todos los casos, la incorporación de sal al sistema hace que éste presente un mayor  $\Delta T$ , siendo más notable para los sistemas que incorporan  $2ZnCO_3, 3Zn(OH)_2$ . El hecho de que el sistema con mayor par de torsión no presente el mayor aumento de temperatura se puede explicar teniendo en cuenta la mayor cantidad de agua que se incorpora en los sistemas que contienen  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ . Puesto a que la alta capacidad calorífica del agua hace que se amortigüe el aumento de temperatura ocasionado por la mezcla de un sistema con mayor viscosidad.

Las masas, una vez homogeneizadas, pasan por un moldeo por inyección. Sin embargo, no se puede procesar mediante esta técnica el sistema con un 5,0% de  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  incorporado, debido posiblemente a la mayor viscosidad que tiene la masa, lo cual ya se observó en los perfiles de par de torsión durante el mezclado (Figura 2A). Por este motivo, no se incrementó más de 5,0% en peso la cantidad de sal incorporada en la mezcla.

### 3.2 Caracterización de las matrices bioplásticas con base proteica de soja y micronutriente incorporado

#### 3.2.1 Ensayos de tracción hasta la rotura

En la Figura 3 se observan los resultados de los ensayos de tracción hasta la rotura de las matrices bioplásticas con diferentes sales incorporadas (2,5% en peso de  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  y un 2,5 y 5,0% en peso de  $2ZnCO_3, 3Zn(OH)_2$ ), usando una matriz bioplástica sin zinc incorporado como referencia (Ref.).



**Figura 3:** Ensayos de tracción hasta la rotura de matrices bioplásticas de proteína de soja, glicerina y diferentes porcentajes de sal que incorpora el micronutriente (2,5% (p/p)  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  y 2,5 y 5,0% (p/p)  $2ZnCO_3, 3Zn(OH)_2$ ): (A) Curvas esfuerzo-deformación y (B) Parámetros: esfuerzo máximo ( $\sigma_{max}$ ), deformación en la rotura ( $\epsilon_{max}$ ) y módulo de Young. Las columnas con diferentes letras son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

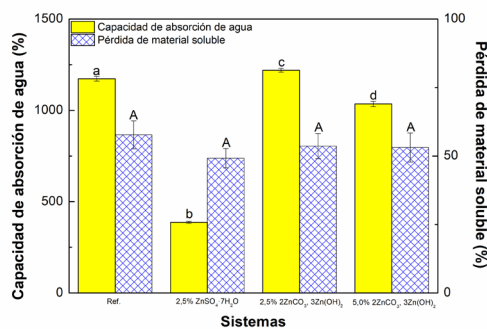
En la Figura 3A se representa la relación entre el esfuerzo ( $\sigma$ ) y la deformación ( $\epsilon$ ) de las diferentes matrices bioplásticas. Se puede observar como todas las matrices bioplásticas presentan una primera zona elástica, prácticamente lineal, mediante la cual se obtiene el módulo de Young. A continuación de esta zona, la matriz de referencia y la matriz con un 2,5% de  $2ZnCO_3, 3Zn(OH)_2$  presentan una zona plástica, en la que el esfuerzo se mantiene prácticamente constante a la deformación aplicada, hasta llegar a la rotura del material. No obstante, las matrices que incorporan un 2,5% de  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  o un 5,0% de  $2ZnCO_3, 3Zn(OH)_2$  no presentan zona plástica, llegando a la rotura en deformaciones inferiores. Este comportamiento puede relacionarse con la diferente ductilidad que presentan las diferentes matrices. Así, la matriz sin sal (Ref.) y la matriz que contiene un 2,5% de  $2ZnCO_3, 3Zn(OH)_2$  son más dúctiles por lo que presentan una mayor deformación, siendo parte de esta recuperable (elástica) y otra parte no (plástica). Por el contrario, la matriz con un 2,5% de  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  y la matriz con un 5,0% de  $2ZnCO_3, 3Zn(OH)_2$  presentan una menor ductilidad debido, posiblemente, a la menor estructuración de la matriz proteica, lo que hace que solo tengan una zona de deformación elástica antes de romperse.

