



**DESARROLLO DE  
MATERIALES BIOPLÁSTICOS  
PROTEICOS CON ELEVADA  
CAPACIDAD DE  
ABSORCIÓN DE AGUA**

Lucía Fernández-Espada Ruiz

Departamento De Ingeniería Química

Sevilla 2016

# ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS	1
1.1. Proteínas	3
1.1.1. Introducción	3
1.1.2. Estructura y composición de las proteínas	4
1.1.3. Estabilidad conformacional	14
1.1.4. Desnaturalización	17
1.1.5. Cambios estructurales durante el procesado	18
1.1.6. Estrecuzamiento entre proteínas	19
1.2. Proteína de soja	22
1.3. Albúmina de huevo	30
1.4. Clasificación de los polímeros	33
1.4.1. Termoplásticos	33
1.4.2. Polímeros amorfos y cristalinos	33
1.4.3. Plásticos reticulados	34
1.4.4. Elastómeros	35
1.4.5. Termoestables	36
1.4.6. Temperatura de transición vítrea	36
1.4.6.1. Factores que afectan a la transición vítrea	39
1.4.7. Propiedades ópticas, transparencia	40
1.5. Procesos de moldeo	37
1.5.1. Moldeo por extrusión	42

1.5.2. Moldeo por inyección	45
1.5.3. Moldeo por compresión	49
1.6. Bioplásticos	55
1.6.1. Introducción	55
1.6.2. Desnaturalización en la masa del bioplástico proteico	60
1.6.3. Desnaturalización térmica	62
1.6.4. Formación de la estructura viscoelástica	63
1.6.4.1. Agregación	63
1.6.4.2. Entrecruzamiento; <i>cross-linking</i>	64
1.6.4.3. Entrecruzamiento de cisteína	65
1.6.4.4. Lisina	66
1.6.5. Proceso de plastificación	69
1.6.5.1. Mecanismo de plastificación	72
1.6.5.2. Plastificantes utilizados en bioplásticos proteicos	77
1.7. Reología	79
1.8. Bioplásticos superabsorbentes (SAP)	88
1.8.1. Materiales superabsorbentes basados en proteínas (SAB)	90
1.9. Efervescencia	92
1.9.1. Materiales primas para productos efervescentes	94
1.10. Bibliografía	96
2. MATERIALES Y TÉCNICAS EXPERIMENTALES	111
2.1. Materiales empleados	113

2.1.1. Albúmina de clara de huevo	113
2.1.2. Aislado proteico de soja	114
2.1.3. Glicerina	115
2.1.4. Bicarbonato de sodio	115
2.1.5. Carbonato de sodio	116
2.2. Técnicas experimentales	117
2.2.1. Solubilidad de proteína. Método de Markwell	117
2.2.2. Mezclado termoplástico discontinuo	117
2.2.3. Análisis térmico gravimétrico (TGA)	119
2.2.4. Moldeo por inyección	121
2.2.5. Caracterización reológica	122
2.2.6. Ensayos de tracción	128
2.2.7. Absorción de agua	129
2.2.8. Transparencia	132
2.2.9. Porosimetría por inyección de mercurio	132
2.2.10. Microscopía Confocal láser de barrido	135
2.2.11. Microscopía de barrido electrónico	136
3. ESTUDIO DE LA VISCOELASTICIDAD LINEAL DE MEZCLAS DE ALBÚMINA DE HUEVO Y GLICERINA	139
3.1. Introducción	142
3.2. Materiales y métodos	144
3.2.1. Materiales	144

3.2.2. Preparación de la muestra	144
3.2.3. Tipos de ensayos	145
3.3. Resultados y discusión	146
3.3.1. Influencia de la composición	146
3.3.2. Influencia del tiempo de almacenamiento	149
3.3.3. Efecto de la temperatura sobre las propiedades reológicas	158
3.4. Conclusiones	168
3.5. Referencias	170
4. BIOPLÁSTICOS OBTENIDOS POR MOLDEO POR INYECCIÓN A BASE DE MEZCLAS PROTEÍNA/GLICERINA: ESTUDIO COMPARATIVO DE LA PROTEÍNA DE SOJA Y ALBÚMINA DE HUEVO	173
4.1. Introducción	176
4.2. Materiales y métodos	179
4.2.1. Materiales	179
4.2.2. Preparación de la muestra	179
4.2.3. Tipos de ensayos	180
4.3. Resultados y discusión	181
4.3.1. Masas proteína/glicerina	181
4.3.1.1. Análisis térmico gravimétrico (TGA)	181
4.3.1.2. Análisis dinámico mecánico (DMTA) en compresión	183
4.3.2. Bioplásticos de proteína/glicerina	190

4.3.2.1. Análisis dinámico mecánico (DMTA) en flexión	190
4.3.2.2. Propiedades mecánicas de tracción	191
4.3.2.3. Absorción de agua y sorción de vapor	192
4.3.2.4. Transparencia	195
4.3.3. Estudio de composición de la proteína aislada de soja	196
4.4. Conclusiones	199
4.5. Referencias	200
5. EFECTO DE LAS CONDICIONES DE PROCESADO SOBRE LAS PROPIEDADES DE BIOPLÁSTICOS A BASE DE PROTEÍNA DE SOJA POR MOLDEO POR INYECCIÓN	209
5.1. Introducción	211
5.2. Materiales y métodos	215
5.2.1. Materiales	215
5.2.2. Preparación de la muestra	215
5.2.3. Tipos de ensayos	217
5.3. Resultados y discusión	219
5.3.1. Análisis dinámico termomecánico (DMTA)	219
5.3.2. Propiedades mecánicas de tracción	230
5.3.3. Capacidad de absorción de agua	237
5.4. Conclusiones	245
5.5. Referencias bibliográficas	245

6. INFLUENCIA DE LA ADICIÓN DE BICARBONATO SÓDICO EN BIOPLÁSTICOS DE PROTEÍNA DE SOJA PROCESADOS MEDIANTE MOLDEO POR INYECCIÓN	253
6.1. Materiales y métodos	256
6.1.1. Materiales	256
6.1.2. Preparación de la muestra	256
6.1.3. Tipos de ensayos	257
6.2. Resultados y discusión	259
6.2.1. Caraterización de mezclas SPI/GL/Bicarbonato	259
6.2.1.1. Evolución del par de torsión	259
6.2.1.2. Análisis termogravimétrico	260
6.2.1.3. Análisis termomecánico (DMTA) por compresión	266
6.2.2. Caraterización de bioplásticos SPI/GL/Bicarbonato obtenidos por moldeo por inyección	269
6.2.2.1. Efecto de las condiciones de procesado: Temperatura de molde	269
6.2.2.1.1. Propiedades de tracción	270
6.2.2.1.2. Capacidad de absorción de agua	271
6.2.2.2. Efecto de la concentración de bicarbonato sódico	274
6.2.2.2.1. Análisis termomecánico (DMTA) por flexión	274
6.2.2.2.2. Propiedades de tracción	279
6.2.2.2.3. Propiedades de tracción	279
6.2.2.2.4. Microscopía electrónica de barrido (SEM)	283

6.2.2.2.5. Porosimetría por inyección de mercurio	283
6.2.2.3. Influencia de la adición de carbonato sódico	286
6.2.2.3.1. Propiedades dinámicas	286
6.2.2.3.2. Capacidad de absorción de agua	287
6.3. Conclusiones	290
6.4. Referencias bibliográficas	291





**Capítulo 1**  
**ANTECEDENTES**



---

## **1.1. PROTEÍNAS**

### **1.1.1. INTRODUCCIÓN**

Las proteínas son polímeros naturales que contribuyen a las funciones biológicas dentro de una célula, junto con otras macromoléculas biológicas, polisacáridos y ácidos nucleicos. Se clasifican como polímeros de condensación, ya que su síntesis implica la eliminación de agua para producir un polipéptido. Las proteínas son polímeros naturales formados por aminoácidos, que juegan un papel importante en los sistemas biológicos y de alimentos: como biocatalizadores (enzimas), componentes estructurales de tejidos y órganos (colágeno, queratina, elastina), proteínas contráctiles (actina, miosina y tubulina), hormonas (insulina, factor de crecimiento), proteínas de transporte (seroalbúmina, hemoglobina, transferrina), quelación de metales (fosvitina, ferritina), anticuerpos (inmunoglobulinas), proteínas protectoras (toxinas y alérgenos) y proteínas de almacenamiento como fuente de nitrógeno y energía para embriones. Además de ser importante para los sistemas biológicos, las proteínas también se utilizan en las industrias de medicamentos, alimentos y materiales. Son componentes fundamentales de alimentos e integrales, tanto nutricional (fuente de aminoácidos y energía) y funcionalmente (físicoquímica y sensorial). Debido a los diversos bloques de construcción de proteínas y su estructura única, una gran variedad de materiales biodegradables se puede producir que ofrece una amplia gama de propiedades funcionales. Desde la década de 1930

---

hasta la década de 1940 el uso de proteínas en aplicaciones de materiales aumentó significativamente, pero fue frenado por el descubrimiento de los polímeros basados en petroquímicos más baratos y más versátiles. Sin embargo, el aumento de la conciencia ambiental ha renovado el interés en la producción de polímeros sostenibles y biodegradables a partir de fuentes tales como las proteínas. Esto ha estimulado aún más por el agotamiento de los combustibles fósiles y su creciente coste.

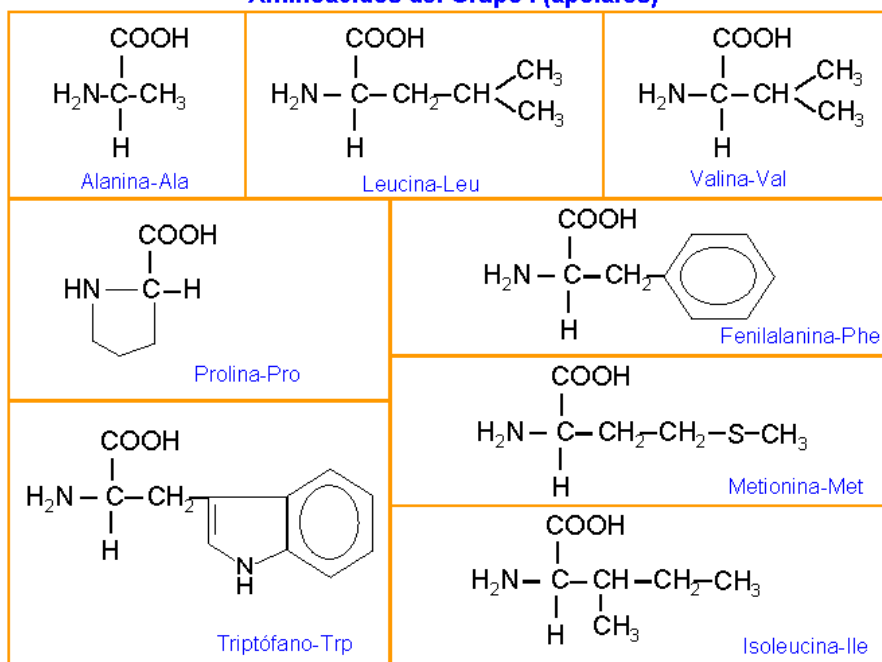
Las proteínas son altamente complejas y su diversidad funcional depende principalmente de su estructura química. Se puede obtener una cantidad innumerable de proteínas al variar la composición de aminoácidos (entre los 20 existentes) y su secuencia, impartiendo una multitud de conformaciones espaciales con diversas propiedades y funciones biológicas.

### **1.1.2. ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN DE LAS PROTEÍNAS**

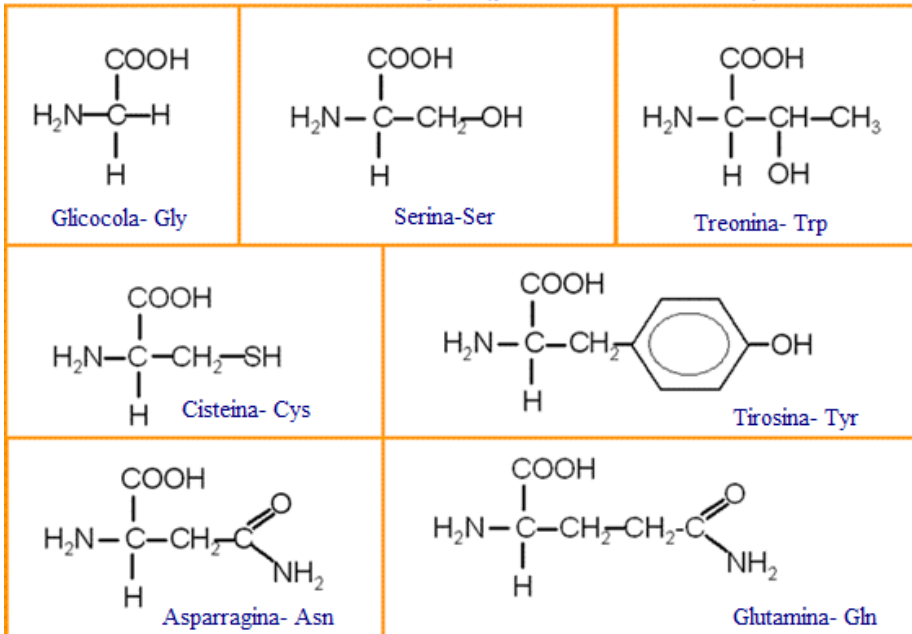
Las proteínas son polímeros formados por combinación de 20 aminoácidos diferentes (figura 1.1.) unidos entre ellos vía enlaces peptídicos. Los aminoácidos, como su nombre indica son bifuncionales. Los constituyentes sólo difieren en la naturaleza química de la cadena lateral unida al átomo de carbono central (Carbono  $\alpha$ ). Este Carbono  $\alpha$  se encuentra unido a cuatro grupos: un grupo amino básico ( $-\text{NH}_2$ ), un grupo carboxílico ácido ( $-\text{COOH}$ ), un átomo de hidrógeno y la ya

mencionada cadena lateral (-R). Las propiedades fisico-químicas, tales como la carga, solubilidad y reactividad química de los aminoácidos, y por ende de las proteínas, dependen de la estructura de la cadena lateral, pudiéndose clasificar como neutros, ácidos o básicos. Su valor como bloques de construcción proviene del hecho de que se pueden unir en grandes cadenas formando enlaces amida entre el  $\text{-NH}_2$  de un aminoácido y el  $\text{-CO}_2\text{H}$  de otro.

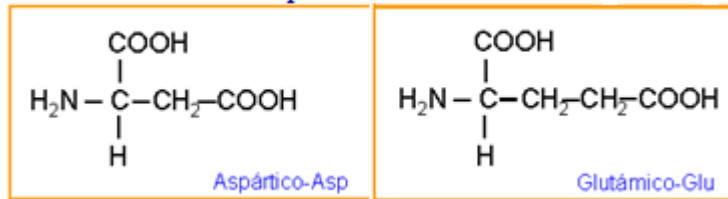
### Aminoácidos del Grupo I (apolares)



**Aminoácidos del Grupo II (polares no ionizables)**



**Aminoácidos polares ionizables ácidos**



**Aminoácidos polares ionizables básicos**

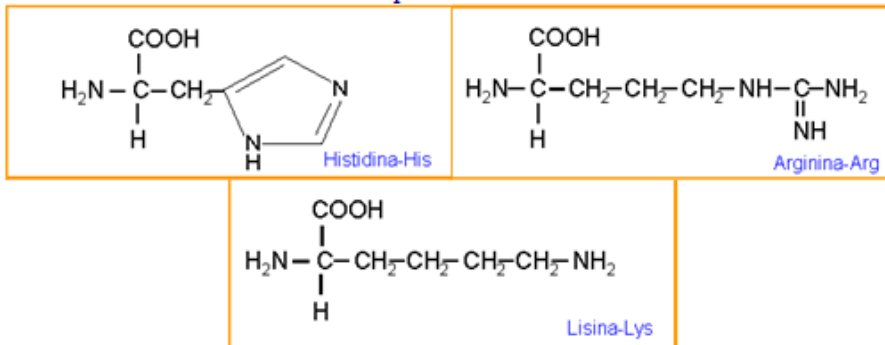


Figura 1.1. Estructura de los 20 aminoácidos comunes en las proteínas a pH 7 ordenados por reactividad de su cadena lateral (-R).

Gracias a sus dos grupos funcionales, los aminoácidos son a la vez ácidos y básicos, es decir, son anfóteros. En función del pH de una disolución podemos jugar con las cargas de los mismos. En solución ácida, un aminoácido se protona y se encuentra principalmente como catión. En solución básica, se desprotona y se encuentra principalmente como un anión. Así debe de haber un pH intermedio en el que el aminoácido esté equilibrado entre las formas aniónica y catiónica y se encuentre como el ión dipolar neutro (fig 1.2.). A este pH se le llama punto isoeléctrico, pI, del aminoácido.

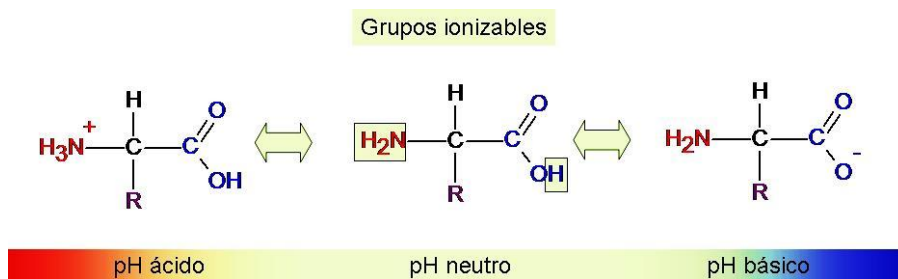


Figura 1.2. Variación de la conformación de un aminoácido a pH ácido, básico y pH neutro, el cual sería el punto isoeléctrico.

En la tabla 1.1. se reflejan todos los aminoácidos con los diferentes valores de  $pK_a$  para su grupo amino, su grupo ácido carboxílico, su cadena lateral y su correspondiente pI. Debemos tener en cuenta que el  $pK_a$  se relaciona con el pH de la siguiente manera:

$$pK_a = -\log pH \quad \text{ecuación 1.}$$

Nombre	Abreviatura	$pK_{a1}$	$pK_{a2}$	$pK_a$	pI.
		$\alpha\text{-CO}_2\text{H}$	$\beta\text{-NH}_3^+$	cad. lat.	
<b>Neutros</b>					
Alanina	Ala	2,34	9,69		6,01
Asparagina	Asn	2,02	8,08		5,41
Cisteína	Cys	1,96	10,28	8,18	5,07
Glutamina	Gln	2,17	9,13		5,65
Glicina	Gly	2,34	9,60		5,97
Isoleucina	Ile	2,36	9,60		6,02
Leucina	Leu	2,36	9,60		5,98
Metionina	Met	2,28	9,21		5,47
Fenilamina	Phe	1,83	9,13		5,48
Prolina	Pro	1,99	10,6		6,30
Serina	Ser	2,21	9,15		5,68
Treonina	Thr	2,09	9,10		5,60
Triptofano	Trp	2,83	9,39		5,89
Tirosina	Tyr	2,20	9,11	10,07	5,66
Valina	Val	2,32	9,62		5,96
<b>Ácidos</b>					
Aspártico	Asp	1,88	9,60	3,65	2,77
Glutámico	Glu	2,19	9,67	4,25	3,22
<b>Básico</b>					
Arginina	Arg	2,17	9,04	12,48	10,76
Histidina	His	1,82	9,17	6,00	7,59
Lisina	Lys	2,18	8,95	10,53	9,74

Tabla 1.1 Aminoácidos con sus abreviaturas,  $pK_a$  para los grupos ácidos, básicos, cadena lateral y punto Isoeléctrico.

El comportamiento de las proteínas en los bioplásticos depende de su estructura. En general, existen cuatro niveles estructurales:



---

estructura primaria, y otros tres en los que el polipéptido se pliega en estructura secundaria, terciaria y cuaternaria, conocida como la conformación nativa.

En la imagen inferior podemos ver de manera resumida cada una de las estructuras que ahora describiremos brevemente.

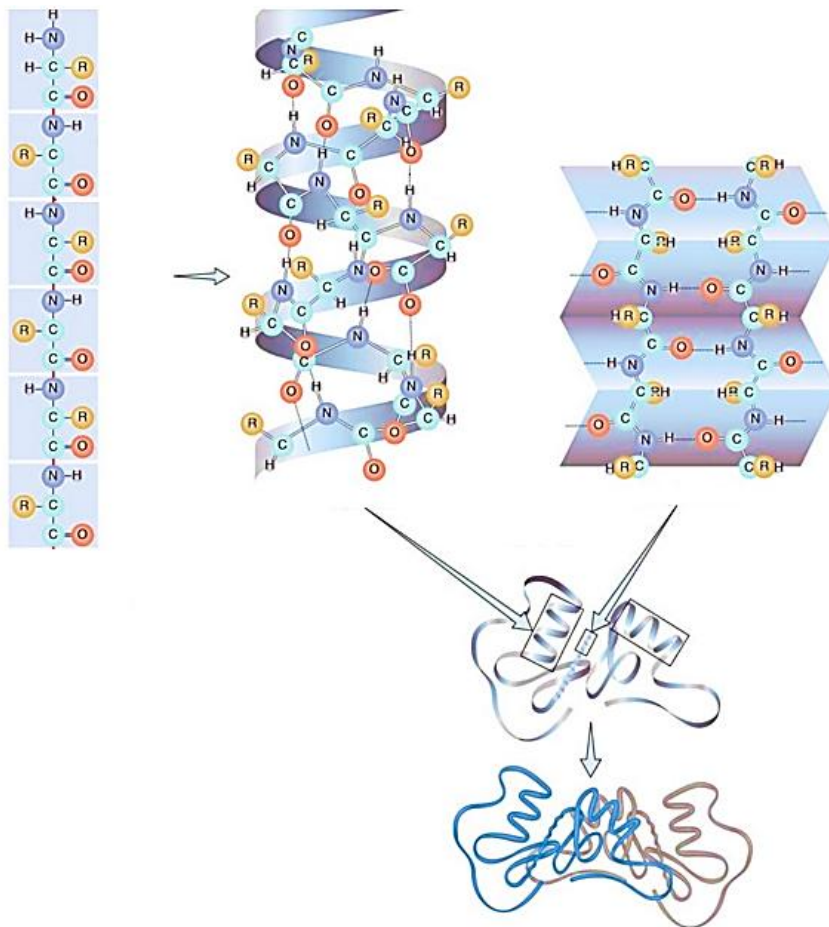


Figura 1.3. Niveles estructurales de las proteínas, primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria.

- Estructura primaria: Secuencia lineal de aminoácidos unidos mediante un enlace peptídico (figura 1.4), del grupo  $\alpha$ -carboxil de un aminoácido con el grupo  $\alpha$ -amino de otro aminoácido.

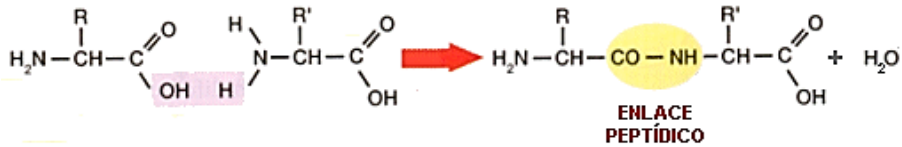


Figura 1.4. Formación del enlace peptídico entre dos aminoácidos perdiendo una molécula de agua.

La cadena polipeptídica consta de una parte regular que se repite, cadena principal, y de una parte variable, cadenas laterales, que varían en función del aminoácido. La cadena principal tiene un gran potencial para la formación de puentes de hidrógeno, ya que el grupo carbonilo es un buen receptor en los puentes de hidrógeno y el grupo amino un gran donante, gracias a la formación de estos enlaces pueden estabilizar las estructuras. Además de la cadena principal, los grupos reactivos de las cadenas laterales también son muy importantes ya que pueden interactuar con moléculas de disolvente, (agua, glicerina, alcohol...), variar con el pH e interactuando entre los grupos dictando la conformación final de la proteína.

La cantidad de grupos reactivos depende de la fuente de proteínas, pero por lo general no supera el 50% del total. Los aminoácidos reactivos más importantes de las proteínas y su porcentaje de presencia se reflejan en la tabla 1.2.

<b>Grupo</b>	<b>Símbolo</b>	<b>% presencia</b>
Amida	-NH <sub>2</sub>	15-40%
Ácido	-COOH	2-10%
Neutro	-OH	6-10%
Básico	C=O;	13-20%
Con azufre	-SH <sub>2</sub>	0-3%

Tabla 1.2. Aminoácidos reactivos más importantes de las proteínas y su porcentaje de presencia en las proteínas.

- Estructura secundaria: El término estructura secundaria se refiere a la conformación local de algunas partes del polipéptido. Normalmente la estructura secundaria se centra en los patrones de plegamientos regulares comunes de las cadenas polipeptídicas, siendo las más termodinámicamente estables las conformaciones de hélice- $\alpha$  y hoja  $\beta$ -plegada, que se describen a continuación.
  - *Hélice- $\alpha$* : en esta estructura el esqueleto polipeptídico se encuentra compactamente enrollado alrededor del eje longitudinal imaginario de la molécula con los residuos de los aminoácidos hacia el exterior de la cadena helicoidal. La hélice- $\alpha$  hace un uso excepcional de los puentes de hidrógenos internos. La estructura está estabilizada por un enlace de hidrógeno entre el átomo de hidrógeno unido al átomo de nitrógeno electronegativo de un enlace peptídico y el átomo de oxígeno carbonílico electronegativo del cuarto aminoácido siguiente.

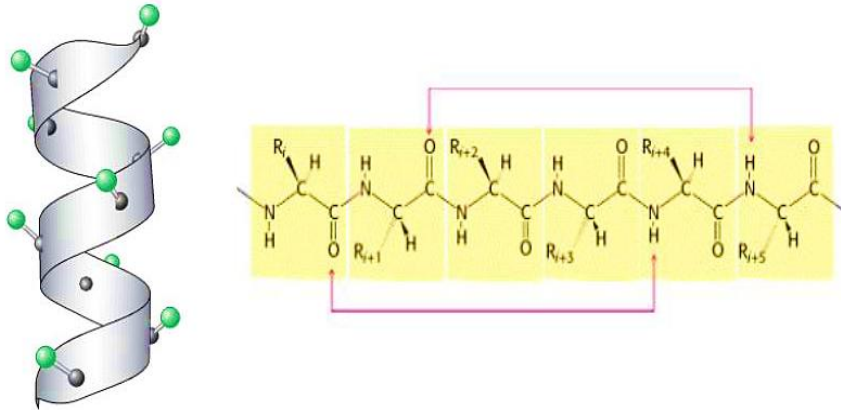


Figura 1.5. A) Estructura secundaria hélice- $\alpha$  con los residuos hacia el exterior de la cadena. B) Aminoácidos entre los que se forman los puentes de hidrógeno.

No todos los polipéptidos pueden formar una estructura hélice- $\alpha$  estable, puesto que las interacciones que se producen entre las cadenas laterales de los aminoácidos pueden estabilizar o desestabilizar esta estructura, estando las cargas de los residuos influenciadas por el pH.

- *Hoja- $\beta$  plegada*: El esqueleto de la cadena está dispuesto en zig-zag, pudiendo disponerse de manera adyacente formando una estructura que semeja la de una serie de pliegues. En esta disposición se forman enlaces de hidrógeno entre segmentos adyacentes de cadena polipeptídica. Los residuos de aminoácidos sobresalen de la estructura en direcciones opuestas, dando lugar a un patrón alternante. Las cadenas adyacentes pueden disponerse en direcciones opuestas (antiparalela) o en la misma dirección (paralela).

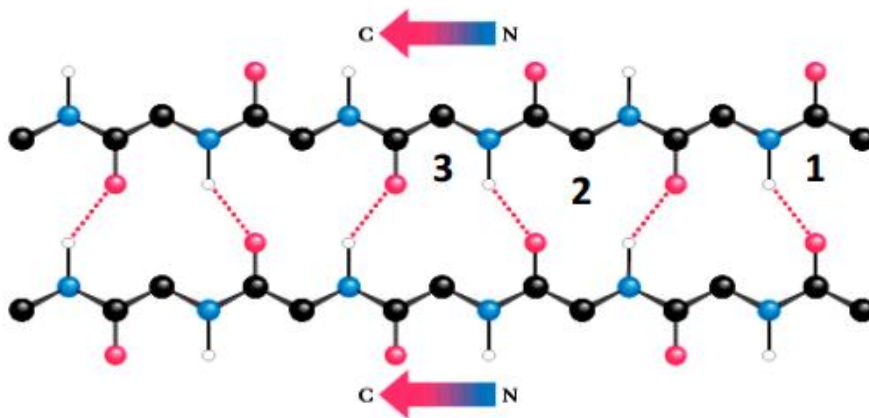


Figura 1.6. Estructura secundaria de hoja  $\beta$  paralela, mantiene su estabilidad mediante puentes de hidrógenos entre cadenas alineadas en la misma dirección.

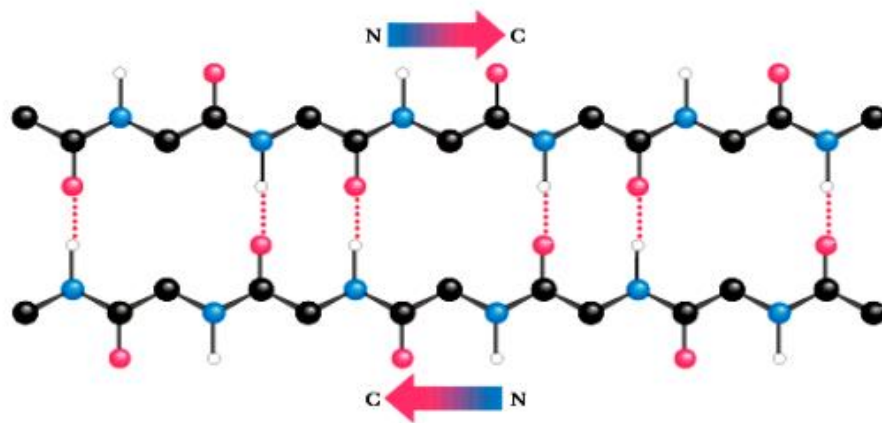


Figura 1.7. Estructura secundaria de hoja- $\beta$  antiparalela, mantiene su estabilidad mediante puentes de hidrógenos entre cadenas alineadas en direcciones opuestas.

- Estructura terciaria: La disposición tridimensional global de todos los átomos de una proteína se conoce como estructura terciaria. El proceso de formación de esta estructura está dirigida por los requisitos termodinámicos para minimizar la energía libre de las moléculas a través de la optimización de

---

varias interacciones no covalentes entre varios grupos en la proteína. El reordenamiento más importante que ocurre durante la formación de la estructura terciaria es el traslado de los residuos no polares al interior y de los residuos hidrofílicos al exterior de la molécula de proteína. Esta distribución revela un factor clave en la estructura de las proteínas: en medio acuoso, el plegamiento de las proteínas se determina por la fuerte tendencia de los grupos apolares a ser excluidos del agua, así el sistema se estabiliza.

- Estructura cuaternaria: Algunas proteínas están constituidas por dos o más cadenas polipeptídicas o subunidades, las cuales pueden ser idénticas o diferentes. Al considerar estos niveles superiores de estructura, es de utilidad clasificar las proteínas en dos grupos principales: proteínas fibrosas, que presentan cadenas polipeptídicas dispuestas en largas hebras u hojas, y proteínas globulares, con las cadenas polipeptídicas plegadas en formas globulares o esféricas. Estos grupos difieren en cuanto a la función desempeñada, las fibrosas dan soporte, forma y protección externa a los vertebrados, mientras que la mayoría de las enzimas y proteínas reguladoras son globulares.

---

### 1.1.3. ESTABILIDAD CONFORMACIONAL

Las proteínas presentan unos valores bajos de estabilidad neta lo que indica que son metaestables y que pueden sufrir fácilmente alteraciones en su conformación con la ruptura de un bajo número de interacciones o enlaces. De ahí que cambios en el pH, fuerza iónica, temperatura y composición del medio en el que la proteína se encuentra, pueden inducir cambios conformacionales en esta, afectando sus propiedades biológicas y funcionales.

La estabilidad estructural de las proteínas se mantiene por varios tipos de interacciones y enlaces intermoleculares, de los cuales se comentan a continuación los principales.

Enlaces de hidrógeno: existen predominantemente en la estructura secundaria de las proteínas, es decir en la hélice- $\alpha$  y la lámina- $\beta$  de la cadena de polipéptido. Este tipo de puente intersegmento se presenta predominantemente entre aminoácidos polares, tales como serina y tirosina y entre cadenas laterales de glutamina y asparagina, por ejemplo en proteínas de gluten y legumbres las cuales son ricas en estos aminoácidos.

Interacciones electrostáticas: se presentan entre grupos con carga opuesta. Es decir, entre cadenas laterales cargadas positivamente (lisina, arginina, e histidina) y cadenas laterales cargadas negativamente (ácido aspártico y ácido glutámico). Se ha encontrado que tales puentes parcialmente ocultos en un medio no polar contribuyen enormemente a la termoestabilidad de las proteínas.





---

Las proteínas que requieren estabilidad estructural elevada en sistemas biológicos, especialmente en ambientes extracelulares, usualmente contienen puentes de azufre. Estos enlaces se rompen solamente a altas temperaturas, pH ácido o en presencia de un agente reductor.

#### **1.1.4. DESNATURALIZACIÓN**

Se define como el desplegamiento de la proteína desde su estado nativo estructurado a un estado desestructurado (parcialmente), sin o con poca estructura fija residual, que no está muy lejos de un enrollamiento aleatorio, puede ser reversible o irreversible. También se puede definir como una modificación en la conformación (estructura secundaria, terciaria o cuaternaria) sin la ruptura de los enlaces polipeptídicos de la estructura primaria.

Un pequeño cambio en las condiciones ambientales, tales como, variación del calor, la presión, o fuerzas interfaciales, cizalla, valores extremos de pH, sales, detergentes, solventes orgánicos y plastificantes, puede interrumpir el estado plegado de las proteínas. El tratamiento con cada uno de estos agentes desnaturizantes no rompe los enlaces covalentes de la cadena polipeptídica. Para aplicaciones en alimentos es importante que las proteínas estén en su estado nativo para así conservar su funcionalidad, sin embargo en muchos casos la desnaturización es un prerrequisito para que en el procesado se puedan obtener productos con buen rendimiento en una aplicación

---

específica. La mayoría de las proteínas se pueden desnaturalizar mediante el calor, el cual afecta de una manera compleja a las interacciones débiles de una proteína, puentes de hidrógeno principalmente. Si se aumenta lentamente la temperatura, la conformación de la proteína permanece generalmente intacta hasta que tiene lugar una pérdida brusca de la estructura y por ende, de la función. Esta temperatura de desnaturalización ( $T_D$ ) de la proteína depende del contenido en agua, frecuentemente decrece al aumentar el contenido en agua. En general, la desnaturalización ocurre en sistemas con un contenido de agua por encima de 5% y temperaturas mayores a los 75°C.

### **1.1.5. CAMBIOS ESTRUCTURALES DURANTE EL PROCESADO**

Antes de que las proteínas lleguen a tener las propiedades deseadas en el producto, deben sufrir una serie de cambios en la estructura. En general se pueden distinguir tres etapas en el procesado de las proteínas para aplicaciones no alimentarias, cada una acompañada de modificaciones estructurales.

- **Mezclado:** Solubilización o dispersión de la proteína en agua u otros plastificantes, o mezclado de la proteína en polvo con tales plastificantes. El incremento de temperatura, cizalla y la presencia de desnaturalizantes es bastante común en esta etapa. Las interacciones moleculares y los puentes de azufre pueden romperse y producir cambios en la estructura.

---

- Formación de estructura: Reordenamiento de las moléculas. En el caso de materiales de extrusión, la cizalla favorece el alineamiento de las moléculas conduciendo a la formación de nuevas interacciones.

- Fijación de la estructura: Después de la orientación molecular y de dar forma al producto, la estructura formada debe fijarse, ya sea de forma física, química o por combinación de las dos. La fijación física o vitrificación es la reducción de la movilidad molecular por disminución de la temperatura (después de la extrusión) o reducción del contenido de agua (secado de cubiertas y adhesivos). La fijación química se puede dar por ejemplo por la formación de puentes de azufre o por enlace covalente, entre grupos reactivos que no contienen azufre. Esto se puede conseguir adicionando agentes de entrecruzamiento y de este modo incrementar la fuerza y la resistencia al agua del material.

### **1.1.6. ENTRECruzAMIENTO ENTRE PROTEÍNAS**

Uno de los tipos de reacciones químicas que mayores consecuencias tiene en la funcionalidad de proteínas, tanto en su forma nativa como desnaturalizada, es el entrecruzamiento. El entrecruzamiento de proteínas se refiere a la formación de enlaces covalentes entre cadenas polipeptídicas dentro de la proteína (entrecruzamiento intramolecular) o entre proteínas (entrecruzamiento intermolecular). Las altas temperaturas, valores extremos de pH, exposición a condiciones de oxidación y la acción de enzimas, pueden provocar el entrecruzamiento entre proteínas. No todos los aminoácidos participan en las reacciones de entrecruzamiento y los que lo hacen tienen varios grados de reactividad bajo diferentes condiciones.

---

Diferentes tipos de entrecruzamiento entre proteínas se pueden presentar dependiendo de su origen:

- Puentes de azufre: Son el tipo de enlace covalente más común y mejor caracterizado en proteínas. Se forman por acoplamiento oxidativo de dos residuos de cisteína adyacentes dentro de una matriz de proteína. Un oxidante acepta los átomos de hidrógeno de los grupos tiol de los residuos de cisteína, produciendo puentes de azufre. La habilidad de las proteínas para formar puentes de azufre intermoleculares durante los tratamientos térmicos se considera vital para la formación de geles de algunas proteínas alimentarias.
- Derivados de dehidroproteínas: La exposición a condiciones alcalinas, particularmente cuando va acompañada de procesamiento térmico induce racemización de los residuos de los aminoácidos y la formación de enlaces covalentes, tales como los de la dehidroalanina, lisinoalanina y lantionina.
- Derivados de la tirosina: Debido a las estructuras primaria y secundaria de las proteínas del gluten podría tener lugar la formación de enlaces no covalentes intermoleculares entre 2 o 3 residuos de tirosina presentándose entrecruzamiento de tirosina en forma de isoditirosina o ditirosina.
- Derivado de la reacción de Maillard: La reacción de Maillard comprende una serie compleja de reacciones, aparentemente iniciada por la condensación simple de una amina con un grupo

---

carbonilo, frecuentemente dentro de un azúcar reductor o del producto de la ruptura de una grasa. Durante el curso de la reacción de Maillard se generan varios intermedios reactivos como compuestos  $\alpha$ -dicarbonilo y deoxisonas que conducen a la formación de un amplio rango de productos. Se ha determinado que ocurre entrecruzamiento de proteínas alimentarias por la reacción de Maillard durante el procesado de alimentos, sin embargo la estructura química precisa de este entrecruzamiento aún no ha sido establecida del todo.

- Otros enlaces isopeptídicos: Un tratamiento térmico severo puede provocar la formación de enlaces isopeptídicos vía condensación del  $\alpha$ -aminoácido de la lisina con el grupo amida de un residuo de asparagina o glutamina.

---

## 1.2. Proteína de soja

La soja (*Glycine max L. Merril*) es una leguminosa oleaginosa de ciclo corto que crece en regiones tropicales, subtropicales y templadas del mundo y desempeña un papel primordial en la nutrición saludable. En Oriente, desde hace más de 5000 años, se emplea con éxito en la alimentación humana como granos enteros, harina tostada, granos germinados y fermentados, leche, queso y salsa de soja, etc. Fue identificada como uno de los cinco granos sagrados conjuntamente con el arroz, el trigo, la cebada y el maíz, considerados esenciales para la supervivencia de su civilización. En el mundo occidental fue incorporada a través de los Estados Unidos a partir del siglo XX al conocerse su alto valor en proteínas de alta calidad nutricional y las posibilidades tecnológicas de su utilización. Actualmente su uso se extendió como fuente de aceite y de proteínas en distintos alimentos proteicos a América del Sur (principalmente Brasil) y Europa.

En la última década, las investigaciones sobre los plásticos derivados de la proteína de soja se han intensificado con resultados alentadores. Estos materiales alternativos provienen de materias primas renovables y sostenibles a diferencia de los plásticos convencionales hechos de petróleo. Los plásticos de proteína de soja tienen el objeto adicional de ser biodegradable y biocompatibles, haciéndolos fuertes candidatos para el uso médico, con dispositivos de administración de fármacos e implantes.



Figura 1.9. (a) Vainas verdes de Soja en la mata. (b) Vainas secas de Soja listas para su recolección.

En Febrero del 2016, el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) estimó que la Producción Mundial de Soja 2015/2016 será de 320.51 millones de toneladas, cerca de 1.5 millones de toneladas más de lo estimado el mes pasado.

La Producción Mundial de Soja del año anterior fue de 318.8 millones de toneladas. Los 320.51 millones de toneladas estimados en el año 2016 podrían significar un incremento de 1.71 millones de toneladas o un 0.54% en la producción de soja alrededor del mundo. Estados Unidos producirá este año 106,954,000 toneladas métricas, frente a China que producirá 12,000,000, por detrás de Brasil o Argentina entre otros.

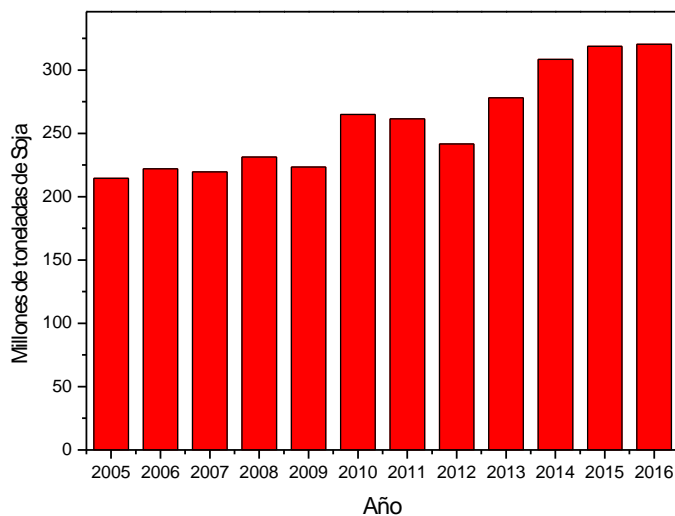


Figura 1.10. Histograma de la producción mundial de Soja desde el año 2005 hasta el año 2016 en millones de toneladas.

Los pellets y las harinas se destinan fundamentalmente a la alimentación del ganado. La proteína de soja se genera como un subproducto de la industria aceitera.

La composición global de la soja y de alguno de sus derivados puede observarse en la tabla. La soja está constituida por entre un 48 y 50% de proteínas, 20% de lípidos y 4-10% de agua, minerales, vitaminas y otros componentes minoritarios entre los que se incluyen inhibidores de proteasas, compuestos fenólicos, lectinas, saponinas y fitato, etc.



Producto	Energía (kcal/100g)	Humedad (g/100g)	Proteínas (g/100g)	Lípidos (g/100g)	Carbohidratos (g/100g)	Minerales (g/100g)
Semillas de soja	327	8,49	37,6	18,3	6,29	4,69
Batido fermentado de soja	82,4	85,9	5	5,2	3,9	-
Aislado de proteínas de soja	388	5,9	79,1	3,0	7,5	4,50
Harina de soja	370	9,10	37,30	20,60	3,10	4,40
Leche de soja	52	88,7	3,50	1,84	5,76	0,48
Tofu	83	84,6	8,84	4,78	1,88	0,72
Brotos de soja	50	85,6	6,05	1,03	4,68	0,80

Tabla 1.3. Composición nutricional de la soja y algunos de sus derivados.

La semilla de soja tiene un contenido de proteína del 38-44 %, que es mayor que en otras leguminosas y mucho mayor que en los cereales. Esto unido al buen perfil de aminoácidos aumenta su valor como alimento y es una de las razones de su importancia económica.



Figura 1.11. Tamaño del grano de semilla de soja.

A menudo, la industria de la alimentación utiliza aislado de proteína de soja (SPI) como un ingrediente inicial para muchos productos alimenticios. En los aislados de soja contiene al menos 90% de

---

proteína. La proteína se extrae a través de diferentes métodos, desde el tradicional como la electro-acidificación hasta ultrafiltración e incluso combinando la electro-acidificación y la ultrafiltración.

La globulina 7S,  $\beta$ -conglucina, es una glicoproteína formada por un trímero (un oligómero con tres monómeros) que combina las tres subunidades posibles subunidades  $\alpha$  ( $\approx 72$  kDa),  $\alpha'$  ( $\approx 68$  kDa) y  $\beta$  ( $\approx 52$  kDa) pudiéndose combinar de 7 formas distintas: ( $\alpha'\beta_2$ ,  $\alpha\beta_2$ ,  $\alpha\alpha'\beta$ ,  $\alpha_2\beta$ ,  $\alpha_2\alpha'$ ,  $\alpha_3$  y  $\beta_3$ ). A diferencia de la 11S no posee puentes de disulfuro y posee bajo contenido en aminoácidos azufrados y triptófano.