Por otro lado, en la Figura 3B se puede observar la deformación en la rotura ( $\epsilon_{max}$ ), el esfuerzo máximo ( $\sigma_{max}$ ) y el módulo de Young de las diferentes matrices bioplásticas estudiadas. En cuanto al  $\sigma_{max}$ , solo se aprecian diferencias significativas cuando se le incorpora a la matriz un 5,0% de  $2ZnCO_3, 3Zn(OH)_2$ , posiblemente por el menor porcentaje de proteína que presenta la matriz, haciendo que esta esté menos estructurada. Por otro lado, los valores  $\epsilon_{max}$  muestran que la incorporación de sal en el sistema hace que este llegue antes a la rotura, siendo más significativo este descenso cuando se incorpora un 2,5% de  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  o un 5,0% de  $2ZnCO_3, 3Zn(OH)_2$ , lo cual coincide con las matrices menos dúctiles, y por tanto, tiene sentido que se produzca antes la rotura de las mismas. Por último, el módulo de Young presenta una subida significativa al incorporar sal al sistema, debido al descenso de la ductilidad de las matrices<sup>28</sup>. En cualquier caso, parece que la incorporación de sales a las matrices proteicas las convierte en más rígidas, pero, a su vez, más frágiles probablemente como consecuencia de la alteración de la estructura proteica formada en el bioplástico ya que las sales van incorporadas como material de relleno dentro de la matriz, siendo esta alteración más pronunciada en el caso del  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ .

#### 3.2.2 Capacidad de absorción de agua y pérdida de material soluble

En la Figura 4 se observan los resultados de las medidas de capacidad de absorción de agua y pérdida de material soluble realizadas a las diferentes matrices bioplásticas. En primer lugar, se puede observar como la incorporación de  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  hace que las matrices tengan una absorción notablemente menor que la matriz de referencia (sin sal incorporada), no pudiéndose considerar superabsorbente en este caso al ser su capacidad de absorción inferior a la establecida para los materiales superabsorbentes (1000%)<sup>29</sup>. Sin embargo,

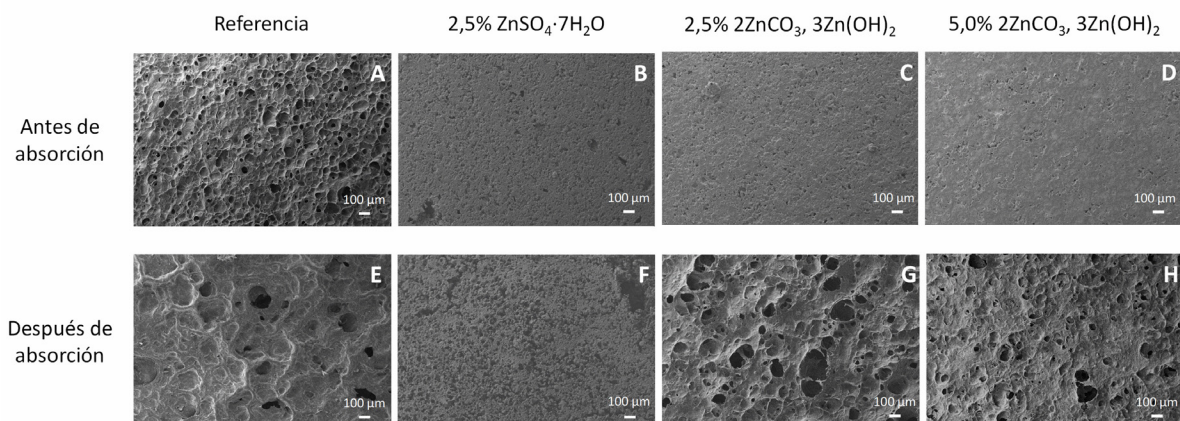
la incorporación de  $2\text{ZnCO}_3$ ,  $3\text{Zn}(\text{OH})_2$  prácticamente no modifica la capacidad de absorción de la matriz, aumentando ( $2,5\%$   $2\text{ZnCO}_3$ ,  $3\text{Zn}(\text{OH})_2$ ) o reduciendo ( $5,0\%$   $2\text{ZnCO}_3$ ,  $3\text{Zn}(\text{OH})_2$ ) levemente su efecto dependiendo de la estructuración presentada por la misma. Este comportamiento se debe a la diferente fuerza iónica presente en el medio cuando se realizan estos ensayos. En el caso de incorporar un  $2,5\%$   $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , la conductividad presente en el medio fue de  $472 \mu\text{S}/\text{cm}$ , mientras que cuando se incorporó  $2\text{ZnCO}_3$ ,  $3\text{Zn}(\text{OH})_2$  la conductividad fue de  $51$  y  $102 \mu\text{S}/\text{cm}$  para los sistemas con un  $2,5$  y  $5,0\%$  de sal respectivamente. El hecho de que aumente tanto la conductividad cuando se incorpora  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  hace que las matrices bioplásticas no puedan aumentar su volumen a la hora de absorber agua (por impedimento iónico) haciendo que su capacidad de absorber agua disminuya. Sin embargo, en el caso de la incorporación del  $2\text{ZnCO}_3$ ,  $3\text{Zn}(\text{OH})_2$ , como la conductividad no varía en demasía con respecto a la del agua destilada ( $35 \mu\text{S}/\text{cm}$ ), no se produce este impedimento a la hora de absorber agua, no perjudicando el carácter superabsorbente de las matrices. Este incremento en la capacidad de absorción también se observó en otros trabajos con carbonatos<sup>30</sup>.