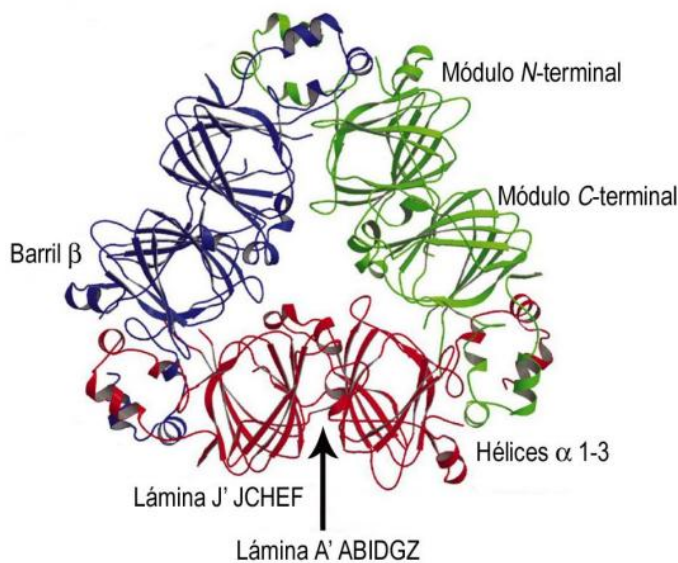


Figura 1.12. Estructura del trímero de la globulina 7S de soja ( $\beta$ -conglucina). Los monómeros se muestran en rojo, verde y azul. Cada monómero se divide en dos módulos, y cada uno tiene un barril  $\beta$  y se extiende hasta formar distintas hélices  $\alpha$ . Cada barril contiene una lámina  $\beta$  mayor formada por los residuos A' ABIDGZ y una lámina  $\beta$  menor constituida por J' JCHEF.

---

Los pesos moleculares de 7s y 11s globulinas se han informado de que se 150-200 y 300-400 kDa, respectivamente. Las globulinas de soja presentan transiciones térmicas a temperaturas muy diferentes, mientras la 7S comprende las temperaturas de 70 a 75°C, las 11S lo muestra a valores superiores a 94°C. Sin embargo, el calentamiento a estas temperaturas no supone cambios conformacionales muy fuertes, esto sugiere que el principal motivo, el  $\beta$ -barril, de estas proteínas es una estructura muy estable.

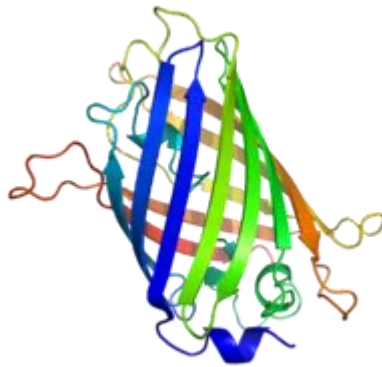


Figura 1.13. Imagen tridimensional de la estructura supersecundaria barril- $\beta$  con estructuras  $\beta$  orientadas de forma antiparalela entrecruzándose entre sí.

La globulina 11S presentes en los aislados de soja, está organizada en hexámeros y se caracteriza por ser soluble en soluciones salinas de alta fuerza iónica y pH neutro, teniendo masas moleculares aparentes entre 300 y 360 kDa. Los hexámeros están formados por subunidades de masa molecular aproximada entre 50 y 70 kDa que se mantienen unidas por interacciones no covalentes. Cada una de las subunidades, a su vez, está conformada por un polipéptido ácido de masa molecular aproximada 30 kDa y un polipéptido básico de alrededor de 20 kDa.

---

Esos polipéptidos se encuentran unidos por un enlace disulfuro, cuya posición ha sido conservada entre las distintas globulinas 11S.

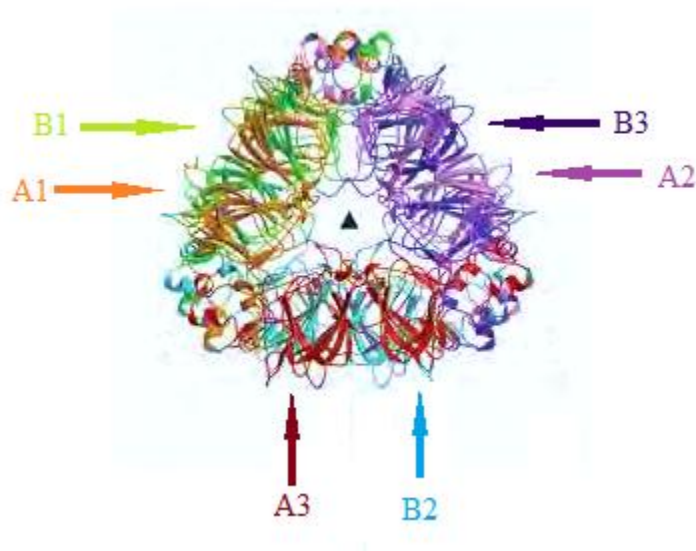


Figura 1.14. Estructura del homohexámero de la globulina 11S (Adachi, Kanamori y col., 2003). Los seis protómeros de la glicinina hexamérica se muestran en: naranja (A1), lila (A2), rojo (A3), verde (B1), celeste (B2), morado (B3).

La presencia de altas proporciones de ácido glutámico y aspártico en comparación a otras proteínas hace que las globulinas de la soja sean más hidrofílicas que las proteínas globulares encontradas en otras proteínas como por ejemplo el gluten de trigo. Los grupos sulfhidrilo y los enlaces de disulfuro de la globulina 7s son cero y dos por molécula, respectivamente. Por el contrario, la globulina 11S tiene dos grupos sulfhidrilo y 20 enlaces disulfuro por molécula.

La proteína de soja se utiliza como material plástico desde al menos finales de los años 30. Brothier y McKinney estudiaron la mezcla de soja con formaldehído-endurecido y resina fenólica, obteniendo plásticos

---

con baja absorción de agua. El formaldehído es el agente de reticulación más eficaz, ya que mejora la resistencia a la rotura, el límite elástico, la elongación y el módulo de Young del bioplástico. Sin embargo, el formaldehído es un carcinógeno que presenta problemas de salud y ambientales. Como agente de reticulación alternativo se ha estudiado el furfural, puede lograr mejoras en la resistencia mecánica como el formaldehído, aunque en menor grado que el formaldehído.

Los métodos más utilizados para la obtención de bioplásticos de soja han sido la extrusión y la compresión, con aditivos para favorecer los entrecruzamientos o sin ellos. También se ha podido estudiar como varían las propiedades mecánicas y dinámicas de los bioplásticos en función de los diferentes plastificantes como el agua, el glicerol o el metil glucósido.

---

### **1.3. ALBÚMINA DE HUEVO**

En la industria alimentaria, el mayor número de aplicaciones es con la yema del huevo en comparación con la de la clara del huevo, esto lleva a tener excedentes de albumen de huevo en las industrias dedicadas a la separación de las partes del huevo como las de Norte América. En un esfuerzo para darle salida a este producto, han sido explorados en diversos estudios, la capacidad de la clara de huevo como material para formar films y recubrimientos comestibles.

La clara de huevo es un sistema complejo formado por una solución de proteínas globulares, donde la ovoalbúmina constituye más de la mitad de las proteínas contenidas.

En la siguiente tabla veremos reflejado las principales proteínas de la clara del huevo así como sus composiciones, su porcentaje en albumen, punto isoeléctrico, peso molecular y temperatura de desnaturalización.

Proteína	% en albumen	pI	MW (kDa)	T <sup>a</sup> desnaturalización (°C)
Ovalbúmina	54	4,5	44,5	84,0
Ovotransferrina	12,0	6,1	77,7	61,0
Ovomucoide	11,0	4,1	28,0	77,0
Ovomucina	3,5	4,5-5,0	5,5-8,3	ND
Lisozyma	3,4	10,7	14,3	75,0
G2 Globulina	4,0	5,5	49,0	92,5
G3 Globulina	4,0	5,8	49,0	ND
Avidina	0,05	10,0	68,3	ND

Tabla 1.3. Proteínas presentes en la clara del huevo, con su punto isoeléctrico, peso molecular y temperatura de desnaturalización.

Entre todas las proteínas reflejadas, la ovalbúmina es la única que presenta grupos sulfhidrilos libres (SH), otras proteínas como la ovotransferrina, ovomucide o la lisozyma también tienen presencia de azufre, pero como puentes de disulfuro (S-S). Los puentes de disulfuro son considerados importantes para la formación de films para las proteínas con aminoácidos de cisteínas y/o cistina.

La ovalbúmina es la mayor proteína en las claras de huevos aviar, siendo además una de las primeras proteínas aisladas. Es una glicoproteína con una masa molecular relativa de 45kDa, con un valor de punto isoeléctrico de 4,5.

---

La secuencia de aminoácidos en la ovalbúmina en la clara de huevo comprende 386 aminoácidos. La secuencia incluye 6 cisteínas con un puente de disulfuro entre los residuos de Cys74 y de Cys121 (Thompson, 1978), estando el amino terminal de la proteína acetilado (Narita 1962), no teniendo ningún clásico N-terminal de secuencia típica, a pesar de ser una proteína secretora.

La albúmina de huevo, es una proteína utilizada anteriormente en films de clara de huevo por métodos físico-químicos y como recubrimientos de productos alimenticios utilizando como plastificantes glicerina, sorbitol o polietilenglicol entre otros. La conversión de los grupos sulfhidrilos a enlaces de disulfuros facilita la formación de films (Handa y col. 1999).



---

## 1.4 Clasificación de los polímeros

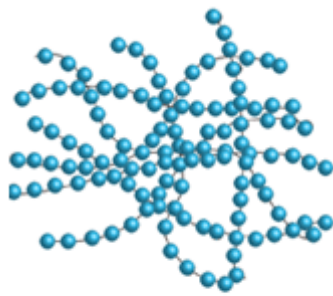
Los polímeros se clasifican de varias formas distintas: según la síntesis de sus moléculas, según la estructura de las macromoléculas, según el tipo de mecanismo de enlace que muestren o de acuerdo a la familia química a la que pertenezcan. Una mejor manera de describir los polímeros es en función de su comportamiento mecánico y térmico.

### 1.4.1. Termoplásticos

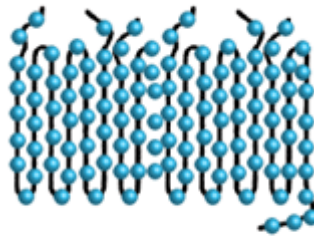
Los polímeros cuyas macromoléculas constan de cadenas lineales o ramificadas, que mantienen su cohesión mediante fuerzas intermoleculares, se llaman termoplásticos. Su intensidad depende, entre otros, del tipo y número de ramificaciones, o cadenas laterales. El concepto termoplástico deriva de las palabras *thermos* (=calor, cálido) y *plastos* (=moldeable, dúctil), ya que los termoplásticos ven reducidas sus fuerzas intermoleculares por efecto del calor, con lo que se vuelven moldeables.

### 1.4.2. Polímeros amorfos y cristalinos

Los términos cristalino y amorfo se utilizan normalmente para indicar regiones ordenadas y desordenadas. En estado sólido algunos polímeros son completamente amorfos, otros semicristalinos y, dependiendo de las condiciones de cristalización, un polímero con capacidad de cristalizar puede ser amorfo o semicristalino. Con frecuencia se utiliza el término cristalino en lugar de semicristalino, aunque ningún polímero es completamente cristalino.



Termoplástico amorfo



Termoplástico cristalino

Figura 1.15. Sistema amorfo (A) y cristalino (B).

En los plásticos amorfos, las cadenas moleculares no tienen orden. Forman tirabuzones, se retuercen o se enrollan al azar. Los plásticos amorfos se pueden identificar fácilmente, ya que son transparentes en ausencia de cargas y pigmentos.

En algunos plásticos, se forman regiones cristalinas, en las cuales las moléculas adoptan una estructura muy ordenada.

Aunque los plásticos tienen esqueletos de carbono, algunos de ellos cristalizan y otros quedan amorfos.

### 1.4.3. Plásticos reticulados

Además del grupo de los termoplásticos existen otros grupos de plásticos en los que las moléculas están unidas entre sí como en una red (por puentes o enlaces). Estos enlaces en forma de red (o de puente) también se llaman puntos de entrecruzamiento, y los materiales que resultan se llaman plásticos reticulados. Los grupos se diferencian entre sí por el número de puntos de entrecruzamiento y, según esto, se

---

clasifican en elastómeros y termoestables. Las moléculas de estos materiales no están por tanto unidas sólo mediante enlaces intermoleculares sino también a través de enlaces covalentes.



Figura 1.16. Tipos de polímeros según sus entrecruzamientos, termoplástico, plástico reticulado A) Elastómero y B) Termoestable.

#### 1.4.4. Elastómeros

Los elastómeros presentan moléculas distribuidas sin orden, con pocos entrecruzamientos. Este grupo de plásticos se caracteriza pues por un grado de reticulación bajo.

A temperatura ambiente los elastómeros se comportan como el caucho. Debido a los entrecruzamientos entre las diversas cadenas moleculares, éstas disponen sólo de una movilidad limitada. Tal como sucede con los enlaces covalentes de las macromoléculas, los enlaces covalentes que configuran los puentes únicamente pueden liberarse por medio de temperaturas muy altas, y tampoco vuelven a formarse una vez descende la temperatura. Por consiguiente, los elastómeros no son ni fundibles ni solubles.

---

Lo que sí pueden hacer hasta cierto punto los elastómeros es hincharse, puesto que existen pocos puntos de entrecruzamiento y las moléculas pequeñas, como el agua, pueden introducirse entre sus moléculas.

#### **1.4.5. Termoestables**

Otro grupo lo constituyen los termoestables, que también poseen una estructura desordenada de cadenas moleculares. En comparación con los elastómeros, no obstante, contienen un número considerablemente más elevado de puntos de entrecruzamiento entre las cadenas moleculares. Los plásticos que están compuestos por macromoléculas con este grado de reticulación tan elevado se denominan termoestables.

A temperatura ambiente estas moléculas altamente reticuladas son muy duras y rígidas, pero al mismo tiempo frágiles (sensibles a golpes) y, frente a los termoplásticos, tienden a reblandecerse mucho menos por la acción del calor. Tal y como sucede con los elastómeros, no son fundibles y, en este caso, tampoco hinchables, por causa de la fuerte reticulación.

#### **1.4.6. Temperatura de transición vítrea**

A temperatura ambiente, las moléculas de los plásticos amorfos están en movimiento, pero dicho movimiento es limitado.

A medida que se calienta un material amorfo, aumenta el movimiento relativo de las moléculas. Cuando el material alcanza cierta temperatura, pierde su rigidez y queda correoso. La temperatura se

---

define como la temperatura de transición vítrea,  $T_g$ , también suele denominarse transición  $\alpha$ ,  $T_\alpha$ ; así a las transiciones más pequeñas se las denomina  $T_\beta$ ,  $T_\gamma$  etc. en orden de temperatura decreciente. Se puede considerar que por debajo de esta temperatura los movimientos de los segmentos de la cadena están prácticamente “congelados” mientras que, al llegar a dicha temperatura, comienzan los movimientos moleculares de largo alcance, es decir, de un número amplio de segmentos de cadena lo que, tiene una gran influencia en las propiedades del material. A menudo, la temperatura de transición vítrea se registra como un intervalo de temperaturas, ya que la transición no se produce a una temperatura específica.

Si se estudian las propiedades de los polímeros amorfos en función de la temperatura, se observa que existe una temperatura o, más bien, una región relativamente estrecha de temperaturas, en la que se manifiesta un fuerte cambio de las propiedades físicas y mecánicas. Por encima de esta región de temperaturas el polímero es blando; se comporta como un líquido más o menos viscoso con propiedades elásticas semejantes a los cauchos, mientras que por debajo de ella el polímero es duro, rígido y quebradizo con propiedades análogas a las de los vidrios. Otras propiedades como el volumen, la capacidad calorífica, la viscosidad, el índice de refracción, etc., también cambian cuando el material pasa por la región de temperaturas de la transición vítrea.

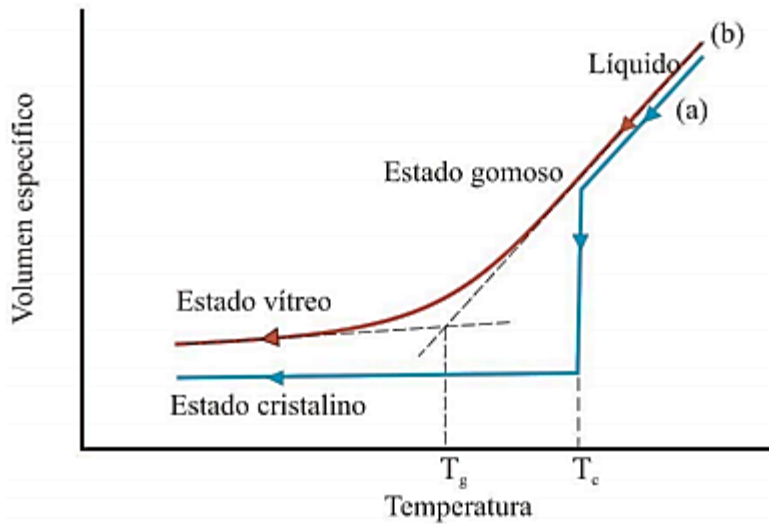


Figura 1.17. Variación del volumen específico en función de la temperatura para un polímero cristalino (rojo) y un polímero amorfo (azul).

Si se mide el volumen específico de una muestra en función de la temperatura, se observa que por encima y por debajo de la transición vítrea hay una variación lineal de dicho volumen específico con la temperatura. Por lo contrario, en la vecindad de la transición hay un cambio de pendiente. Este cambio de pendiente ocurre en una zona de varios grados. La  $T_g$  se toma normalmente como el punto en el que las extrapolaciones de las dos líneas se encuentran.

Los plásticos cristalinos son difíciles de obtener como materiales completamente cristalinos, en realidad contienen regiones cristalinas y regiones amorfas, obteniéndose materiales semicristalinos. Por tanto, presentan dos cambios al ser calentados. Cuando la temperatura alcanza un valor suficiente, las regiones amorfas se alteran desde un estado similar al cristal flexible. A medida que continúa elevándose la temperatura, la energía desorganiza las regiones cristalinas haciendo

---

que todo el material adopte la forma de un líquido viscoso. La transición se produce en un intervalo de temperaturas limitado.

#### **1.4.6.1. Factores que afectan a la transición vítrea**

Como ya hemos mencionado, la  $T_g$  marca el comienzo de los movimientos coordinados de largos segmentos de la cadena polimérica. Por tanto, aquellos factores que incrementan la energía requerida para el comienzo de tales movimientos moleculares aumentan la  $T_g$  y aquellos que la hacen decrecer rebajan la  $T_g$ .

##### **1. Influencia de la naturaleza química**

La movilidad de las cadenas poliméricas está afectada básicamente por las barreras de rotación en torno a los enlaces de la cadena principal de la macromolécula. Las barreras de rotación a su vez, están condicionadas por el tamaño de los grupos que forman dicha cadena principal y por los sustituyentes que penden de ella. Polímeros como el polietileno tienen facilidad de rotación alrededor de los enlaces de la cadena principal, mientras que la introducción de grupos más voluminosos y rígidos, como el grupo fenilo, resta flexibilidad a la cadena.

En cuanto a los sustituyentes laterales, la  $T_g$  aumenta al aumentar el volumen de los sustituyentes si se trata de grupos rígidos, como por ejemplos fenilos, pues dichos grupos impiden la rotación de la cadena principal. Si el grupo R que pende de la cadena principal es un grupo flexible se aprecia un comportamiento justamente al contrario; cuanto más largo es el sustituyente más baja es la temperatura de la transición,

---

ya que al ser flexibles y tener facilidad de rotación, dificultan el empaquetamiento de las cadenas con lo que se aumenta el volumen libre del material, ocasionando el nombrado descenso de  $T_g$ . Otro aspecto importante, es la polaridad del grupo R ya que tienden a elevar la  $T_g$  más que los grupos no polares de tamaño equivalente. Estos grupos conducen a la formación de uniones más o menos estables entre la maraña de cadenas, dificultando en mayor grado la movilidad de las mismas.

## **2. Efecto de la presión**

Dentro del esquema del volumen libre, si uno considera lo que ocurre cuando un polímero está en estado líquido a una  $T > T_g$  y se ejerce sobre él una presión, es fácil predecir que, como consecuencia de ello, el volumen libre debe disminuir. Por tanto, si el volumen libre disminuye, el polímero está a esa temperatura más cerca de su  $T_g$ . Dicho en otras palabras, un aumento de presión disminuye el volumen libre de un polímero y aumenta su  $T_g$ .

## **3. Efecto de diluyentes o plastificantes.**

### **1.4.7. Propiedades ópticas, transparencia.**

Por transparencia o grado de transmisión de la luz entendemos la relación entre la intensidad de luz transmitida sin desviación y la intensidad de la luz incidente.

Los materiales amorfos son transparentes, el empaquetamiento al azar de las moléculas no causa una difracción muy importante de la luz, permitiendo entonces una buena transparencia y una transmitancia a la



---

luz que puede ser superior al 90%. Esto corresponde a un grado de transmisión de 0,9, lo que significa que el 10% de la luz incidente se pierde en absorción y reflexión.

<b>Material</b>	<b>Transparencia (%)</b>
Policarbonato	72-89
Poli(metacrilato de metilo)	92
Vidrio	90

Tabla 1.4. Porcentaje de transparencia para diferentes materiales.

Por el contrario, los polímeros semicristalinos presentan regiones cristalinas muy ordenadas que desvían la luz considerablemente, las zonas cristalinas dispersan la luz, evitando así su libre transmisión, dando lugar a translucidos u opacidad.

---

## 1.5. Procesos de moldeo

Los procesos de moldeo sirven para convertir resinas, polvo, pelets y otras formas de plásticos en productos útiles. Una característica común a todos ellos es la necesidad de aplicar una fuerza. Así, el tratamiento de polvos y granzas necesita bastante presión mientras que conducir resinas líquidas hasta los moldes exige mucha menos fuerza que hacer circular granzas fundidas, en cuyo caso es fundamental cierto grado de presión.

Existen varios tipos de moldeo termomecánico, en este trabajo describiremos las más utilizadas, la extrusión, inyección y el moldeo por compresión.

### 1.5.1. Moldeo por extrusión

El término extrusión procede de la palabra latina *extrudere*, compuesta por el prefijo *ex*, que significa fuera, y la raíz *trudere*, empujar.

En el moldeo por extrusión se utiliza un transportador de tornillo helicoidal. El polímero es transportado desde la tolva, sistema de alimentación, a través de la cámara de calefactora, hasta la boca de descarga, en una corriente continua. A partir de gránulos sólidos, el polímero emerge de la matriz de extrusión en un estado blando.

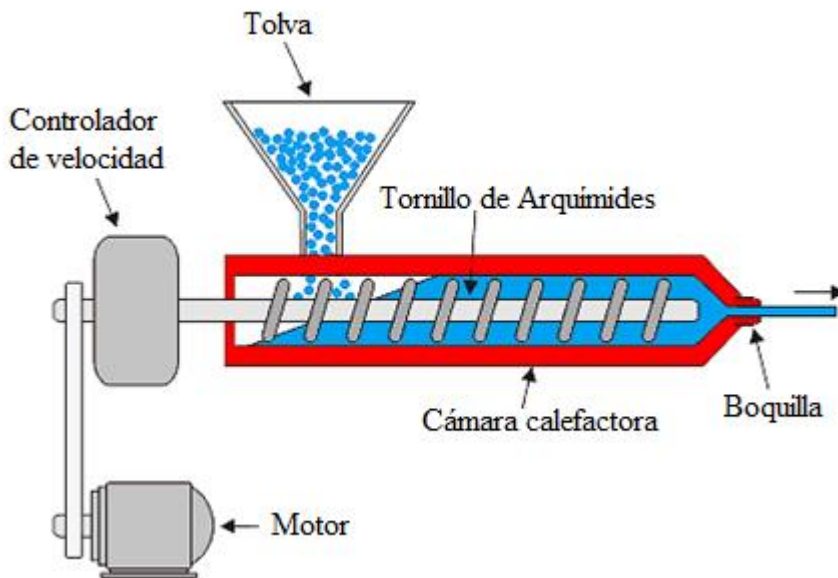


Figura 1.18. Sección transversal de un equipo de extrusión de tornillo, con indicación de sus elementos.

El polímero fundido (o en estado ahulado) es forzado a pasar a través de una boquilla, por medio del empuje generado por la acción giratoria de un husillo (tornillo de Arquímedes) que gira concéntricamente en una cámara a temperatura controlada, con una separación milimétrica entre ambos elementos. El material polimérico es alimentado por medio de una tolva en un extremo de la máquina y debido a la acción de empuje se funde, fluye y mezcla en el cañón y se obtiene por el otro lado con un perfil geométrico preestablecido, el proceso es continuo. Posteriormente se corta en la medida adecuada.

Los tornillos se caracterizan por su relación  $L/D$ , los más cortos suele tener una relación 16:1, es decir, 16 mm de diámetro y 1000 mm de

---

longitud, éstos suelen ser apropiados para extruir perfiles; en cambio, los largos, de hasta 40:1, mezclan mejor los materiales.

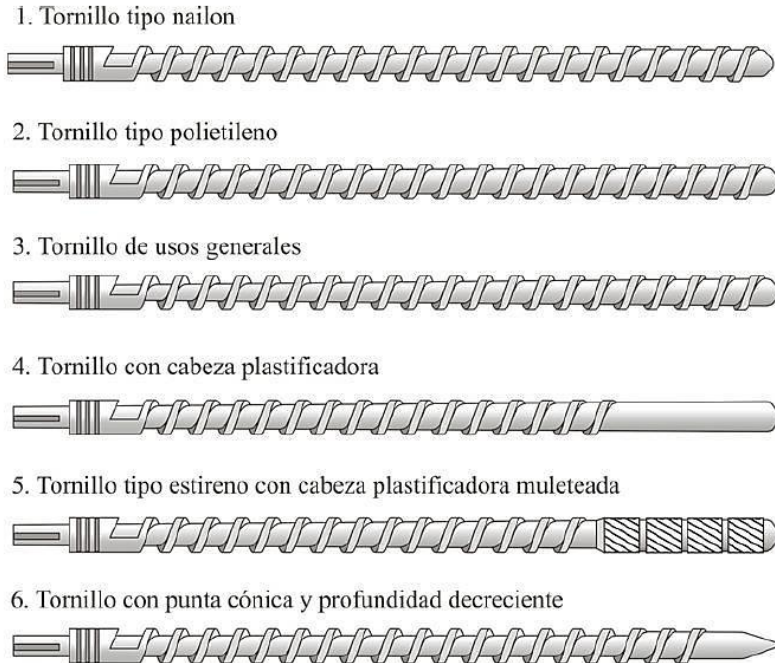


Figura 1.19. Diseño de tornillos de extrusora típicos

Graiver *et ál.* en la extrusión de una masa de soja con glicerina descubrió que tronillos con grandes bloques de amasado producía mayores cizallas sobre la masa obteniendo mezclas termoplásticas con buenas propiedades mecánicas.

Los procesos de extrusión son enormemente variados, se clasifican en función de los principales tipos de productos: extrusión de perfiles, extrusión por tubos, extrusión de lámina, extrusión de películas, calandro, extrusión de película soplada, extrusión de filamentos, y

---

recubrimiento por extrusión y revestimiento de cables, papel, tela, cartón, plástico y hojas de metal.

### **1.5.2. Moldeo por inyección**

El moldeo por inyección constituye uno de los principales procedimientos para convertir plásticos en productos útiles. La lista de objetos cotidianos que se obtienen por moldeo por inyección es infinita: aparatos de televisión y vídeo, pantallas de ordenadores, CD, gafas, cepillos de dientes, calzado deportivos, bolígrafos...

El moldeo por inyección es apropiado para todos los termoplásticos con la excepción de los fluoroplásticos de politetrafluoroetileno, las poliimididas, algunos poliésteres aromáticos y ciertos tipos especiales. En las máquinas de moldeo por inyección, los materiales peletizados o granulados adsorben suficiente calor para facilitar su fluidez, lo que permite la inyección del plástico caliente en un molde cerrado, en el que se crea la forma deseada. Cuando se enfría o una vez se ha producido una transformación química, se extraen las piezas del molde.

El moldeo por inyección por inyección está muy extendido, ya que permite insertos de metal, altos índices de productividad y control del acabado superficial con la textura deseada y una buena precisión en las dimensiones. Para la mayoría de los termoplásticos se pueden triturar y volver a utilizar el material sobrante, no ocurre lo mismo en el caso de las proteínas, ya que el aporte de calor y presión durante el moldeo produce cambios estructurales irreversibles.

---

Una inyectora industrial consta de dos secciones principales (Morton-Jones):

- La unidad de inyección: se alimenta la inyectora de gránulos por la tolva de alimentación, pasan a un tubo recubierto por placas calefactoras a la temperatura deseada, donde el plástico se funde y por el movimiento de un tornillo giratorio que se encuentra en el centro del tubo, el plástico va avanzando hacia el molde. El extremo de salida está sellado por una válvula, y el tornillo acumula una reserva, o “carga” de material fundido frente a él. Cuando se completa esta etapa, abre la válvula de sellado, el tornillo detiene su giro y se le aplica presión que lo convierte en un empujador mecánico o pistón que impulsa el material fundido acumulado, a través de la boquilla conectora hacia el molde, que se encuentra en la unidad de cierre. Esta es la etapa de inyección del procedimiento.

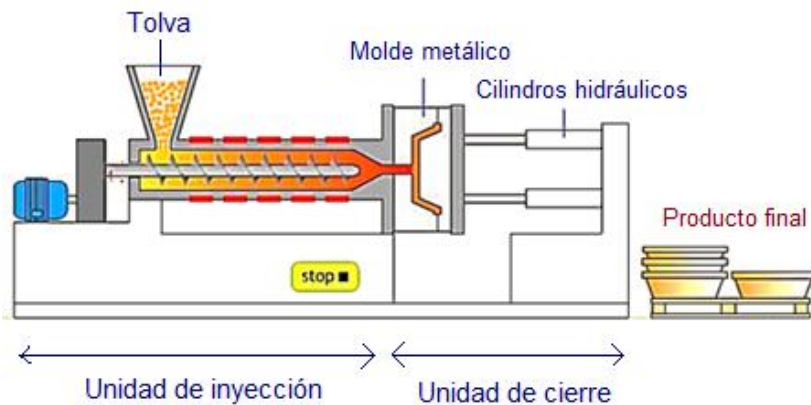


Figura 1.20. Sección transversal de una máquina de molde por inyección.

- La unidad de cierre, o prensa, que aloja al molde: es básicamente una prensa que se cierra con un sistema de presión hidráulico o mecánico. La fuerza de cierre disponible debe ser bastante grande para contrarrestar la resistencia que genera el material fundido cuando se inyecta. La presión que se aplica a este material fundido, puede ser alrededor de 15Mpa, de modo que para las piezas moldeadas que tienen una gran área se requiere bastante fuerza. Se usan máquinas más grandes, que tienen fuerza de varios miles de toneladas.

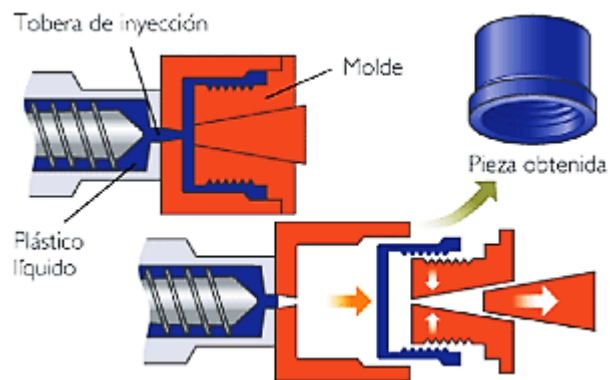


Figura 1.21. Sección transversal de cierre donde se aloja el molde.

En nuestro caso, la inyectora utilizada es a escala laboratorio, su funcionamiento es muy similar pero difiere en algunas partes.

- La unidad de inyección: la masa de nuestro bioplástico es alimentado por la entrada del cilindro o cámara de inyección termostático, recubierto de una manta

---

calefactora. A través de un pistón se aplica presión que impulsa el material fundido a través de la boquilla conectora hacia el molde. Al igual que antes, esta es la etapa de inyección del moldeo.

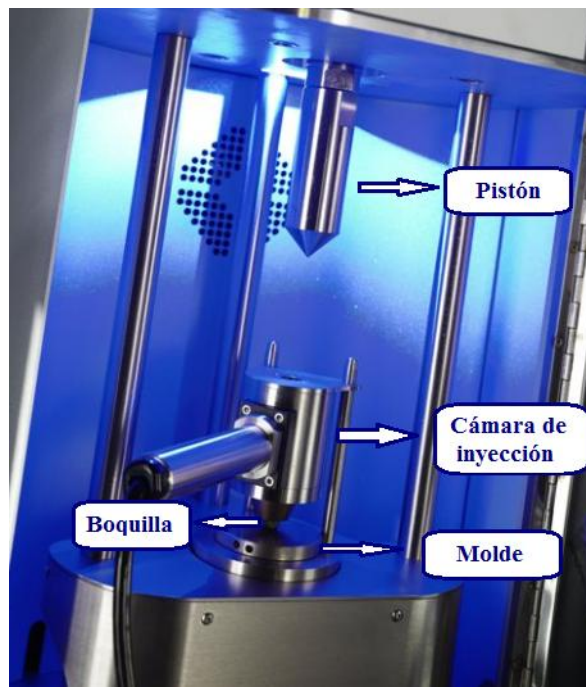


Figura 1.22. Inyectora Haake Multijet

- La unidad de cierre donde se aloja el molde: el molde se conecta con el cilindro a través de la boquilla. El molde se sujeta de la manera más simple, en dos mitades. Al igual que el cilindro se encuentra recubierto por una manta calefactora termostatizándolo. En esta segunda parte, la masa ya inyectada en el molde está sometida aún durante cierto tiempo a una presión igual o diferente a la etapa de inyección, a través del pistón.



---

A continuación se enumeran ocho ventajas de esta técnica (R&L).

1. Altos índices de productividad.
2. Posibilidades de aplicar cargas e insertos.
3. Moldeo de piezas pequeñas y complejas con márgenes de dimensiones ajustados.
4. Moldeo por inyección de más de un material (moldeo concurrente).
5. Las piezas no requieren prácticamente acabado.
6. Posibilidad de moler y volver a utilizar los desechos termoplásticos, excepto en las proteínas.
7. Facilidad para moldear espumas con estructura autopelable (moldeo por inyección reactiva).
8. Alto índice de automatización del proceso.

### **1.5.3. Moldeo por compresión**

Uno de los procesos más antiguos que se conocen es el moldeo por compresión, aparece descrito en bibliografía de principios del siglo XIX, aunque no comenzó a desarrollarse a escala industrial hasta 1908.

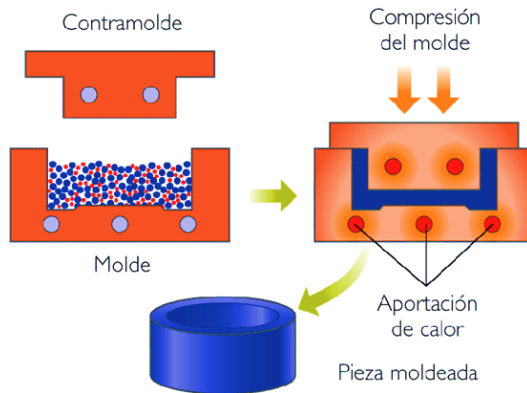


Figura 1.23. Sintetización de piezas de plástico mediante moldeo por compresión. 1) Carga del compuesto en el molde 2) Compresión y calentamiento del material  
3) Pieza moldeada.

En esta técnica se coloca el material plástico en una cavidad de molde y se forma por calor y presión. Por regla general, para esta forma de moldeo se utilizan compuestos termoendurecibles, aunque también se pueden usar termoplásticos. El calor y la presión fuerzan el material contra las superficies del molde. A continuación, una vez que el calor endurece la sustancia, se extrae la pieza del molde.

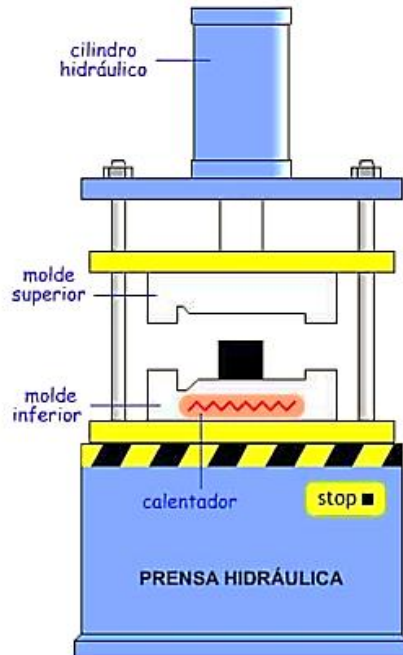


Figura 1.24. Prensa del moldeo por compresión con sus diferentes partes.

En este tipo de moldeo, el material suele estar precalentado y es colocado en la cavidad del molde abierto. El molde se cierra, se aplica calor y presión para forzar al material a entrar en contacto con todas las áreas del molde, mientras que el calor y la presión se mantiene hasta que el material de moldeo se ha curado. Cuando el proceso se emplea en resinas termoestables, éstos se encuentran en un estado parcialmente curado, ya sea en forma de pellets, masilla, o preformas. El moldeo por compresión es un método de alta presión, adecuado para el moldeo de piezas complejas, de alta resistencia con refuerzos de fibra de vidrio. Los compuestos termoplásticos, aunque en menor medida, también pueden ser moldeados por compresión con refuerzos de cintas unidireccionales, tejidos, fibras orientadas al azar o de hilos cortados.

---

### Ventajas del moldeo por compresión:

1. Pocos desperdicios
2. Costes de herramientas bajos
3. El proceso suele ser automático o manual
4. Las piezas son compactas y redondas
5. La colocación de varias cavidades no depende de un sistema de alimentación equilibrado.

### Inconvenientes del moldeo por compresión:

1. Dificultad para moldear piezas complejas
2. Necesidad de ciclos de moldeo prolongados
3. Imposibilidad de procesar piezas rechazadas
4. Dificultad para realizar rematado
5. Parte de las dimensiones de las piezas se controlan mediante la carga del material, no con la herramienta.

---

## 1.6. BIOPLÁSTICOS

### 1.6.1. Introducción

Los bioplásticos se utilizan como alternativa a los plásticos convencionales derivados de combustibles fósiles. Existen dos tipos diferentes de bioplásticos: biopolímeros y plásticos biodegradables.

El término biopolímero se utiliza para designar aquellos polímeros que se utilizan en productos biodegradables. La biodegradabilidad está unida a la estructura de la cadena del polímero; no depende del origen de las materias primas. Los criterios para designar plásticos o envases y embalajes apropiados para la recuperación orgánica se especifican mediante las normas EN 13432, EN 14995, ASTM D 6400 e ISO 17088. Por lo tanto, en el mercado hay materiales provenientes de recursos fósiles que son biodegradables según las normas y polímeros compuestos de biomasa resistentes a la biodegradación.

El prefijo “bio” en “biopolímeros” se utiliza como abreviatura de “derivado de biomasa” u “obtenido a partir de materias primas renovables”, por lo que el término biopolímero identifica polímeros que proceden de la materia orgánica derivada de los que están constituidos de organismos vivos y sus residuos.

Las proteínas tienen una larga historia como materiales poliméricos, empezaron usándose como resinas termoendurecibles y hoy en día los estudios se centran en la obtención de materiales termoplásticos que se puedan extruir y moldear mediante moldeo por inyección. En el año 1900, la producción de plástico se basaba principalmente en proteínas vegetales tales como la caseína en la leche, la zeína del maíz y la soja.

---

En años posteriores también se consideraron fuentes alternativas de origen animal como harina de plumas, las proteínas de pescado, proteínas de residuos animales, harina de cuerno, retazos de cuero, así como proteínas de residuos de algodón y lino. En la actualidad se utilizan para la medicina, agricultura, productos de higiene, calzados e incluso se ha llegado a producir un coche de fórmula 1 a base de zanahorias, soja y patatas.

Para que una proteína pueda comportarse como un polímero sintético, se requiere la cadena de proteína en una conformación extendida permitiendo así la formación de suficientes enlaces con la cadena. Con el fin de hacer esto, múltiples interacciones no covalentes y covalentes tienen que reducirse, lo que permite a las cadenas desenrollarse para posteriormente formar nuevas interacciones y entrecruzamientos. La estructura formada es sorprendentemente similar a la de polietileno cristalino o nylon tal y como se muestra en la siguiente figura.

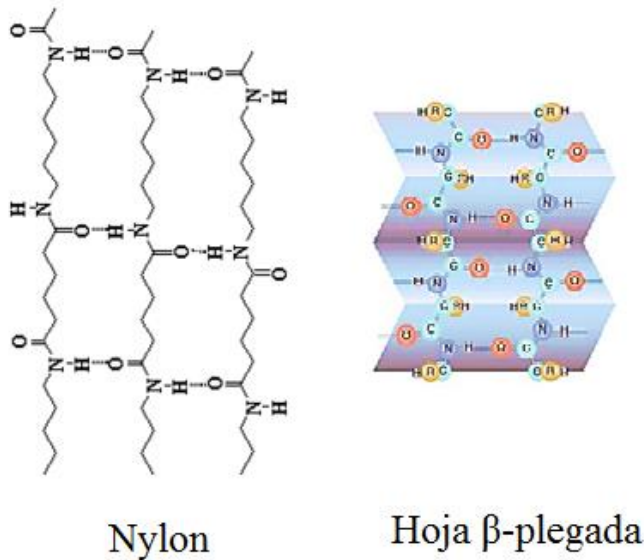


Figura 1.25. Estructura del nylon y de la hoja  $\beta$ -plegada de las proteínas.

---

Las propiedades de los biopolímeros derivados de proteínas dependerán, en gran medida, de la estructura primaria de la proteína. Es decir, la presencia y orden de los aminoácidos determinará las diferentes interacciones posibles. En la siguiente tabla, se muestran los contenidos de aminoácidos de un par de proteínas seleccionadas, que se utilizan a menudo para la producción de bioplástico proteicos. El conocimiento de esta composición es útil en la selección de plastificante, esto se discutirá más adelante.

	Albúmina de huevo	Suero	Caseína	Gelatina	Soja	Gluten de maíz	Gluten de trigo
<b>No polar</b>							
Alanina	6,6%	5,2%	2,9%	8,9%	4,2%	11,5%	2,4%
Cisteína	2,5%	2,2%	0,3%		1,3%	1,7%	2,1%
Glicina	3,6%	2,2%	2,1%	21,4%	4,1%	4,1%	3,1%
Isoleucina	6,0%	6,0%	5,1%	1,5%	4,8%	3,5%	4,0%
Leucina	8,5%	9,5%	9,0%	3,3%	8,1%	14,5%	6,8%
Metionina	3,6%	1,9%	2,7%	0,7%	1,3%	2,2%	1,8%
Fenilamina	6,0%	2,3%	5,1%	2,4%	5,2%	4,4%	4,9%
Prolina	3,8%	6,6%	10,0%	24,3%	5,1%	9,6%	13,7%
Triptófano	1,4%	2,2%	1,3%		1,3%	0,3%	1,0%
Valina	7,0%	6,0%	6,6%	2,2%	5,0%	4,6%	4,1%
<b>Polar</b>							
Serina	7,3%	5,4%	5,6%	3,6%	5,2%	5,5%	5,2%
Treonina	4,4%	6,9%	4,3%	2,1%	3,8%	3,8%	2,5%
Tirosina	2,7%	2,7%	5,6%	0,5%	3,8%	3,4%	3,8%
<b>Ácidos</b>							
Ácido Aspártico	8,9%	10,9 %	6,6%	6,0%	11,5%	5,5%	2,9%
Ácido Glutámico	13,5%	16,8 %	21,5%	10,0%	19,0%	20,3%	37,3%



---



---

	<b>Básico</b>						
Arginina	5,6%	2,5%	3,7%	7,8%	7,5%	2,2%	2,4%
Histidina	2,2%	2,0%	3,0%	0,8%	2,6%	1,5%	2,2%
Lisina	6,2%	8,8%	3,8%	4,5%	6,2%	1,4%	1,2%

Tabla 1.5. Composición porcentual de los aminoácidos presentes en diferentes proteínas de origen animal y vegetal.

Para que los bioplásticos proteicos sean comercialmente viables, tienen que ser procesados mediante un equipo capaz de procesar termoplásticos sintéticos. Los bioplásticos proteicos son a menudo frágiles y sensibles al agua. Las propiedades fisicoquímicas y las condiciones de procesamiento a menudo se rigen por las propiedades estructurales de la proteína, y por lo tanto sus propiedades de los materiales finales. Es bien sabido que el comportamiento viscoelástico de los polímeros amorfos o semicristalinos se puede dividir en cinco regiones; estos son los vidriosos, cuero, caucho y rubberyflow estados viscosos. La transformación de un estado a otro depende de la temperatura, mientras que a la temperatura a la que se produce el cambio de transformación depende de cada polímero.

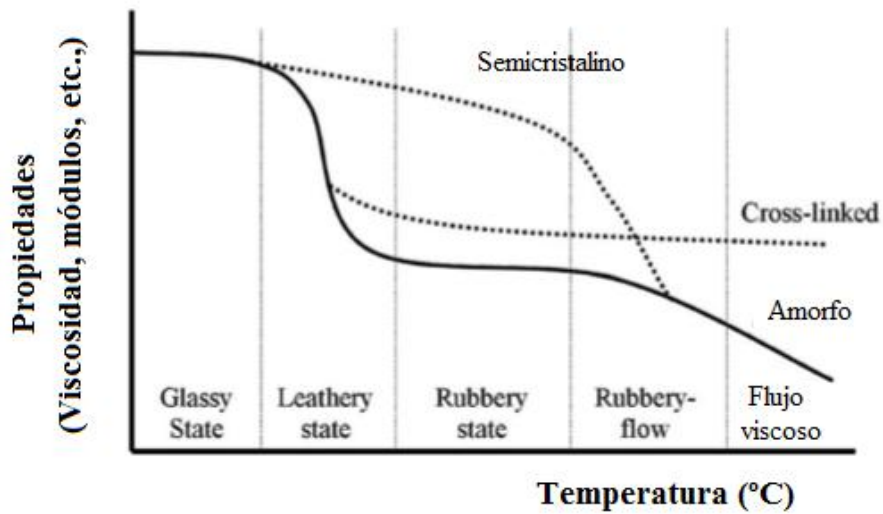


Figura 1.26. Diagrama

La mayoría de la literatura sobre los bioplásticos proteicos sugiere que el procesado se realice por encima del punto de reblandecimiento de la proteína, lo que implicaría una temperatura muy por encima de la  $T_g$ . Para materiales semicristalinos la relación de transición vítrea a la temperatura de fusión se da a menudo por:  $T_g = 0,6 T_m$ . En extrusión y moldeo por inyección los polímeros debido a la adición de calor del equipo tienen una masa fundida viscosa. Esto implica que las interacciones entre cadenas son suficientemente bajas para permitir el movimiento relativo de las cadenas, pero se requiere algún tipo de interacción para impartir cierto grado de resistencia a la fusión en el material, en los polímeros proteicos esta resistencia se obtiene por los entrecruzamientos de la cadena y las fuerzas de van der Waals.