**Figura 4:** Capacidad de absorción de agua y pérdida de material soluble de matrices de proteína de soja, glicerina y diferentes porcentajes de sal que incorpora el micronutriente ( $2,5\%$  (p/p)  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  y  $2,5$  y  $5,0\%$  (p/p)  $2\text{ZnCO}_3$ ,  $3\text{Zn}(\text{OH})_2$ ). Las columnas con diferentes letras son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

### 3.2.3 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

En la Figura 5 se pueden observar las micrografías de las matrices bioplásticas con diferentes sales incorporadas ( $2,5\%$   $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $2,5$  y  $5,0\%$   $2\text{ZnCO}_3$ ,  $3\text{Zn}(\text{OH})_2$ ) antes y después de la absorción con agua, tomando como referencia la matriz sin sal incorporada. En primer lugar, se puede observar como la incorporación de sal a la matriz hace que esta cambie su microestructura, independientemente de la sal incorporada. Por otro lado, se ve como las matrices bioplásticas antes de la absorción con agua que contienen micronutriente (Figuras 5B, 5C y 5D) no muestran diferencias significativas entre sí, mostrando una superficie homogénea con pequeños poros repartidos de forma regular por toda la matriz bioplástica. En cambio, al observar las mismas matrices tras la absorción con agua (Figuras 5F, 5G, 5H), se puede observar cómo las matrices que contienen  $2\text{ZnCO}_3$ ,  $3\text{Zn}(\text{OH})_2$  presentan poros significativamente mayores (Figuras 5G y 5H) que la matriz que contiene  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (Figura 5F). Además, el incremento en el porcentaje de  $2\text{ZnCO}_3$ ,  $3\text{Zn}(\text{OH})_2$  provoca que la cantidad y el tamaño de los poros se reduzca (Figura 5H). Estas imágenes están en consonancia con los resultados obtenidos en la capacidad de absorción de agua y pérdida de material soluble (3.2.2) en los que se observó que las matrices bioplásticas con  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  al presentar una mayor fuerza iónica tiene una capacidad de absorción de agua baja (poco hinchamiento), por lo que sus poros no sufren una gran modificación después de la absorción con agua. Sin embargo, la mezcla formada por los aniones hidróxido y carbonato al presentar menor fuerza iónica, ésta no afecta a la capacidad de absorción de agua, y, por consiguiente, se puede observar un aumento en el tamaño de poros al hincharse la matriz bioplástica. Aunque el aumento en la concentración de  $2\text{ZnCO}_3$ ,  $3\text{Zn}(\text{OH})_2$  hace que la fuerza iónica presente sea mayor, haciendo que sea más significativa, y por tanto, la matriz presente un menor hinchamiento, haciendo que presente poros en menor cantidad y de menor tamaño. Además, en este último caso se tiene más cantidad de  $2\text{ZnCO}_3$ ,



**Figura 5:** Imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) de las matrices bioplásticas de proteína de soja, glicerina y diferentes porcentajes de sal que incorpora el micronutriente ( $2,5\%$  (p/p)  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  y  $2,5$  y  $5,0\%$  (p/p)  $2\text{ZnCO}_3$ ,  $3\text{Zn}(\text{OH})_2$ ) antes y después de la absorción con agua. La matriz sin sal se usa como referencia.

$3\text{Zn}(\text{OH})_2$ , que no se pierde en el agua y actúa de material de relleno, lo que también puede provocar el descenso de números de poros presentes en la matriz con el 5,0% de  $2\text{ZnCO}_3$ ,  $3\text{Zn}(\text{OH})_2$ .