La capacidad de plastificación de las proteínas depende de su transición vítrea del estado glassy al gomoso y de flujo viscoso. Estas transiciones se consiguen con aplicación de calor, de presión, cizalla, aditivos

---

químicos y plastificantes. Los residuos específicos de los aminoácidos (estructura primaria de proteínas) y la estructura inicial (estado natural de la proteína) de la proteína influirán en cada uno de estos factores.

Basándose en las estructuras de las proteínas y en los requisitos para el procesado termoplástico, se deben cumplir tres requisitos para el procesamiento:

- Rotura de los enlaces intermoleculares (no covalentes y covalentes) que estabilizan las proteínas en su forma nativa, mediante el uso de tratamientos químicos o físicos.
- Organizar y orientar las cadenas móviles en la forma deseada.
- Formación de nuevos enlaces intermoleculares e interacciones para estabilizar la estructura tridimensional.

Para cumplir estos requisitos, en la formulación típica del bioplástico proteínico se incluyen algunos o todos de los siguientes componentes:

- Plastificantes o una combinación de plastificantes para promover la capacidad de flujo.
- Aditivos reactivos para promover la reducción de reticulación, tal como sulfito de sodio o bisulfito de sodio.
- Aditivos tales como, pigmentos, conservantes (benzoato de sodio), agentes espumantes, agentes blanqueadores (peróxido de hidrógeno, carbonato de calcio, peróxido de bario, óxido de titanio, bisulfato de sodio) o agentes antiespumantes (aceite de pino).

- 
- lubricantes o auxiliares de extrusión, tales como aceite de soja, ácidos grasos y aceites vegetales, así como la sílice fundida y el hidróxido de amonio.
  - Extensores tales como fibras y arcilla, para mejorar las propiedades mecánicas.
  - Modificadores para impartir resistencia o afinidad con el agua.

La desnaturalización, el entrecruzamiento y la plastificación son probablemente los tres aspectos más importantes de procesamiento de las proteínas. Normalmente, las proteínas y los plastificantes se mezclan antes del termoprocesado, formándose una masa. El tipo y la cantidad de plastificante añadido pueden afectar a la temperatura de fusión y a la temperatura de la viscosidad de la masa. En general, el aumento de la cantidad de plastificante bajará la temperatura de fusión y la viscosidad de la mezcla.

### **1.6.2. La desnaturalización en la masa del bioplástico proteico.**

Durante el proceso de extrusión y de inyección, las proteínas se desnaturalizan y se transforma en un estado fundido. La procesabilidad implica la formación de una masa fundida viscosa, tal y como se encuentra con termoplásticos sintéticos. Sin embargo, esto no es exactamente así con las proteínas. La descomposición de proteínas se produce normalmente antes del ablandamiento o de la fusión, lo que implica la necesidad de plastificación. Los puentes de hidrógeno, las interacciones iónicas, interacciones hidrofóbicas y los enlaces covalentes de disulfuro se ven afectados durante la desnaturalización. No se debe confundir con la degradación, que es la pérdida de la

---

estructura primaria, o rotura de enlaces peptídicos covalentes. Las proteínas pueden reaccionar a la desnaturalización de tres maneras diferentes:

- Ausencia de alteración de su masa molecular a pesar del cambio en la forma. La procesabilidad de la proteína depende de su masa molecular y de su viscosidad en el intervalo de temperaturas del procesado. La masa molecular de la proteína debe ser lo suficientemente alta como para que la proteína se pueda considerar un polímero.
- Disociación definitiva de las subunidades de tamaño uniforme. No es seguro que la disociación o la despolarización de una proteína vaya siempre acompañada de desnaturalización.
- Agregación.

La desnaturalización puede tener varias consecuencias importantes, tales como aumento de la viscosidad de soluciones de proteínas, disminución de la solubilidad debido a la exposición de los grupos hidrófobos, aumento de reactividad de los grupos secundarios, sensibilidad alterada a la proteólisis enzimática y alterados propiedades tensioactivas. La desnaturalización expone grupos funcionales de las cadenas laterales de aminoácidos, introduciendo de este modo nuevas interacciones por medio de hidrófobo, hidrógeno o enlace iónico. Aunque algunos de estos efectos pueden ser vistos como negativos, desnaturalización y las consecuencias de los mismos es importante para el procesamiento de proteínas. La conformación de una molécula de proteína a menudo es importante para su aplicación industrial propuesto. Los cambios estructurales normalmente conducen a cambios en las propiedades funcionales de la proteína físico, químico o. El grado

---

de cambio en la estructura depende de la propia proteína, o de la estructura primaria, así como en el tipo y extensión de la desnaturalización.

El control de la desnaturalización es muy importante para la formación de bioplásticos. Ésta puede ser inducida mediante tratamientos físicos, químicos o biológicos, además podría ser reversible o irreversible. Los métodos físicos incluyen calefacción, congelación, la molienda y la presión. La desnaturalización puede ser inducida también mediante el empleo de agentes químicos tales como, disolventes, ajustadores del pH, y sales. Los métodos biológicos incluyen el uso de enzimas proteolíticas. La temperatura de desnaturalización de las proteínas depende de la secuencia de aminoácidos.

Las técnicas de procesado tales como la extrusión, el moldeo por compresión y el moldeo por inyección causan desnaturalización por el efecto combinado de presión y temperatura. La presión a menudo conduce a una reducción de la temperatura de desnaturalización, lo que mejora aún más la procesabilidad.

### **1.6.3. Desnaturalización térmica.**

Como ya hemos comentado, la estructura terciaria de una proteína se mantiene principalmente por los puentes de hidrógeno e interacciones no polares, que se interrumpen con la aplicación de calor. El aumento de calor conlleva un aumento de energía cinética haciendo que las moléculas vibren con tanta intensidad que los enlaces se rompan. Cuando estos enlaces se rompen, los aminoácidos de las cadenas se desenredan, dando lugar a la formación de nuevos enlaces entre los residuos de los aminoácidos de las cadenas separadas (interacciones

---

inter-moleculares). Este proceso se denomina agregación o coagulación. La rápida agregación no covalente se producirá precediendo a la lenta formación de los enlaces de disulfuro. La solubilidad de una proteína disminuye debido a la agregación inducida por calor, también conocido como gelificación térmica. En las proteínas que contienen residuos de cisteína, intercambio de los enlaces de disulfuro puede dar lugar a la reticulación. La capacidad para formar enlaces disulfuro durante el tratamiento térmico se considera a menudo un requisito previo para la formación de redes tridimensionales dentro de las industrias de la alimentación y de los materiales.

Tanto la agregación como la formación de enlaces de disulfuro durante la desnaturalización térmica son irreversibles.

La adición de ciertos productos químicos durante el tratamiento térmico reduce la estabilidad térmica de las proteínas, es decir, cataliza el proceso de desnaturalización. También pueden evitar la reformación de las interacciones entre las cadenas o el cambio de las propiedades finales del material a base de proteínas.

#### **1.6.4. Formación de la estructura viscoelástica**

##### **1.6.4.1. Agregación**

Como se ha comentado, la desnaturalización debe ser previa a la agregación entre las proteínas, ya que al interrumpir las interacciones, la agregación se promueve por la formación de nuevas interacciones intermoleculares, formando de este modo una red viscoelástica. Físicamente, esto se puede observar como una transición de una mezcla de proteínas en polvo a una pasta o sustancia parecida a masa. La agregación es difícil de controlar y depende de factores ambientales

---

tales como pH, fuerza iónica, composición del disolvente y la velocidad de calentamiento. El tiempo necesario para la agregación después de la desnaturalización, se refiere a menudo como el procesado, que por supuesto depende de la secuencia de aminoácidos y del tipo de proteína. Algunas proteínas no se agregan fácilmente después de su desnaturalización, como la zeína y la gliadina. . Otras proteínas tales como clara de huevo, el suero de leche o el caseinato de sodio son más propensos a la agregación y tienen tiempos de procesado cortos.

Jerez et al. han indentified tres regiones de par característicos cuando mezclado por fusión de trigo o albúmina de huevo con plastificantes. En la primera región, no se observó aumento del par motor significativa, correspondiente a una consistencia parecida a masa de la mezcla. En la segunda etapa, se observó un aumento dramático en el par, después de lo cual el par disminuye en la tercera etapa como resultado de la descomposición estructural. Para el caso de las proteínas del huevo, se obtuvo un material granular y heterogénea en el extremo de la tercera fase.

Otro factor a tener en cuenta es el efecto de la cizalla, éste puede producirse en los procesos de plastificación, ya que puede desnaturalizar las proteínas y también reorganizar las cadenas poliméricas.

La naturaleza de las proteínas en el estado de agregación puede ser el aspecto más importante con respecto a las propiedades del bioplástico formado. Se cree que las fuerzas que gobiernan las interacciones entre las moléculas de proteína para permitir la formación de agregados es la misma que mantienen las estructuras secundarias y terciarias en las moléculas individuales. Por lo tanto, el grado de los cambios



---

estructurales y alcance de las interacciones intermoleculares tras su procesado, podría influir fuertemente en las propiedades de los bioplásticos proteicos.

#### **1.6.4.2. Entrecruzamiento; *cross-linking*.**

El término de reticulación o *cross-linking* en las proteínas se refiere a las reticulaciones covalentes inter - e intramoleculares entre grupos funcionales. Estos enlaces covalentes juegan un papel importante en las propiedades químicas, funcionales y nutricionales de las proteínas. Las reacciones durante el procesado pueden provocar cambios en las interacciones ya existentes, así como la formación de otras nuevas. Durante el calentamiento, los enlaces de disulfuro se pueden escindir y posteriormente se pueden hacer reaccionar para formar enlaces cruzados intermoleculares. Esta característica se ha utilizado en las industrias de alimentos y de materiales para formar geles y adhesivos respectivamente. La velocidad de formación de reticulación se puede aumentar mediante despliegue la estructura nativa mediante la aplicación de alta presión, temperatura elevada, y de cizallamiento o mediante la adición de componentes que afectan a la calidad de disolvente.

Las proteínas que contienen pequeñas cantidades de lisina y cisteína será menos probable que contengan o formen reticulaciones covalentes, por lo que sólo requerirán la temperatura, la presión y un plastificante a fluir. En los casos en los que las proteínas contengan gran cantidad de cisteína y lisina se requerirá un agente reductor para romper reticulaciones covalentes. El entrecruzamiento se puede controlar mediante la adición de ciertos aditivos, tales como cisteína e iones de sulfito o por la acilación del grupo  $-NH_2$  final de la lisina. Si es

---

necesario, la reticulación se puede promover con aditivos tales como, L-cisteína, dialdehídos, y glioxal, dando lugar a un material que es dimensionalmente más estable y resistente al agua.

La formación de enlaces entrecruzados puede ser deseable en algunas aplicaciones, tales como en la producción de resinas termoestables. Los plásticos de proteínas basados en caseína y soja han sido producidos por reticulación con formaldehído desde 1930. La reticulación puede limitar la absorción de agua por la disminución del espacio molecular disponible para que las moléculas de agua penetren en el plástico proteico. La reticulación también puede aumentar la rigidez y resistencia, pero posiblemente podría evitar que el plástico a base de proteínas de ser biodegradable [30].

#### **1.6.4.3. Entrecruzamiento de cisteína.**

La cisteína se considera el aminoácido más reactivo y es el más fácil de modificar con una variedad de reactivos. Alta temperatura y aditivos químicos pueden inducir a la formación de disulfuro, y / o reorganización. Los enlaces de disulfuro pueden ser o bien inter o intramolecular. El grupo disulfuro es no reactivo y es estable en comparación con el grupo SH. Su estabilidad es la base de su principal función bioquímica, que es el mantenimiento de la estructura de la proteína.

En diferentes trabajos se han comparado los cambios de en la solubilidad, punto isoelectrico y color de diferentes proteínas al calentarse, entre las proteínas estudiadas se encuentran la leche en polvo, el aislado de suero de leche, el caseinato de sodio, la albúmina de

---

suero bovino, la albúmina de huevo y el gluten. Se observó que las proteínas con altos niveles de prolina e hidroxiprolina y bajos niveles de puentes de disulfuro resolubiliza después del calentamiento severo.

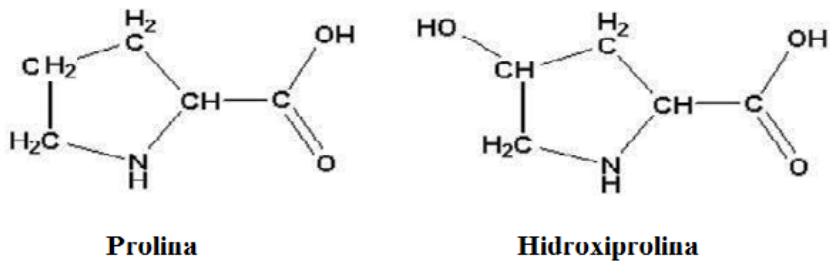


Figura 1.27. Estructura molecular de la Prolina y de la Hidroxiprolina con el grupo hidroxilo (-OH) en el 4° carbono del anillo.

Esto se atribuyó a la falta de enlaces disulfuro no covalentes formados durante el calentamiento. Se dedujo que los enlaces de disulfuro intramoleculares contribuyeron a la estructura compacta y a la asociación intermolecular que dio durante la agregación del calor. Durante el procesado, los entrecruzamientos de disulfuro juegan un papel importante en la formación de estructuras tridimensionales mediante la escisión y la reforma de los enlaces disulfuro. Por ejemplo, cuando la carne se calienta a entre 70-120°C se producen cambios en la textura que se atribuyen a la formación de enlaces de disulfuro. La formación de estos enlaces intermoleculares durante el calentamiento es uno de los requisitos previos para la agregación de las proteínas de los alimentos y la producción de bioplásticos. La velocidad de formación de los enlaces de disulfuro en la mayoría de las proteínas nativas es lenta pero la alta presión, una temperatura elevada, la cizalla o la adición de agentes reductores, favorece que las estructuras nativas de

las proteínas se desenrollen favoreciendo la reorganización y la formación de enlaces de disulfuro.

### 1.6.4.4. Lisina

En condiciones normales de reacción, los residuos de la lisina son los segundos más reactivos de los aminoácido en las proteínas, sin embargo, la forma protonada de la lisina no es reactiva. En condiciones alcalinas, se retira el protón, lo que da lugar a una lisina reactiva.

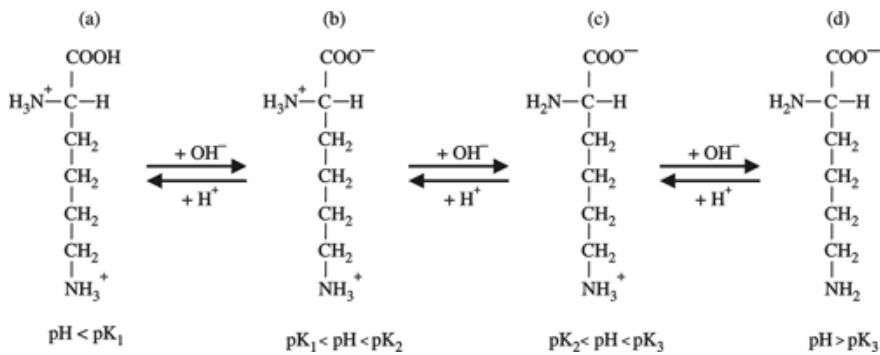
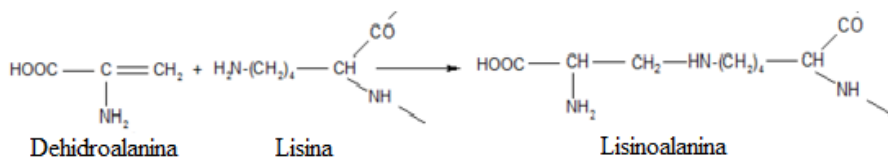


Figura 1.28. Protonación y desprotonación de los grupos reactivos del aminoácido lisina en función del pH del medio.

En estas condiciones, se puede producir la reacción entre los residuos de los reactivos de lisina y dehidroalanina, lo que lleva a la formación de enlaces formando la lisinoalanina. Estos enlaces covalentes que no son de disulfuro no se rompen a altas temperaturas.



---

Figura 1.28. Reacción de formación de la Lisinoalanina entre los reactivos Lisina y Dehidroalanina.

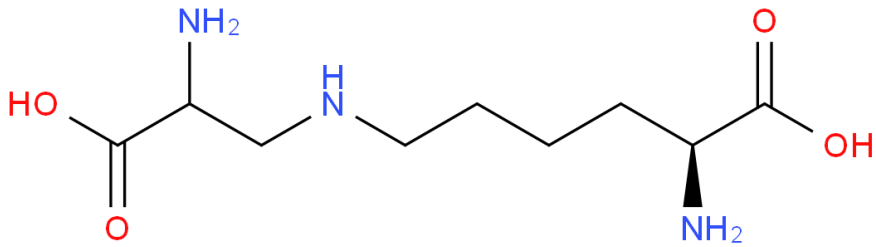


Figura 1.28. Estructura molecular de la lisinoalanina.

Su formación puede evitar que la masa fundida fluya durante el procesamiento termoplástico del bioplásticos proteicos.

Tratamientos térmicos severos de productos que contienen proteínas también pueden dar lugar a enlaces isopeptídicos, formados por la condensación del grupo  $\alpha$ -amino de residuos de lisina con el grupo amida de los residuos de asparagina o glutamina. Isopeptide la química de reticulación en sistemas de proteínas calentadas no ha sido muy bien estudiada, pero se ha demostrado que se producen en la albúmina de huevo climatizada, caseína, lacto-albúmina, lisozima, proteínas musculares y varios otros.

### 1.6.5. Procesos de plastificación.

Como ya vimos, la transición vítrea de un polímero es una función del movimiento molecular y de la estructura no polimérica. El movimiento de las cadenas de los polímeros se pueden describir en fundamentalmente en cuatro tipos de movimiento:

- Movimiento de traslación de la molécula completa

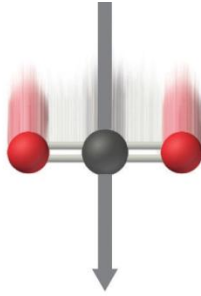


Figura 1.29. Movimiento de traslación en el espacio de una molécula.

- Movimiento largo cooperativa, lo que permite la flexión y desenrollado
- Movimiento cooperativo corto
- vibración molecular.

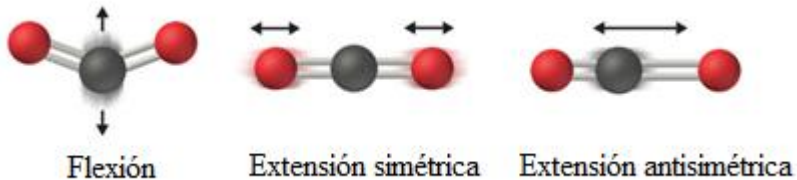


Figura 1.30. Movimientos de vibración molecular, flexión, tensión simétrica de los enlaces y tensión antisimétrica entre los enlaces de la molécula.

Sin embargo, la temperatura (temperatura de transición vítrea,  $T_g$ ) a la que esto ocurre depende de la estructura química del polímero de la siguiente manera:

- *flexibilidad de la cadena*. La rotación de los enlaces determina la flexibilidad general de cadenas de polímero; sustituyentes grandes y voluminosos impiden la rotación de los enlaces, lo que aumenta la  $T_g$ .

• *fuerzas inter e intramoleculares*. La movilidad de la cadena está restringida por las interacciones entre segmentos de cadena o entre cadenas del polímero.

• *Masa molecular*. Una menor masa molecular implica más extremos de la cadena por unidad de masa, lo que resulta una mayor proporción de volumen libre. Un aumento de volumen libre implica una disminución de la Tg.

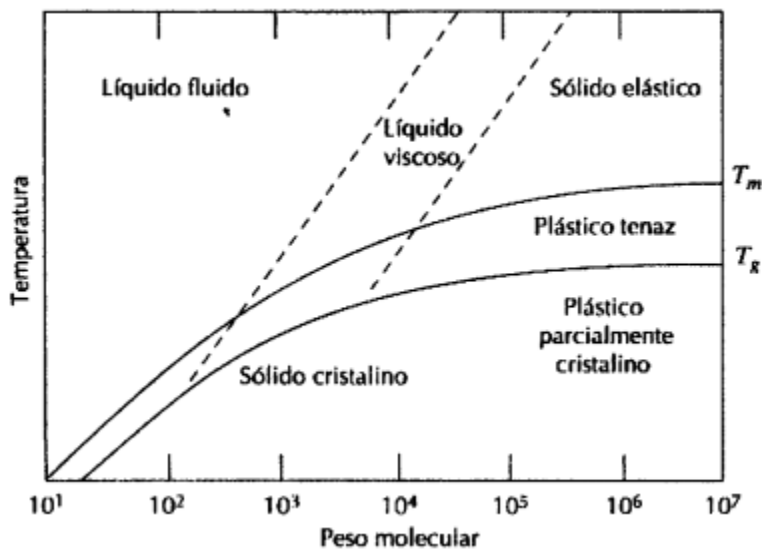


Figura 1.31. Efecto estructural de los polímeros con la temperatura.

• *La reticulación*. La reticulación restringe con eficacia el movimiento de la cadena en aumentando así la Tg.

Es entendible por qué las proteínas suelen tener una Tg bastante alta, la mayoría de sus aminoácidos tienen cadenas laterales grandes, lo que dificulta la rotación disminuyendo así la flexibilidad de la cadena. También los diversos aminoácidos pueden formar enlaces intermoleculares, aumentando aún más la Tg. Como se ha señalado

---

anteriormente, es posible manipular la Tg de las proteínas mediante el uso de plastificantes. Al bajar la Tg de un polímero, el inicio de flujo del estado gomoso también se reduce. Si bajamos la Tg lo suficiente, la proteína puede ser procesada sin degradación excesiva con unas condiciones de procesamiento razonables.

### **1.6.5.1. Mecanismo de plastificación**

Según la definición dada por la IUPAC o por las normas ASTM (ASTM-D-883) “un plastificante es un material que se incorpora a un material plástico o elastómero para facilitar su procesamiento y mejorar su flexibilidad. Un plastificante puede reducir la viscosidad del fundido, rebajar la temperatura de transición vítrea o disminuir el módulo elástico del fundido”. Los plastificantes son normalmente sustancias de alto punto de ebullición, y por lo general son buenos disolventes para el polímero.

El efecto del plastificante puede explicarse mediante las teorías de lubricación, de gel y del volumen libre. La primera afirma que los plastificantes se comportan como lubricantes internos permitiendo que las cadenas de polímeros se deslicen entre sí. La teoría del gel, que se aplica a polímeros amorfos, supone que un polímero como el PVC tiene muchas fuerzas de atracción intermoleculares que se debilitan con la presencia de un plastificante. El volumen libre se define como el espacio disponible entre las moléculas del polímero y depende de la temperatura. Cuando se utiliza dilatometría para medir el cambio del volumen específico con la temperatura en un polímero amorfo, se



observa un cambio brusco en la pendiente sobre la región de transición vítrea del polímero. En la figura, se muestra una división esquemática del volumen total en volumen ocupado y libre.

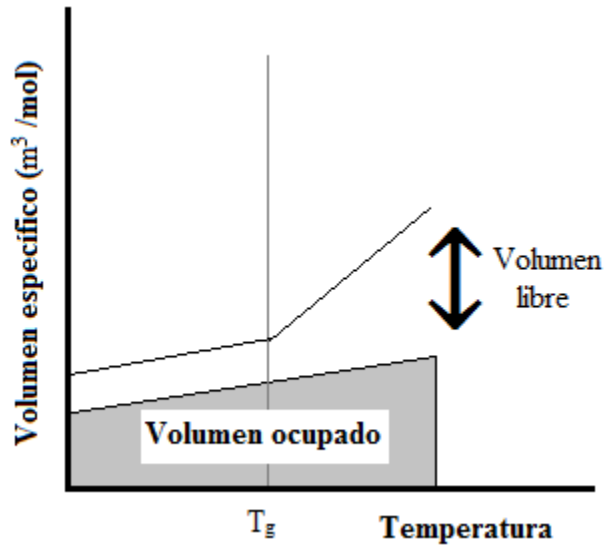


Figura 1.32. Representación del volumen específico frente a la Temperatura en los polímeros amorfos.

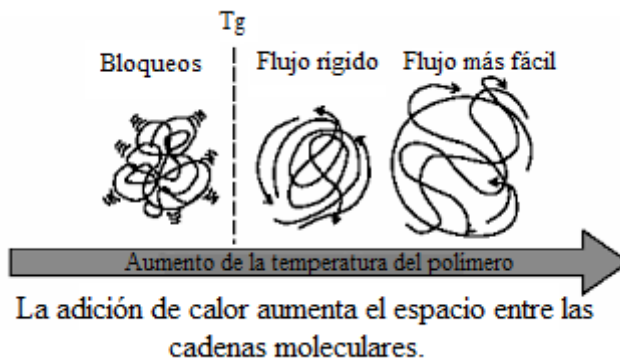


Figura 1.33. Movimiento de las de un polímero al aumentar la temperatura.

Se argumenta que el volumen ocupado aumenta de manera proporcional con la temperatura, pero, la discontinuidad en el volumen total

---

corresponde a la transición vítrea, lo que indica una graduación de procesos que controlan el comportamiento viscoelástico. Es el volumen libre, ayudado por la energía térmica el que permite que las moléculas se muevan unas respecto a otras dando lugar a un flujo viscoelástico. La temperatura de transición vítrea es tan importante para los polímeros como el punto de fusión para los metales.

El volumen libre se puede aumentar aumentando el número de extremos de la cadena, o más bien disminuyendo el peso molecular. Alternativamente, las cadenas laterales flexibles también aumentan volumen. Este proceso es llamado plastificación interna, y el volumen libre está fijado en función de la molécula de polímero.

La plastificación externa es la adición de una pequeña molécula que puede aumentar el volumen libre en cualquier lugar a lo largo de la cadena del polímero y es proporcional a la cantidad añadida. El aumento del volumen libre permite más movimiento de la cadena, por lo que disminuye la  $T_g$ . La naturaleza química del plastificante influirá fuertemente su eficiencia. Aspectos tales como la polaridad, la capacidad de formación de puentes de hidrógeno y la densidad determinarán el plastificante. Sin embargo, la flexibilidad de la cadena también puede permitir cadenas de proteínas para asociar estrechamente entre sí, dando lugar a interacciones intermoleculares más; plastificantes eficaces son, por tanto, los que también interrumpen estas interacciones proteínicas.

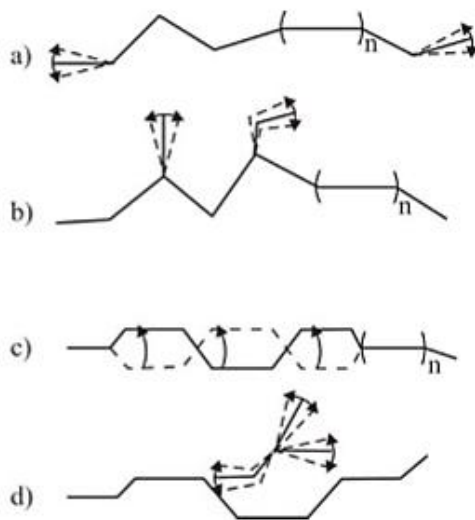


Figura 1.34. Efecto del volumen libre de a) grupos terminales, b) ramificaciones, c) vibraciones como consecuencia de un aumento de la temperatura y d) la adición del plastificante.

Para que un plastificante funcione correctamente por medio de los mecanismos descritos anteriormente, el plastificante debe ser soluble en la proteína. La selección correcta del plastificante se puede lograr en parte haciendo coincidir los parámetros de solubilidad de la proteína y plastificante, estos parámetros son la suma de diferentes contribuciones, las fuerzas repulsivas, polares y los puentes de hidrógeno.

Basándonos en la teoría de volumen libre, la idoneidad de un plastificante también se puede evaluar mediante la maximización del volumen libre. Éste viene determinado teniendo en cuenta coeficiente de expansión térmica de la proteína, la temperatura de transición vítrea del plastificante y la temperatura de transición vítrea de la proteína.

Aún así, teniendo sólo en cuenta los parámetros antes mencionados, la selección de plastificante no garantiza que una masa fundida sea procesable. Se ha demostrado que la capacidad de procesamiento de

---

proteínas puede evaluarse adicionalmente usando un índice llamado la eficiencia plastificante (PE)

$$PE= S+T+Y/C$$

En la ecuación anterior S, T, Y y C son los aminoácidos serina, treonina, tirosina y cisteína respectivamente, los tres primeros contienen grupos -OH, por lo que son capaces de ser plastificados por plastificantes con grupos -OH. La eficiencia de plastificación va a depender esencialmente de la relación entre las unidades móviles (es decir, S, T e Y) con las unidades inmóviles (es decir, C) en la molécula de proteína, en el supuesto de que todos los residuos de cisteína estén formando puentes de disulfuro. En otras palabras, se supone que S, sitios T, e Y puede difundirse mientras que los sitios C no puede. Estos sitios se benefician más de un mayor volumen libre que ofrece el plastificante. Se ha sugerido que se requiere un valor de PE igual o mayor que 2,5 para que se pueda dar el procesamiento termoplástico. Como ejemplo, la capacidad de tratamiento de la queratina (de plumas de aves) se comparó con la de la lana la Tabla 6. En la actualidad, es difícil determinar el grado de reticulación y por lo tanto se supone que es representado por el contenido de cisteína aunque la cantidad de cisteína no es un indicador suficiente para clasificar una proteína como térmicamente procesable o no, ya que se ha demostrado que algunas proteínas contienen mayores cantidades de cisteína que otros y son todavía procesable.

---

### **1.6.5.2 Los plastificantes utilizados en bioplásticos proteicos.**

El efecto del contenido de agua en la temperatura de transición vítrea de las proteínas ha sido estudiado ampliamente. El agua entra en la red de proteínas e interactúa con cadenas de proteínas mediante puentes de hidrógeno con las cadenas laterales de aminoácidos polares de fácil acceso, evitando interacciones entre proteínas lo que conduce a la plastificación. Morales y Kokini estudiaron como variaba la transición vítrea en bioplásticos de soja en función del contenido de humedad. Observaron como la transición para la fracción 7s variaba su temperatura de 114 a  $-67^{\circ}\text{C}$  cuando la humedad aumentada de 0 a 35% y la fracción 11s de 160 a  $-1^{\circ}\text{C}$  con variación de humedad de 0 a 40% de humedad.

El agua además de ser un buen plastificante, también se usa como medio de dispersión y disolvente. Otros disolventes acuosos también pueden actuar como medios de hidratación de las proteínas, especialmente si se necesita un ajuste del pH. Estos incluyen HCl diluido, ácido acético o ácido láctico, alcohol o urea, soluciones detergentes o de sal. Estos pueden afectar la solubilidad de la proteína de manera diferente, dependiendo de la fuente de proteínas.

Los productos proteicos a menudo sufren su disposición a absorber y liberar agua con los cambios de humedad relativa. Los cambios en el contenido de agua influyen en su resistencia y flexibilidad, provocando una reducción de tamaño y deformación de las muestras.

Otros plastificantes se eligen por su capacidad para interactuar con las proteínas, con la consideración de la gran cantidad de composiciones de

---

aminoácidos posibles. Los plastificantes que fácilmente interactúan con las proteínas y comúnmente más se seleccionan, se incluyen:

- alcoholes polihídricos tales como, etilenglicol, dietilenglicol, propilenglicol, glicerol, sorbitol, manitol
- alcoholes insaturados, tales como, alcohol alílico, alcohol furfurílico
- éteres de alcoholes polivalentes

Estos plastificantes nos aportan estabilidad a largo plazo sin embargo, los componentes que en condiciones atmosféricas normales se volatilizan no se deben utilizar como las amidas, amidas cíclicas o las aminoalcoholes.

Otro tipo de plastificantes utilizados son los ácidos grasos, gracias a su carácter anfílico pueden interactuar con una serie de residuos de aminoácidos que no sean polares. Entre todos ellos los más utilizados son:

- Los ácidos grasos saturados: ácido cáprico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido caprílico, ácido graso de aceite de coco, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido behénico, ácido undecílico, ácido pentadecílico, ácido margárico, ácido araquídico , y ácidos grasos de maíz.
- Los ácidos grasos insaturados incluyen ácido oleico, ácido linoleico, ácido erúrico, ácido linoleico, ácido linolénico, ácido palmitoleico, ácido eleosteárico, y mezclas de los mismos
- ácidos grasos sustituidos: ácido ricinoleico y ácido vernólico.

---

## 1.7. REOLOGÍA:

La Reología es la ciencia del flujo que estudia la deformación de un cuerpo sometido a esfuerzos externos. Su estudio es esencial en muchas industrias, incluyendo las de plásticos, pinturas, alimentación, tintas de impresión, detergentes o aceites lubricantes, por ejemplo.

En 1920 el profesor Eugene Bingham, de la Universidad de Lehigh, con el fin de designar de una forma más precisa la mecánica de los cuerpos deformables, restringida hasta entonces a la elasticidad clásica y la mecánica de fluidos, acuñó el término Reología. El término proviene del griego  $\rho\epsilon\iota\nu$ , que significa fluir. La Reología es, por tanto, la ciencia que estudia la deformación y el flujo de los materiales.

Así, la Reología estudia la relación existente entre las fuerzas externas que actúan sobre un cuerpo y la deformación que éstas producen.

Existen dos tipos de esfuerzos que pueden actuar sobre un material en equilibrio: esfuerzos normales, actúan sobre una cara en dirección perpendicular a la superficie, y esfuerzos tangenciales, actúan sobre una cara paralelamente a su superficie, también llamados de cizalla. Un cuerpo está en equilibrio si lo están todos y cada uno de sus puntos y entonces las sumas de fuerzas y momentos actuando sobre él serán nulos.

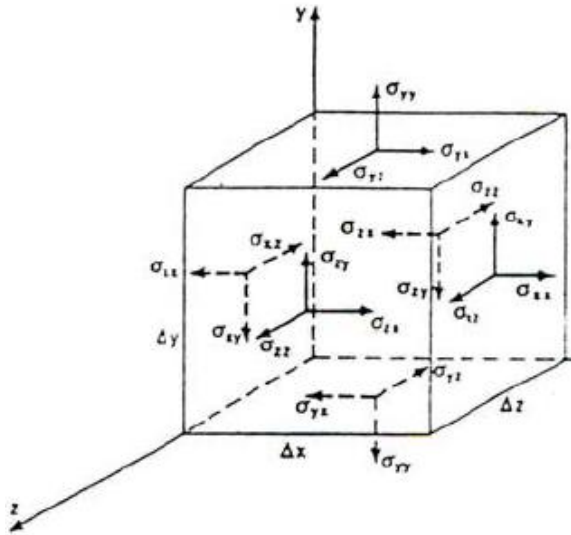


Figura 1.35. Componentes del tensor esfuerzo

Considerando un cuerpo libre sobre el que se aplica una carga unidireccional se obtendrá una respuesta en el material que puede oscilar entre dos comportamientos extremos conocidos:

- Viscoso: toda la fuerza aplicada sobre el material produce una deformación permanente. La energía suministrada se pierde en forma de calor.
- Elástico: una vez que cesa la aplicación de la fuerza, desaparece la deformación inducida, recuperándose la forma a partir de la energía almacenada por el material.

El comportamiento de los materiales reales se halla entre estos dos comportamientos ideales. A una temperatura y peso molecular específicos, un polímero puede comportarse como líquido (respuesta viscosa) o como sólido (respuesta elástica), dependiendo de la velocidad, o escala de tiempo, a la cual sus moléculas son deformadas. Este comportamiento, que varía entre el líquido y el sólido,



---

generalmente se conoce como comportamiento viscoelástico o respuesta del material.

Las propiedades reológicas de un material quedan, pues, determinadas por una relación matemática entre el esfuerzo aplicado y la respuesta del material, bien como deformación o flujo.

- Viscoelasticidad:

En los materiales viscoelásticos, el fluido depende de la deformación, de la velocidad de deformación y del tiempo.

$$\sigma = f(\gamma, \dot{\gamma}, t)$$

Cuando se aplica un esfuerzo al material a estudiar y se produce una destrucción en su estructura, el sistema se encontrará en un régimen de viscoelasticidad no lineal, así mismo, cuando el esfuerzo aplicado no implica una desestructuración, se encuentra dentro de la viscoelasticidad lineal. En este caso, las funciones viscoelásticas son independientes del esfuerzo aplicado.

Realmente, encontrarse dentro del régimen lineal quiere decir que estamos dentro del principio de superposición de Boltzman, establece que la deformación de un material es una consecuencia de la suma o superposición de todas las deformaciones que resultan de los diversos esfuerzos aplicados sobre el mismo a diferentes tiempos (Osswald y Menges, 2003).

$$\sigma(t) = \int_0^t \varphi(t-t') \dot{\gamma}(t') dt'$$

---

Una función efecto  $\sigma(t)$ , es proporcional a una función influencia, propiedad del sistema que relaciona causa y efecto, y a una función causa  $\gamma(t')$ , donde la función influencia puede venir expresada como la capacitancia lineal, la función memoria o el módulo de relajación lineal.

$J(t-t')$ ; capacitancia lineal

$M(t-t')$ ; función memoria

$G(t-t')$ ; módulo de relajación lineal

Donde las funciones de influencia son independientes de la deformación, sólo depende del tiempo.

Los materiales viscoelásticos presentan comportamiento viscoso y elástico a la vez, siguiendo la componente elástica la ley de Hook y la componente viscosa la ley de Newton (Sherman 1968, 1970; Dickinson, 1992; Walstra, 2003). Este tipo de materiales presenta simultáneamente comportamiento viscoso y elástico, por lo que se distinguen ambas componentes en el fluido.

La componente elástica del fluido se representa mediante el módulo de almacenamiento  $G'$  que es una medida de la energía almacenada en el fluido. La componente viscosa se representa mediante el módulo de pérdidas  $G''$ , que es una medida de la energía transformada en calor por el flujo viscoso y por tanto pérdida.

Los ensayos dinámicos en cizalla oscilatoria consisten en la aplicación de un esfuerzo o deformación por cizalla sinusoidal, línea verde del gráfico inferior, representada por una función de onda seno o coseno:

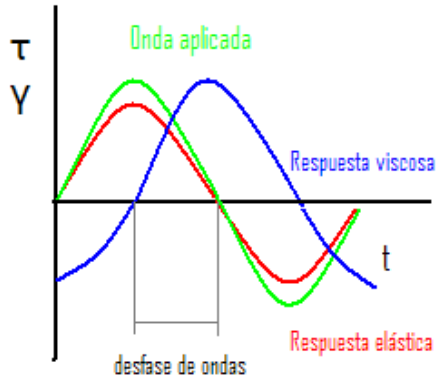


Figura 1.36. Definición del ángulo de desfase.

$$\sigma = \sigma_0 \cos \omega t$$

$$\gamma = \gamma_0 \cos (\omega t + \delta)$$

Obtendremos como respuesta, si aplicamos una deformación su respuesta será un esfuerzo y viceversa, una onda en fase con la aplicada,  $\delta = 0^\circ$ , línea roja del gráfico, como respuesta para sólidos elásticos, y estará en desfase  $\delta = 90^\circ$  para fluidos viscosos, línea azul del gráfico. Los materiales viscoelásticos presentan un comportamiento intermedio.

Realizando un tratamiento matemático se define el módulo de cizalla complejo,  $G^*$ , como la relación entre el esfuerzo y la deformación:

$$G^*(\omega) = G'(\omega) + iG''(\omega)$$

$$G^* = \tau_0 / \gamma_0$$

Como se ha comentado anteriormente la componente en fase,  $G'$  es el módulo de almacenamiento y representa el carácter elástico del material. La componente desfasada corresponde a la  $G''$  y es el módulo de pérdidas que representa el carácter viscoso de la muestra. La tangente del ángulo del ángulo de desfase  $\delta$  se conoce también como la

---

tangente de pérdidas y es una medida de la razón de energía almacenada y disipada por ciclo. Su relación con los módulos es:

$$\operatorname{tg} \delta = \operatorname{sen} \delta / \operatorname{cos} \delta$$

$$\operatorname{tg} \delta = G'' / G'$$

Los ensayos realizados en el presente trabajo se encuentran dentro de la zona viscoelástica lineal.

- Tipos de ensayos dinámicos:

*Barrido de esfuerzo:*

Con este tipo de ensayo se determina la zona viscoelástica lineal del fluido, se obtiene la fuerza de la estructura de la muestra. Si al deformación es pequeña o aplicada lo suficientemente despacio, los movimientos moleculares no están nunca lejos del equilibrio. La respuesta mecánica es entonces solamente un reflejo de procesos mecánicos a nivel molecular los cuales siempre se están produciendo, incluso en un sistema en equilibrio, este es el dominio de de la viscoelasticidad lineal.

Consiste en realizar un ensayo oscilatorio a una frecuencia constante y variando el esfuerzo. Es un ensayo no destructivo, ya que al ser oscilaciones pequeñas no estropea la estructura de la muestra.

Se muestra  $G'$  y  $G''$  frente al esfuerzo, en la zona LVR deben tener valores constantes, en el momento en que disminuyan sus valores indican que se ha salido del rango lineal, en sistemas en los que no se tenga muy claro, se plaica la regla de Thumb (dedo

gordo) cuando tres puntos consecutivos estén fuera del 5% del valor, estaremos fuera del LVR.

Se debe resaltar especial cuidado con este ensayo, ya que varía con la temperatura y con la frecuencia.

### Dependencia en la temperatura de la LVR

- En general, the LVR es más pequeña al disminuir la temperatura.  $T_2 > T_1$

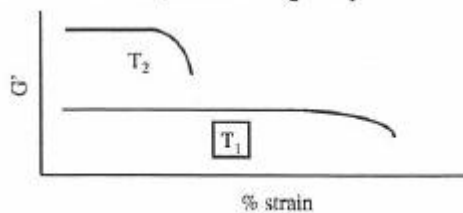


Figura 1.37. Dependencia de la temperatura con el rango viscoelástico lineal.

A mayor temperatura generalmente, su rango será menor, en el caso de la frecuencia, a mayor frecuencia, menor tiempo de oscilación, oscilaciones más rápidas, disminuyendo también el LVR.

### Dependencia con la frecuencia de la LVR

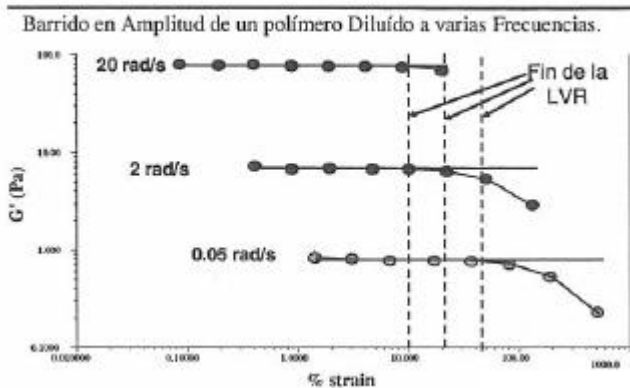


Figura 1.38. Dependencia de la frecuencia con el rango viscoelástico lineal.

---

*Barrido oscilatorio de frecuencia:*

Nos aporta datos para caracterizar el material dentro de su LVR previamente estudiado en el anterior ensayo. En este caso se deja un esfuerzo constante y se va variando la frecuencia. Al igual que el anterior, es un ensayo no destructivo. Lo que obtenemos es una variación de los módulos en función de la frecuencia.

Es conveniente comenzar este ensayo desde frecuencias altas, a bajos valores de frecuencias, ya que así se van ejerciendo oscilaciones de menor velocidad a mayor velocidad, asegurándonos estar siempre en el LVR.

*Barridos de temperatura:*

Caracterizamos los módulos de pérdida y almacenamiento en función de la temperatura y el tiempo, a frecuencia y esfuerzo constante. Se pueden hacer ensayos sólo de ida o también de ida y vuelta, es decir de bajas temperaturas a altas y viceversa. Al igual que los ensayos anteriores se debe tener cuidado al determinar la temperatura de comienzo, se debe elegir, de la inferior para ir aumentando a la superior, ya que es más fácil para el sistema ir aumentando la temperatura gradualmente que ir disminuyéndola, ir enfriando. La velocidad de calentamiento aplicada es constante y definida por el usuario.

- Geometrías de los sensores:

Según el tipo de muestra que tengamos se deberá escoger un tipo de sensor u otro, una mala elección dará resultados erróneos

---

en la caracterización del material, en muchos casos se reconsidera la selección después del primer ensayo.