#### 4. CONCLUSIÓN

Se han desarrollado matrices proteicas de soja absorbentes con micronutriente (Zn) incorporado que presentan cualidades potenciales para su uso en horticultura. Además, estas matrices presentan una resistencia mecánica adecuada para su industrialización. No obstante, hay que tener en cuenta el tipo de sal que incorpora el micronutriente, debido a que la utilización de sales generalmente usadas en cultivos (sulfatos) hacen que las matrices pierdan su capacidad superabsorbente, perdiendo una de las cualidades deseadas de estos materiales. Sin embargo, la incorporación de otras sales como el hidroxicarbonato no presenta este efecto, dando lugar a matrices superabsorbentes. Por otro lado, también es importante tener en cuenta el porcentaje de sal incorporada para que no se aumente en demasía la fuerza iónica presente en el medio. Por lo tanto, es necesario tener en cuenta la conductividad que genera las sales incorporadas en el medio de absorción, para no producir fuerzas iónicas que hagan que éstas sean incapaces de absorber y retener grandes cantidades de agua. Una evaluación de la liberación del agua y micronutrientes a las plantas requeriría llevarse a cabo para su aplicación definitiva.

#### 5. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte de un proyecto financiado por MINECO/FEDER (Ref. CTQ2015-71164-P). Los autores agradecen su apoyo financiero. Además, los autores agradecen la beca predoctoral de Mercedes Jiménez-Rosado (FPU2017/01718) concedida por el Ministerio de Educación y Formación Profesional.

#### 6. REFERENCIAS

1. Agricultura, O. de las N. U. para la A. y la. *Agricultura Sostenible: Una Herramienta Para Fortalecer La Seguridad Alimentaria y Nutricional En America Latina y El Caribe*; FAO Fiat Panis: Poma.
2. Granatstein, D.; Kupferman, E. Sustainable Horticulture in Fruit Production. In *Acta Horticulturae*; International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, Belgium, 2008; pp 295–308. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2008.767.31>.
3. Costa, J. M.; Ortuño, M. F.; Chaves, M. M. Deficit Irrigation as a Strategy to Save Water: Physiology and Potential Application to Horticulture. *J. Integr. Plant Biol.* **2007**, *49* (10), 1421–1434. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1672-9072.2007.00556.x>.
4. Blum, A. Drought Resistance, Water-Use Efficiency, and Yield Potential are They Compatible, Dissonant, or Mutually Exclusive? *Aust. J. Agric. Res.* **2005**, *56* (11), 1159–1168.
5. Evonik. Creasorb: superabsorbents for non-sanitary applications <https://www.creasorb.com/product/creasorb/en/about/> (accessed Nov 16, 2018).
6. Chempoint. BASF superabsorbent polymers <https://www.chempoint.com/products/catalog/basf/basf-superabsorbent-polymers> (accessed Nov 16, 2018).
7. Mortain, L.; Dez, I.; Madec, P. J. Development of New Composites Materials, Carriers of Active Agents, from Biodegradable Polymers and Wood. *Comptes Rendus Chim.* **2004**, *7* (6–7), 635–640. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2004.03.006>.
8. Guilbert, S.; Gontard, N. Agro-Polymers for Edible and Biodegradable Films: Review of Agricultural Polymeric Materials, Physical and Mechanical Characteristics. In *Food Science and Technology*; Han, J. H. B. T.-I. in F. P., Ed.; Academic Press: London, 2005; pp 263–276. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-012311632-1/50048-6>.
9. Sagnelli, D.; Kirkensgaard, J. J. K.; Giosafatto, C. V. L.; Ogrodowicz, N.; Kruczała, K.; Mikkelsen, M. S.; Maigret, J.-E.; Lourdin, D.; Mortensen, K.; Blennow, A. All-Natural Bio-Plastics Using Starch-Betaglucan Composites. *Carbohydr. Polym.* **2017**, *172*, 237–245. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.05.043>.
10. Bozell, J. J. Feedstocks for the Future: Using Technology Development as a Guide to Product Identification. In *Feedstocks for the Future*; 2006; pp 1–12. <https://doi.org/10.1021/bk-2006-0921.ch001>.
11. Damodaran, S. *Food Proteins and Their Applications*; Routledge: New York, 1997.
12. Muscanescu, A. Organic versus Conventional: Advantages and Disadvantages of Organic Farming. *Econ. Eng. Agric. Rural Dev.* **2013**, *13* (1), 253–256.
13. Timilsena, Y. P.; Adhikari, R.; Casey, P.; Muster, T.; Gill, H.; Adhikari, B. Enhanced Efficiency Fertilisers: A Review of Formulation and Nutrient Release Patterns. *J. Sci. Food Agric.* **2015**, *95* (6), 1131–1142. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6812>.
14. Félix, M.; Lucio-Villegas, A.; Romero, A.; Guerrero, A. Development of Rice Protein Bio-Based Plastic Materials Processed by Injection Molding. *Ind. Crop. Prod.* **2016**, *79* (Complete), 152–159. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.11.028>.
15. Perez, V.; Felix, M.; Romero, A.; Guerrero, A. Characterization of Pea Protein-Based Bioplastics Processed by Injection Moulding. *Food Bioprod. Process.* **2016**, *97*, 100–108. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2015.12.004>.
16. Felix, M.; Romero, A.; Cordobes, F.; Guerrero, A. Development of Crayfish Bio-Based Plastic Materials Processed by Small-Scale Injection Mould-