La geometría del sensor vendrá dada por la viscosidad de la muestra, para muestras con muy baja viscosidad se utilizarán cilindros concéntricos, los conos-platos serán más apropiados para un rango de viscosidades bajas a altas, se debe evitar para dispersiones con partículas tan grandes como el gap, en el caso de los platos paralelos también se podrán utilizar para sólidos blandos, dentro de este tipo nos encontramos con los platos rugosos utilizados en ensayos donde se produzcan deslizamientos, y las geometrías especiales como las tipo Vane son ideales para evitar deslizamientos y rotura de la muestra durante su carga en el reómetro mientras que el rotor Starch y el tornillo Helicoidal son ideales para mezclados y para evitar sedimentación.

Una vez seleccionado el tipo de sensor a utilizar, se debe escoger el diámetro de éste, a más baja viscosidad, mayor diámetro (60mm), para viscosidades medias, tipo miel, será adecuado un diámetro sobre unos 40mm, mientras que para muestras con viscosidades altas, tipo caramelo, se utilizarán geometrías menores, 20mm.

---

## **1.8. Materiales Superabsorbentes (SAP).**

La obtención de materiales poliméricos con capacidad superabsorbente presenta un gran interés derivado de su excelente potencial en una gran variedad de aplicaciones entre las que cabe destacar las de arquitectura, la agricultura y horticultura, productos de higiene personal, resultando también de interés su uso en el tratamiento de aguas residuales, sistemas de administración de fármacos entre otras muchas aplicaciones. En los años 60 se desarrolló una resina basada en el injerto de moléculas de acrilonitrilo para mejorar la conservación de agua en los suelos. El producto dio una absorción de agua de 400 veces su peso, además no liberó agua líquida como los demás productos absorbentes a base de fibras.

En los años 80 se produjeron materiales absorbentes de agua a partir de productos de celulosa y fibra que podían absorber 20 veces su peso como máximo, teniendo su mayor desarrollo comercial íntimamente ligado a los pañales desechables. Su crecimiento ha tenido tanto auge que se prevé llegar a los 2,8 Mton/año a finales de 2016. Su relevancia económica se refleja en el volumen de mercado global de SAP que superó los 8 millardos de euro en 2013.



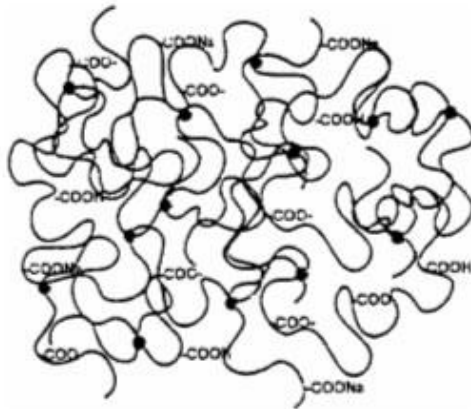


Figura 1.39. Red de polímeros superabsorbentes.

Según la definición de la IUPAC, los polímeros que pueden absorber y retener cantidades extremadamente grandes de un líquido en relación a su propia masa son polímeros superabsorbentes. El líquido absorbido puede ser agua o un líquido orgánico y la relación de hinchamiento del polímero superabsorbente puede alcanzar del orden de 1000 veces su peso inicial.

Los materiales SAP se dividen originalmente en dos clases principales; es decir, sintético (a base de petroquímica) y naturales (por ejemplo, de polisacáridos y de base polipéptido). Pero el mercado de este tipo de materiales está dominado por polímeros sintéticos procedentes de dos monómeros básicos, el ácido acrílico y la acrilamida.

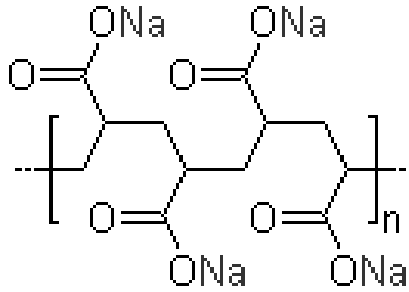


Figura 1. 40. Estructura química del poliacrilato de sodio

Estos grupos, al entrar en contacto con el agua desprenden el sodio, dejando libres iones negativos de carboxilo. Los iones negativos se repelen, estirando la cadena principal y provocando el aumento de volumen. Para que el compuesto vuelva a ser estable y neutro, los iones captan las moléculas de agua. Pero este tipo de compuestos presentan problemas de toxicidad de su materia prima, baja biodegradabilidad y proceden de fuentes no renovables, resultan de un precio muy elevado y no son aptos para terrenos agrícolas y aguas salinas. Por tanto, la necesidad de desarrollar materiales superabsorbentes sostenibles, basados en materias primas de origen natural y renovable, con menor impacto ambiental (mayor biodegradabilidad) va en aumento.

### 1.8.1. Materiales superabsorbentes basados en proteínas (SAB)

Dentro de los materiales superabsorbentes de origen natural hemos distinguido entre los basados en polisacáridos y en proteínas (o cadenas polipeptídicas). Los primeros han sido más estudiados, sin embargo, su elevado coste supone una barrera para la sustitución de los sintéticos. Otros polisacáridos que presentan un buen potencial se basan en

---

quitina, almidón y diferentes gomas, etc. tienen menor eficacia que la de los SAP sintéticos y su tecnología no está suficientemente desarrollada.

Los materiales SAB basados en proteínas presentan beneficios tanto tecnológicos como económicos, además de los ambientales ya comentados por lo que su desarrollo es de gran importancia. Gracias a la variedad de proteínas debido a sus diferentes composiciones de aminoácidos, hay un gran intervalo de formulaciones (proteína de soja, pescado, colágeno, colza o gluten de trigo). Para conseguir una elevada capacidad absorbente, se necesita una proteína altamente hidrofílica. En este sentido cabe destacar a la proteína de soja, que combinada con un plastificante muestra su habilidad en la formación de plásticos biodegradables de uso potencial en productos tales como cucharas, juguetes y envasado de alimentos. Sin embargo, su aplicabilidad en materiales plásticos presenta limitaciones debido precisamente a su alta absorción de humedad y a su baja resistencia.

---

## 1.9. Efervescencia

El término efervescencia proviene de la palabra latina *effervescens*, “que empieza hervir”. Según la primera entrada Real Academia Española de la Lengua, la efervescencia es “desprendimiento de burbujas gaseosas a través de un líquido”.

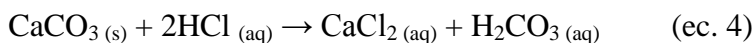
En la actualidad, la efervescencia se utiliza en numerosos campos, en la alimentación estamos muy acostumbrados a verlo en las bebidas carbonatadas, en higiene en diversos productos de baño, en la industria en atomizadores efervescentes para quemadores industriales, es sanidad es altamente utilizado desde para la evaluación de la distensión del esófago, y para la detección y estadificación del cáncer de esófago o en pastillas efervescentes de carbonato de calcio para su rápida absorción, etc.

Se tiene conocimiento de la efervescencia en la antigua Roma donde escritores registraron la existencia de la efervescencia en el alcohol, pero la causa de esta misteriosa aparición de burbujas no era entonces muy explicable. Por lo cual, como era usual en aquella época, este fenómeno era atribuido a cosas como las fases de la luna, como también a espíritus del bien y el mal. Ya para la Edad Media esta tendencia de una ligera efervescencia en el vino fue considerada como un fallo en la calidad de éste, porque en el proceso de refermentación, las botellas solían explotar de la nada. En regiones como Francia, las bajas temperaturas en el invierno hacían que el proceso de fermentación del vino en las bodegas se detuviera prematuramente, dejando a la levadura "durmiendo" hasta la primavera. Con el calor, el vino empezaba a fermentar nuevamente, liberando dióxido de carbono. Si el vino estaba

---

dentro de una botella, el gas quedaba atrapado, causando una gran presión dentro del envase y, en algunos casos, llevando a las botellas a explotar, lo que causaba caos en las bodegas. Esto ocurre en bebidas que sufren el proceso natural de fermentación y con ella la efervescencia.

Pero cuando el producto no tiene un sufre fermentación y queremos efervescencia en él, utilizamos un proceso químico que consiste en la reacción de un ácido que neutraliza un carbonato o bicarbonato de sodio desprendiendo dióxido de carbono a través de un líquido.



Obviamente, el gas de dióxido de carbono es la efervescencia que caracteriza a los productos efervescentes.

Hay unos cuantos puntos aquí que no son tan evidentes, pero son muy importantes. En primer lugar, el agua es necesaria para comenzar la reacción. Sin agua, ni el ácido ni el carbonato pueden disociarse. Si no hay disociación, la reacción efervescente no se puede iniciar. Una vez que comienza la reacción, sin embargo, genera más agua. Esto significa que los productos efervescentes deben ser cuidadosamente formuladas, producido en ambientes adecuados y empaquetado correctamente. De lo contrario su inestabilidad inherente puede arruinar ellos.

En concreto, todas las materias primas utilizadas en un producto efervescente deben ser anhidros y deben ser almacenados de modo que

---

permanecen secas. Los entornos de fabricación donde se toman estos productos también deben diseñarse para mantener la sequedad. Típicamente estas instalaciones se deshumidifican a menos del 10% de HR.

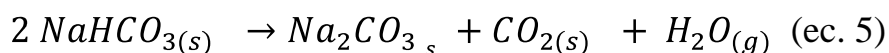
### 1.9.1. Materias primas para productos efervescentes

Puesto que es la fuente de dióxido de carbono, la sal de carbonato es un material de clave en una fórmula efervescente. Las sales de carbonato más utilizadas son el carbonato de sodio y bicarbonato de sodio

El carbonato de sodio tiene un menor porcentaje de CO<sub>2</sub> que el bicarbonato y debido a que requiere 2 moles de ácido por mol de la sal, es un poco más difícil de neutralizar que el bicarbonato de sodio. Sin embargo, esto favorece que algunos productos que se formulan con el carbonato en lugar de con el bicarbonato ya que es un poco más estable.

El bicarbonato tiene una mayor proporción de CO<sub>2</sub> de carbonato de sodio y, debido a su capacidad para romper fácilmente sus enlaces, liberando el agua. Los productos formulados con el bicarbonato tienden a reaccionar con mayor rapidez y a ser menos estables que los productos carbonatados.

El bicarbonato puede descomponerse sólo con un aumento de temperatura o de presión, sin la adición del ácido a través de la siguiente reacción:



---

Aunque las sales carbonatadas de sodio son comúnmente más utilizados, las de potasio y el carbonato de magnesio pueden ser también utilizados con éxito en los productos efervescentes.

El otro componente clave en una composición efervescente es el ácido. Reacciona con la sal de carbonato, liberando el  $\text{CO}_2$  gas. Normalmente el ácido más utilizado es el ácido cítrico ya que es de bajo costo, de fácil acceso, muy soluble y puesto que es trivalente, tiene un buen poder de neutralización. Aunque también se utiliza con frecuencia ácido fumárico. A pesar de que sólo es divalente, el ácido fumárico es en realidad más eficiente para la neutralización que el ácido cítrico al mirar la base en peso. Sin embargo, el ácido fumárico es mucho menos soluble que el ácido cítrico y por lo tanto da una reacción más lenta que el cítrico. Probablemente a causa de esta diferencia de solubilidad, los productos de ácido fumárico tienden a ser un poco más estable que los productos de ácido cítrico.

---

## 1.10. Bibliografía

1. Adachi, M; Kanamori, J; Masuda, T; Yagasaki, K; Kitamura, K; Mikami, B, Utsumi, S. (2003). Crystal structure of soybean 11S globulin: glycinin A3B4 homohexamer. PNAS, 100, 7395-7400.
2. Ahmed, E.M. (2013). Hydrogel: Preparation, characterization, and applications. Journal of Advanced Research.
3. Ali F., Ippersiel D., Lamarche F., Mondor M. (2010). Characterization of low-phytate soy protein isolates produced by membrane technologies. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 11(1) 162-168.
4. Alibhai Z., Mondor M., Moresoli C., Ippersiel D., Lamarche F. (2006). Production of soy protein concentrates/isolates: traditional and membrane technologies. Desalination, 191, 351-358.
5. Alting, A.C., Wiejers, M., de Hoog, E.H.A. *et ál.* (2004). Acid-induced cold gelation of globular proteins: effects of protein aggregate characteristics and disulfide bonding on rheological properties. Journal of agricultural and food chemistry. 52(3): 623-631.
6. An Introduction to the Mechanical Properties of Solid Polymers. (2004) Ward, IM., Hadley, DW. 2st ed. Wiley. ISBN: 0-471-49625-1.
7. Baier SK, McClements DJ. (2005). Influence of cosolvent systems on the gelation mechanism of globular protein: Thermodynamic, kinetic, and structural aspects of globular protein gelation. Comprehensive reviews in food science and food safet. 4: 43-54.
8. Baldwin, R. (1986). Temperature dependence of the hydrophobic interaction in protein foldin”, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 83: 8069–8072.



- 
9. Barone J.R, Dangaran K, Schmidt W.F. (2006). Blends of cysteine containing proteins. *Journal of agricultural and food chemistry*. 54(15): 5393-5399.
  10. Barone, J. R., Schmidt, W. F. (2006). US20067066995.
  11. Bazinet, L., Lamarche, F., Labrecque, R., Toupin, R., Boulet, M., Ippersiel, D. (1997). Electroacidification of soybean proteins for production of isolate. *Food Technology*. 51(9), 52-60.
  12. Bengoechea C, Arrachid A, Guerrero A, Hill SE, Mitchell JR. Relationship between the glass transition temperature and the melt flow behavior for gluten, casein and soya. *Journal of cereal science*. 2007; 45(3): 275-284.
  13. Berg, J., Stryer, L., Tymoczko, J. (2006). Protein structure and composition. *Biochemistry, Sixth Edition* , Stanford (CA): Freeman , W.H. & Company. ISBN: 0-7167-3051-0.
  14. Bier James M., Verbeek Casparus J. R., Mark C. Lay. (2014). Thermal Transitions and Structural Relaxations in Protein-Based Thermoplastics. *Macromolecular Materials and Engineering.*, 299, 524–539.
  15. Biesecker, G., Harris, J., Thierry, J., Walker, J., Wonacott, A. (1977). Sequence and structure of D-glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase from *Bacillus stearothermophilus*. *Nature*, 266: 328.
  16. Camire, M. (1991). Protein functionality modification by extrusion cookin. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 68 (3): 200–205.
  17. Carnes, K.J., Murillo, D.A., Absorbent core structure for absorbing aqueous-based liquids in hygiene products, e.g. baby diapers, includes nonwoven blend of fluff pulp, superabsorbent

---

polymer, synthetic bicomponent filament, and small denier hollow filaments. Wellman Inc.

18. Casparus J.R. Verbeek, Lisa E. van den Berg. (2009). Recent Developments in Thermo-Mechanical Processing of Proteinous Bioplastics. *Recent Patents on Materials Science*, 2, 171-189.

19. Chanda, M., Roy, S.K. (2007). *Polymers in Special Uses*, *Plastics technology handbook*, 4th ed. CRC Press, Boca Raton, FL. 115-117.

20. Chen, H., Wang, A. (2009). Adsorption characteristics of Cu(II) from aqueous solution onto poly(acrylamide)/attapulgite composite. *Journal of Hazardous Materials* 165, 223-231.

21. Chu, M., Zhu, S.-q., Li, H.-M., Huang, Z.-b., Li, S.-q. (2006). Synthesis of poly(acrylic acid)/sodium humate superabsorbent composite for agricultural use. *Journal of Applied Polymer Science* 102, 5137-5143.

22. *Ciencia e ingeniería de los materiales*. (2007). Donald R. Askeland.

23. Cuq B, Gontard N, Guilbert S. (1998). Proteins as agricultural polymers for packaging production. *Journal of cereal science*. 75(1): 1-9.

24. Damodaran, S. (1997). Food proteins: an overview *Food proteins and their applications*, Damodaran, S., Paraf, A. (ed.), Nueva York, Marcel Dekker, Inc. Cap. 1, 1.

25. De Graaf, L.A. (2000). Denaturation of proteins from a non-food perspective. *Journal Biotechnology*, 79: 299-306.

26. De Graaf L.A, Harmsen P.F.H, Vereijken J.M, Monikes M. (2001) Requirements for non-food applications of pea proteins - A review *Nahrung-Food*. 45(6): 408-411.

- 
27. Erickson, D. (1995). Practical handbook of soybean processing and utilization St. Louis: AOCS - United Soybean Board.
  28. Bioquímica: conceptos esenciales. (2011). Feduchi, E., Blasco, I., Santiago, C., Yáñez, E. Editorial Panamericana. ISBN: 978-84-9835-357-0.
  29. Feeney, R. E., Whitaker, J. R. (1988). Importance of cross-linking reactions in protein. *Advances in Cereal Science and Technology*, IX: 21–43.
  30. Ferry, J. D. (1980). *Viscoelastic properties of polymers*. Jhon Willey & Sons Inc., New York. 0-471-04894-1
  31. *Food Composition and Nutrition Tables*. Souci, S. W., Fachmann, W. y Kraut, H. (2008) Medpharm Scientific Publishers, London. ISBN: 0849341418.
  32. Franco, D. (2004). *Aceite de soja, análisis de la cadena alimentaria* Buenos Aires, República Argentina.
  33. Friedman M, Gumbmann M.R, Masters P.M. (1984). Protein-alkali reactions: Chemistry, toxicology, and nutritional consequences. *Adv Exp Med Biol*. 177: 367-412.
  34. Friedman, M. (1999). Chemistry, biochemistry, nutrition, and microbiology of lysinoalanine, lanthionine, and histidinoalanine in food and other proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 1295–1319.
  35. *Fundamentals of Polymers*. Kumar A, Gupta RK. McGrawHill International Editions. (1998). ISBN: 0-07-025224-6.
  36. Garcia, M. C., Torre, M., Marina, M. L. y Laborda, F. (1997) *Characterization of soyabean and related products*. *CRC Critical reviews in food science and nutrition*. 37, 361-391.

- 
37. García- Martínez, J.M.; Areso, S.; Taranco, J., Collar, E.P. (2004). Ensayos de termoplásticos y termoestable en “Ciencia y tecnología de materiales poliméricos”, Volumen II, Garrido, L.; Ibarra, L y Marco, C. (Eds), Madrid, Instituto de la Ciencia y tecnología de los polímeros (CSIC). Cap. 21.
38. Gennadios, A., Mchugh, T. H., Weller, C. L., And Krochta, J. M. (1994). Edible coatings and films based on proteins. In: Edible Coatings and Films to Improve Food Quality. J. M. Krochta, E. A. Baldwin, and M. O. Nisperos-Carriedo, eds. Technomic: Lancaster, PA.
39. Gennadios, A. (1998). Physical properties of egg white-dialdehyde starch films. *Journal of agricultural and food chemistry*. 46, 1297-1302.
40. Gerrard, J.A. (2002). Protein–protein crosslinking in food: methods, consequences, applications. *Trends in Food Science & Technology*, 13: 391–399.
41. Gerrard, J.A.; Brown, P.K., Fayle, S.E. (2003). Maillard crosslinking of food proteins II: the reactions of glutaraldehyde, formaldehyde and glyceraldehydes with wheat proteins in vitro and in situ. *Food Chemistry*, 80: 35–43.
42. Graiver, D., Waikul, L.H., Berger, C., Narayan, R. (2004). Biodegradable soy protein-polyester blends by reactive extrusión process. *Journal of applied polymer science*. 92(5) 3231-339.
43. Guilbert, S., Morel, M.H., Gontard, N., Cuq, B. (2006). Protein-Based Plastics and Composites as Smart Green Materials, *Feedstocks for the Future*. American Chemical Society, pp. 334-350.
44. Guilherme, M.R., Aouada, F.A., Fajardo, A.R., Martins, A.F., Paulino, A.T., Davi, M.F.T., Rubira, A.F., Muniz, E.C. (2014).

---

Superabsorbent hydrogels based on polysaccharides for application in agriculture as soil conditioner and nutrient carrier: A review. *European Polymer Journal*.

45. Handbook of Medical Textiles editado V Bartels. (2011). ISBN: 9781845696917.

46. Hill, S., Easa, A. M. (1998) .Linking proteins using the Maillard reaction and the implications for food processors in *The Maillard reaction in foods and medicine*, J. O'Brien (Ed.), Cambridge, Royal Society of Chemistry, pp. 133–138.

47. Hoare, T.R., Kohane, D.S. (2008). Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. *Polymer* 49, 1993-2007.

48. Hofmeister, F. (1889). *Zeithshr. f. Physiol. Chem.* Strassb.14:165-172.

49. Hubbe, M.A., Ayoub, A., Daystar, J.S., Venditti, R.A., Pawlak, J.J. (2013). Enhanced Absorbent Products Incorporating Cellulose and Its Derivatives: A Review. *Bioresources*. 8, 6556-6629.

50. *Ingeniería de los materiales poliméricos*. Miguel Ángel Ramos Carpio. Fundación para el fomento de la innovación industrial. ISBN: 978-84-611-8412-5.

51. *Industria del plástico: Plástico industrial*. (1999). Richardson and Lokensgard. Editorial internacional Thomson Editores Spain Paraninfo, S.A. ISBN: 84-283-2569-3.

52. *Introducción a la química de los polímeros*. Raimond B. Seymour, Charles E. Carraher. (1995). Editorial Reverté. ISBN: 84-291-7926-7.

53. *Introducción a la tecnología de los plásticos*. (1992). Walter Michaeli, Phil.Helmut Greif, Hans Kaufmann, Franz-Josf Vossebürger. Editorial Hanser. ISBN: 84-87454-03-8.

- 
54. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology. The Gold Book edición online. <http://goldbook.iupac.org/>.
55. Jane, J., Wang, S. (1996). Biodegradable soy protein thermoplastic compsn of high flowability comprising reaction mixt. of soy protein, starch filler, plasticiser, reducing agent and water. Univ Iowa State Res Found Inc.
56. Jedelský, J., Jícha, M. (2016). Spray characteristics and liquid distribution of multi-hole effervescent atomisers for industrial burners. *Applied thermal engineering*. 96 (5) 286-296.
57. Jerez, A. (2007). “Formulación y procesado de materiales poliméricos bioderadables” Tesis doctoral. Universidad de Huelva.
58. Jerez A, Partal P, Martínez I, Gallegos C, Guerrero A. (2007). Egg white based bioplastics developed by thermomechanical processing. *Journal of food engineering*. 82(4): 608-617.
59. Jerez A, Partal P, Martínez I, Gallegos C, Guerrero A. (2007). Protein based bioplastics: effect of thermo-mechanical processing. *Rheol Acta*. 46(5): 711-720.
60. Kamat, M., Malkani, R. (2003). Disposable diapers: a hygienic alternative. *Indian journal of pediatrics* 70, 879-881.
61. Kasgoz, H., Durmus, A., Kasgoz, A. (2008). Enhanced swelling and adsorption properties of AAm-AMPSNa/clay hydrogel nanocomposites for heavy metal ion removal. *Polymers for Advanced Technologies* 19, 213-220.
62. Kashaninejad, M., Ahmadi, M., Daraei, A., Chabra, D. (2008). Handling and frictional characteristics of soybean as a function of moisture content and variety. *Powder Technology*, 188, 1-8.
63. Kosemund, K., Schlatter, H., Ochsenhirt, J.L., Krause, E.L., Marsman, D.S., Erasala, G.N. (2009). Safety evaluation of

---

superabsorbent baby diapers. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 53, 81-89.