- ing. *J. Sci. Food Agric.* **2014**, 95 (4), 679–687. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6747>.
17. Fernández-Espada, L.; Bengoechea, C.; Cordobés, F.; Guerrero, A. Thermomechanical Properties and Water Uptake Capacity of Soy Protein-Based Bioplastics Processed by Injection Molding. *J. Appl. Polym. Sci.* **2016**, 133 (24), 43524. <https://doi.org/10.1002/app.43524>.
  18. Sharma, S.; Luzinov, I. Whey Based Binary Bioplastics. *J. Food Eng.* **2013**, 119 (3), 404–410. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.06.007>.
  19. Jiménez-Rosado, M.; Pérez-Puyana, V.; Cordobés, F.; Romero, A.; Guerrero, A. Development of Soy Protein-Based Matrices Containing Zinc as Micronutrient for Horticulture. *Ind. Crops Prod.* **2018**, 121, 345–351. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.039>.
  20. Montesano, F. F.; Parente, A.; Santamaria, P.; Sannino, A.; Serio, F. Biodegradable Superabsorbent Hydrogel Increases Water Retention Properties of Growing Media and Plant Growth. *Agric. Agric. Sci. Procedia* **2015**, 4, 451–458. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2015.03.052>.
  21. Mo, X.; Sun, X. S.; Wang, Y. Effects of Molding Temperature and Pressure on Properties of Soy Protein Polymers. *J. Appl. Polym. Sci.* **1999**, 73 (13), 2595–2602. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4628\(19990923\)73:13<2595::AID-APP6>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4628(19990923)73:13<2595::AID-APP6>3.0.CO;2-I).
  22. Álvarez-Castillo, E.; J. del Toro, A.; Aguilar-García, J. M.; Guerrero, A.; Bengoechea, C. Producción de Materiales Superabsorbentes Basados En Proteína de Soja Mediante Optimización Del Procesado Térmico. *Afinidad Rev. Química Teórica y Apl.* **2018**, 76, 585.
  23. Álvarez-Castillo, E.; Del Toro, A.; Aguilar, J. M.; Guerrero, A.; Bengoechea, C. Optimization of a Thermal Process for the Production of Superabsorbent Materials Based on a Soy Protein Isolate. *Ind. Crops Prod.* **2018**, 125 (1), 573–581. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.09.051>.
  24. ISO 570-2:1993, Plastics. Determination of Tensile Properties. Part 2: Test Conditions for Moulding and Extrusion Plastics. ISO/TC 46: France 1993.
  25. ASTM D570-98: Standard Test Method for Water Absorption Of Plastics. ASTM international: West Conshohocken 2005.
  26. Orawan, J.; Scoottawat, B.; Wonnup, V. Effect to Phosphate Compounds on Gel-Forming Ability of Surimi from Bigeye Snapper (*Priacanthus Tayanus*). *Food Hydrocoll.* **2006**, 20 (8), 1153–1163.
  27. Matveev, Y. I.; Grinberg, V. Y.; Tolstoguzov, V. B. The Plasticizing Effect of Water on Proteins, Polysaccharides and Their Mixtures. Glassy State of Biopolymers, Food and Seeds. *Food Hydrocoll.* **2000**, 14 (5), 425–437. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(00\)00020-5](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(00)00020-5).
  28. Beltrán, M.; Marcilla, A. *Tecnología de Polímeros. Procesado y Propiedades*; Universidad de Alicante: Alicante, 2015.
  29. Zohuriaan-Merh, M. J.; Kabiri, K. Superabsorbent Polymer Materials: A Review. *Iran. Polym. J.* **2008**, 17 (6), 451–477.
  30. Fernández-Espada, L.; Bengoechea, C.; Martínez, I.; García, M. Influence of the Presence of Sodium Bicarbonate in Thermal and Mechanical Properties of Soy-Based Plastics Processed Through Injection Moulding. In *Perspectives in Fundamental and Applied Rheology*; F.J. Rubio-Hernandez, A.I. Gñomez-Merino, C. del Pino, L. Parras, L. Campo-Deaño, F.J. Galindo-Rosales, J.F. Velázquez-Navarro: Malaga, 2013; pp 51–56.