64. Kourmatzis, A., Lowe, A., Masri, A.R. (2016). Combined effervescent and airblast atomization of a liquid jet. *Experimental Thermal and Fluid Science*. 75, 66–76.

65. Lehninger Principles of Biochemistry. (2009). 5<sup>th</sup>ed. FreemanCaps 3, 4.

66. Liu, T.Y. (1977). The role of sulfur in proteins, in the proteins. In: Neurath H, Hill RL, Eds. Academic Press: New York. 240-403.

67. Liu, D., Zhang, L. (2006). Structure and properties of soy protein plastics plasticized with acetamide. *Macromolecular Materials and Engineering*. 291, 820-828.

68. Liu, W., Drzal, L.T., Mohanty, A.K., Misra, M. (2007). Influence of processing methods and fiber length on physical properties of kenaf fiber reinforced soy based biocomposites. *Composites Part B-Engineering*. 38, 352-359.

69. Lodha P., Netravali. A.N. (2005). “Thermal and mechanical properties of environment-friendly ‘green’ plastics from stearic acid modifiedsoy protein isolate”; *Industrial Crops and Products*. 21 (1) 49.

70. Lundblad R.L, Noyes C.M. (1984). Chemical reagents for protein modification. Boca Raton: CRC Press. Vol. 1: p. 180.

71. Ma CY, Rout MK, Phillips DL. (2003). Study of thermal aggregation and gelation of oat globulin by Raman spectroscopy. *Spectrosc Int J*; 17(2-3): 417-428

72. Marcone, M. F., Kakuda, Y., & Yada, R. Y. (1998). Salt soluble seed globulins of dicotyledonous and monocotyledonous plants II. Structural characterization. *Food Chemistry*, 63, 265-274.

- 
73. Marcone, M. F., & Kakuda, Y. (1999). A comparative study of the functional properties of amaranth and soybean globulin isolates. *Nahrung - Food*, 43, 368373.
74. Maruyama, N.; Adachi, M.; Takahashi, K.; Yagasaki, K.; Kohno, M.; Takenaka, Y.; Okuda, E.; Nakagawa, S.; Mikami, B. y Utsumi, S. (2001). Cristal Structures of recombinant and native soybean  $\beta$ -conglycinin  $\beta$ -homotrimers. *European Journal of Biochemistry*, 268, 3595-3604.
75. Macosko, CW. (1994). *Rheology: principles, measurements and applications*. VCH Publishers Inc., NY.
76. McIntyre, K. (2015). *SAP Market Report, Nonwovens Industry Magazine*.
77. Mignon, A., Snoeck, D., D'Halluin, K., Balcaen, L., Vanhaecke, F., Dubrueel, P., Van Vlierberghe, S., De Belie, N. (2016). Alginate biopolymers: Counteracting the impact of superabsorbents polymers on mortar strength. *Construction and Building Materials*. 110(1) 169-174.
78. Mills, E.N.C., Marigheto, N.A., Wellner, N., Fairhurst, S.A., Jenkins J.A., Mann R., Belton P.S. (2003) Thermally induced structural changes in glycinin, the 11S globulin of soya bean (Glycine max) - an in situ spectroscopic study. *Biochimica et Biophysica Acta-Proteins and Proteomics* 1648, 105-114.
79. Mine, Y. (1995). Recent advances in the understanding of egg white protein functionality. *Trends in food science and technology*. 6 (7) 225-232.
80. Mo X, Sun X. (2001). Thermal and mechanical properties of plastics molded from urea-modified soy protein isolates. *J App Polym Sci*. 78: 1063-1070.



- 
81. Mohammed Z.H, Hill S.E, Mitchell J.R. (2000). Covalent crosslinking in heated protein systems. *J Food Sci.* 65(2): 221-226.
  82. Mohanty, A.K., Tummala, P., Liu, W., Misra, M., Mulukutla, P.V., Drzal, L.T. (2005). Injection molded biocomposites from soy protein based bioplastic and short industrial hemp fiber. *Journal of Polymers and the Environment* 13, 279-285.
  83. Morel M.H., Bonicel J, Micard V, Guilbert S. (2000). Protein insolubilization and thiol oxidation in sulfite-treated wheat gluten films during aging at various temperatures and relative humidities. *J Agric Food Chem.* 48(2): 186-192.
  84. Okamoto, S. (1978). Factors affecting protein film formation. *Cereal Foods World.* 23:256-262.
  85. Ortega Anta, R. M., López Sobaler, A. M., Requejo Marcos, A. M. y Andrés Carvajales, P. (2004) *La composición de los alimentos. Herramienta básica para la valoración nutricional.*, Editorial Complutense, Madrid. ISBN: 847491776X.
  86. PAC, (2004), 76, 889 (Definitions of terms relating to reactions of polymers and to functional polymeric materials (IUPAC Recommendations 2003)) on page 903.
  87. Paetau, I., Chen, C.Z., Jane, J.L. (1994). Biodegradable plastic made from soybean products. 1. Effect of preparation and processing on mechanical-properties and water-absorption. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 33, 1821-1827. *Journal of Environmental Polymer Degradation*, 2 (3), 211.
  88. *Polímeros.* (2002). Javier Areizaga, M. Milagros Cortázar, José M.Elorza, Juan J. Iruin. Editorial Síntesis. ISBN: 84-9756-026-4.
  89. *Plastics materials.* (2013). J.A.Brydson. Editorial Butterworth Hernemann. ISBN: 0750641320.

- 
90. Polymer Chemistry an Introduction. Malcolm P. Stevens. Oxford University Press. (1999). ISBN: 0-19-512444-8.
  91. Pradeep P. Phulé. Editorial Cengage Learning. ISBN: 13:978-970-686-361-4.
  92. Procesamiento de plásticos. (2004). D.H. Morton-Jones. Editorial Limusa Noriega. ISBN: 968-18-4434-3.
  93. Qin, Y. 6 (2016). Superabsorbents polymers and their medical applications. Medical Textile Materials, 71-88.
  94. Química de los alimentos. Damodaran, S., Fennema, O.R., Pérez, B. S. (2010). Editorial Acirbia S.A. ISBN: 8420011428.
  95. Química Orgánica, estructura y función. K. Peter, C. Vollhardt, Neil E. Schore. (2000). Editorial Omega. ISBN: 84-28-1172-8.
  96. Química Orgánica. John McMurry. (2012). Editorial Cengage Learning. ISBN: 978-607-481-789-8.
  97. Ralston BE, Osswald TA. (2005). Formulation, processing and properties of compression molded soy protein based plastics: A review. In GPEC 2005.
  98. Ralston, B.E., Wochner, N., Osswald. T.A. (2006). Combined Effects of Crosslinkers, Glycerol and Processing Temperature on Properties of Soy Protein Based Plastics. GPEC 2006 Paper Abstract 3B.
  99. Rathna, G.V.N., Damodaran, S. (2001). Swelling behavior of protein-based superabsorbent hydrogels treated with ethanol. Journal of Applied Polymer Science. 81, 2190-2196.
  100. Rathna, G.V.N., Damodaran, S. (2002). Effect of nonprotein polymers on water-uptake properties of fish protein-based hydrogel. Journal of Applied Polymer Science 85, 45-51.

- 
101. Rau, H. Multi-Sensory Technologies for Today's Effervescent Bath and Shower Products. (2001). *Cosmetics and toiletries applied journal*.
102. Ringe, K.I., Meyer, S., Ringe, B. P., Winkler, M., Wacker, F., Raatschen, H. J. (2015) Value of oral effervescent powder administration for multidetector CT evaluation of esophageal cancer. *European Journal of Radiology*. 84 (2) 215–220.
103. Robertson, G.H., Cao, T.K., Gregorski, K.S., Hurkman, W.J., Tanaka, C.K., Chiou, B.-S., Glenn, G.M., Orts, W.J. (2014). Modification of Vital Wheat Gluten with Phosphoric Acid to Produce High Free Swelling Capacity. *Journal of Applied Polymer Science* 131.
104. Sadeghi, M., Hosseinzadeh, H. (2008). Synthesis of starch-poly(sodium acrylate-co-acrylamide) superabsorbent hydrogel with salt and pH-Responsiveness properties as a drug delivery system. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers* 23, 381-404.
105. Saifullah, M., Yusof, Y.A., Chin, N. L., Aziz, M.G., Mohammed, M.A.P., Aziz, N.A. (2016). Dissolution profiling and its comparison of natural fruit powder effervescent tablets *Journal of Food Engineering*. 178, 60-70.
106. Scheraga, H.; Nemethy, G., Steinberg, I. (1962). The contribution of hydrophobic bonds to the thermal stability of protein conformations. *Journal of Biological Chemistry*, 237: 2506–2508.
107. Schmidt V, Giacomelli C, Soldi V. (2005). Thermal stability of films formed by soy protein isolate-sodium dodecyl sulfate. *Polym Degrad Stab*. 87(1): 25-31.
108. Schmidt V, Giacomelli C, Soldi M.S, Soldi V. (2005). Soy protein isolate based films: Influence of sodium dodecyl sulfate and

---

polycaprolactone-triol on their properties. *Macromol Symp.* 229(1): 127-137.

109. Shi, W., Dumont, M.-J. (2014). Processing and physical properties of canola protein isolate-based films. *Industrial Crops and Products* 52, 269-277.

110. Shi, W., Dumont, M.-J., Ly, E.B. (2014). Synthesis and properties of canola protein-based superabsorbent hydrogels. *European Polymer Journal* 54, 172-180.

111. Simon J, Strickland AD. (2005). inventors, Dow Global Technologies Inc., Assignee: In vivo use of water absorbent polymers. United States Patent S6908609B2.

112. Singh H. (1991). Modification of food proteins by covalent crosslinking. *Trends Food Sci Technol.* 2: 196-200.

113. Singh, H., MacRitchie, F. (2004). Changes in proteins induced by heating gluten dispersions at high temperature. *Journal of Cereal Sciences*, 39 (2):297–301.

114. Song, F., Tang, D.-L., Wang, X.-L., Wang, Y.-Z. (2011). Biodegradable Soy Protein Isolate-Based Materials: A Review. *Biomacromolecules* 12, 3369-3380.

115. Tecnología de polímeros. Procesado y propiedades. (2012). Escrito por Maribel Beltrán Rico, Antonio Marcilla Gomis. Publicaciones de la Universidad de Alicante 2012. ISBN: 978-84-9717-232-5.

116. Teodorescu, M., Lungu, A., Stanescu, P.O., Neamtu, C. (2009). Preparation and Properties of Novel Slow-Release NPK Agrochemical Formulations Based on Poly(acrylic acid) Hydrogels and Liquid Fertilizers. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 48, 6527-6534.

- 
117. The Economic Utilisation of Food Co-Products. (2013). Edited por Abbas Kazmi, Peter Shuttleworth. RSC publishing. ISBN: 978-1-84973-615-2.
118. The Maillard reaction. Fayle, S. E., Gerrard, J. A. (2002). P. S. Belton (ed), Cambridge, Royal Society of Chemistry. ISBN: 0-85404-581-3.
119. Tilley, K.A.; Benjamin, R.E.; Bagorogoza, K.E.; Okot-Kotber, B.M.; Prakash, O., Kwena, H. (2001). Tyrosine cross-links: molecular basis of gluten structure and function. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 2627–2632.
120. Toufeili I, Lambert IA, Kokini JL. (2002). Effect of glass transition and cross-linking on rheological properties of gluten: Development of a preliminary state diagram. *Cereal Chem.* 79(1): 138-142.
121. Van Wazer, J.R.; Lyons, J.N.; Colwel, RE. (1963). Viscosity and flow measurements. Interscience Publishers, NY.
122. Visschers R.W., de Jongh H.H.J. (2005). Disulphide bond formation in food protein aggregation and gelation. *Biotechnology advances.* 23: 75-80.
123. Wang, F., Yang, J., Hu S., Li, X., Cheng H. (2016). Influence of superabsorbent polymers on the surrounding cement paste *Cement and Concrete Research.* 81, 112-121.
124. Woodward, S.A. (1990). Egg Protein Gels in *Food Gels.* ed. P. Harris, Essex, England. Elsevier Science Publishers Ltd., pp. 175-199.
125. Woerdeman, D.L. (2006). WO2006017481A2.
126. Yuhua, C., Diana, S., (2009). Effervescence makes calcium carbonate supplements even better.

---

<http://www.naturalproductsinsider.com/articles/2009/08/effervescence-makes-calcium-carbonate-supplements-even-better.aspx>.

127. Zarkadas, C. G., Yu, Z., Voldeng, H. D., Minero-Amador, A. (1993). Assessment of the protein quality of a new high-protein soybean cultivar by amino acids analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 616-623.
128. Zayas, J. F. (1997). *Functionality of proteins in food*. Berlin: Springer-Verlag. ISBN: 978-3-642-63856-5.
129. Zhang, J., Mungara, P., Jane, J. (2001). Mechanical and thermal properties of extruded soy protein sheets. *Polymer* 42, 2569-2578.
130. Zhang, L., Cheng, Pu., Huang, J., Yang, G., Zheng, L. (2003). Ways of strengthening biodegradable soy-dreg plastic. *Journal of Applied polymer science*. 88(2) 422-427.
131. Zhong Z.K., Sun X.S. (2001). Thermal and mechanical properties and water absorption of sodium dodecyl sulfate-modified soy protein (11S). *Journal of Applied polymer science*. 81(1): 166-175.
132. Zhong Z, Sun X.S, Fang X, Ratto J.A. (2001) Adhesion properties of soy protein with fiber cardboard. *Journal of the american oil chemists society*. 78(1): 3741.
133. Zohuriaan-Mehr, M.J., Kabiri, K. (2008). Superabsorbent polymer materials: A review. *Iranian Polymer Journal* 17, 451-477.
134. Zohuriaan-Mehr, M.J., Pourjavadi, A., Salimi, H., Kurdtabar, M. (2009). Protein- and homo poly(amino acid)-based hydrogels with super-swelling properties. *Polymers for Advanced Technologies* 20, 655-671.

---

## **Materiales y Técnicas experimentales**





---

## 2.1. MATERIALES

El objeto estudiado es un sistema formado por proteína y plastificante. En este caso la proteína escogida es la albúmina de huevo, ovoalbúmina y como plastificante se tomó la glicerina.

### 2.1.1. Albúmina de clara de huevo

La albúmina de clara de huevo empleada proviene de Proanda, Proveedora Andaluza S.L., es una albúmina para uso alimentario industrial. Sus características técnicas se indican a continuación.

<b>Análisis</b>	<b>Medida</b>
Humedad	8,0% max
Proteína	80,0% max
Grasa	Alrededor 0,2%
Carbohidratos	0,10%
Cenizas	3,0% max
pH	6,5 a 7,5
Valor energético por 100g	1610 Kj

Tabla 2.1. Características de la Albúmina de clara de huevo.

---

### 2.1.2. Aislado proteico de soja:

El aislado de proteína de soja (SPI, min. 90% de contenido de proteína) fue suministrado por *Protein Technologies International* (SUPRO 500E, Bélgica). El contenido de proteína resultó ser de un 91%, determinándose por cuadruplicado como  $\%N \times 6,25$  mediante un microanalizador LECO CHNS-932 (Leco Corporation, EE.UU.)

<b>Análisis</b>	<b>Medida</b>
Humedad	6,0% máx
Proteína	90,0% min
Grasa	1,0%
Carbohidratos	0,10% máx
Cenizas	5,0% max
pH	6,9 a 7,4

Tabla 2.2. Características del aislado proteico de soja.



---

Figura 2.1. Aislado proteico de Soja de suministrado por *Protein Technologies International*.

### 2.1.3. Glicerina:

El uso de un plastificante se hace necesario a fin de evitar la fragilidad del biomaterial durante almacenamiento y vida útil. Los plastificantes son moléculas de bajo peso molecular y baja volatilidad, los cuales modifican la estructura tridimensional formada por las proteínas. La glicerina utilizada como plastificante fue surtida por Panreac Química, S.A. (España).

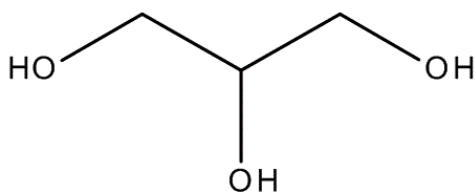


Figura 2.2. Fórmula molecular de la glicerina.

### 2.1.4. Bicarbonato de sodio:

Como agente efervescente se utilizó el bicarbonato sódico de la casa SIGMA-ALDRICH (España), en la siguiente tabla se recogen las características físicas.

Apariencia	Blanco cristalino
Densidad	2,173 g/cm <sup>3</sup>

---

Masa molar	84,0 g/mol
Punto de fusión	50°C
Punto de descomposición	270°C
Solubilidad en agua	10,3 g por cada 100g de agua

Tabla 2.3. Propiedades físicas del bicarbonato sódico.

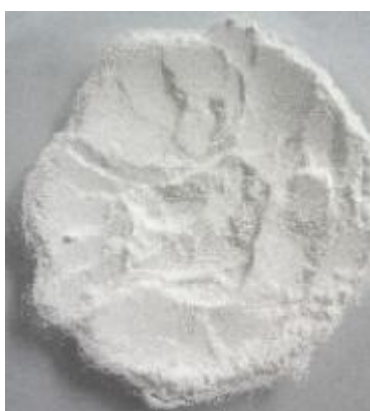


Figura 2.3. Imagen del bicarbonato sódico.

### 2.1.5. Carbonato sódico

Otro de los aditivos utilizados en la formulación como agente efervescente sería el carbonato sódico, el cual a diferencia del bicarbonato tendría desprotonado todos sus grupos  $-OH$  tal y como se observa en la figura 2.4. Al igual que el bicarbonato, el carbonato sódico es surtido por la casa SIGMA-ALDRICH (España). En la siguiente tabla puede apreciarse las características físicas del carbonato sódico.

Apariencia	Blanco cristalino
Densidad	2,54 g/cm <sup>3</sup>
Masa molar	105,98 g/mol
Punto de fusión	851°C
Punto de descomposición	1600°C
Solubilidad en agua	30,7 g por cada 100g de agua

Tabla 2.4. Propiedades físicas del carbonato sódico.

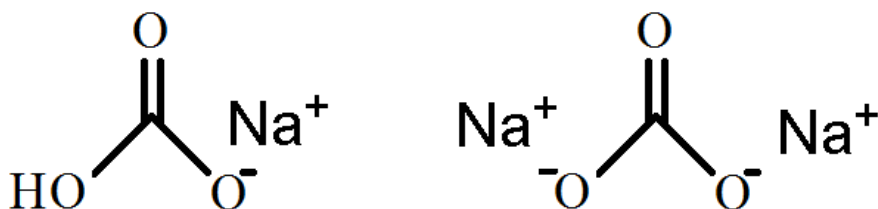


Figura 2.4. Estructura molecular del bicarbonato sódico (izquierda) y carbonato sódico (derecha).

## 2.2. TÉCNICAS EXPERIMENTALES

### 2.2.1. Solubilidad de la proteína. Método de Markwell.

La solubilidad del aislado proteico de soja (SPI) a diferentes valores de pH se determinó por el método de Markwell.

---

## 2.2.2. Mezclado termoplástico discontinuo

Las masas homogéneas de proteínas con plastificantes con o sin aditivos se realizaron en dos equipos diferentes a lo largo del estudio, se comenzó con un plastógrafo *Brabender*, de Duisburg (Alemania), luego se continuó con un mezclador discontinuo *Haake Polylab QC* (ThermoHaake, Karlsruhe, Alemania) en condiciones isotérmicas a 25°C gracias a un flujo de aire frío y recogiendo tanto el par de torsión durante el mezclado como la temperatura dentro del mezclador y del ambiente. Ambos equipos funcionan por procesado por lotes, proporcionando la agitación necesaria para obtener una mezcla homogénea de los componentes



Figura 2.5. A) Plastógrafo *Brabender* con las palas triangulares B) mezclador *Haake Polylab*.

Se realizaron medidas en el mezclador Haake Polylab QC de manera no adiabática con el fin de observar un posible aumento de temperatura por posibles reacciones de la proteína pero no se encontraron diferencias significativas ni en el par de torsión ni en la temperatura de la mezcla.

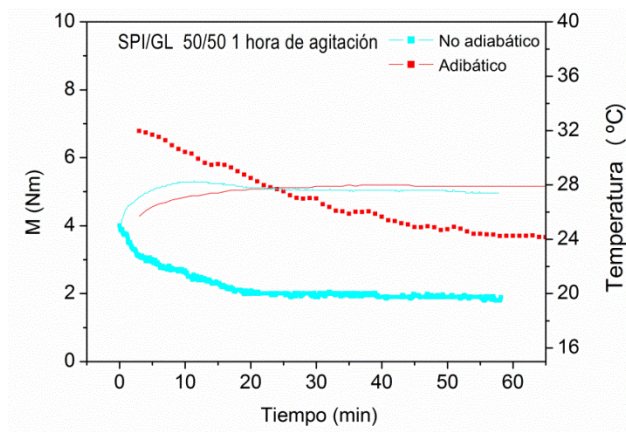


Figura 2.6. Estudio durante 1 hora de agitación de la mezcla soja-glicerina al 50% en peso en el mezclador Haake Polylab, la línea turquesa representa condiciones adiabáticas y la roja condiciones no adiabáticas.

Ambos mezcladores funcionan con dos rodillos amasadores tipo delta que giran en sentido inverso. Las cámaras de mezclado se han llenado a un 75-90% de su capacidad para asegurar un buen funcionamiento del sistema, introduciendo primero el material sólido y luego el líquido, en los casos en los que se introducen aditivos a la mezcla como el bicarbonato de sodio o el carbonato de sodio, éstos se mezclan previamente con la proteína antes de introducirla en el mezclador con el fin de facilitar el homogeneizado.

Las condiciones de preparación se resumen en la siguiente tabla.

	<b>Brabender</b>	<b>Haake Polylab QC</b>
<b>Tiempo (min)</b>	10	10
<b>Velocidad (r.p.m.)</b>	50	50
<b>Condiciones de temperatura</b>	Medida temperatura antes y después del	Adiabáticas

Tabla 2.5. Condiciones de procesado de masas en la *Brabender* y el Haake Polylab.

### 2.2.3. Análisis térmico gravimétrico (TGA)

El análisis térmico es, por definición, la medida de los cambios físicos o químicos que ocurren en una sustancia en función de la temperatura mientras la muestra se calienta con un programa de temperaturas y atmósfera controlada. Esta técnica ofrece la determinación de composiciones de material. Se trata de un método de análisis común en la industria química y farmacéutica. El análisis termogravimétrico (TGA) se realiza en polímeros, alimentos, productos farmacéuticos, así como muchos otros materiales.

En un análisis termogravimétrico se registra continuamente el aumento o descenso de la masa de una muestra colocada en un crisol con respecto al de referencia. El horno se calienta a una temperatura controlada mientras pasa un flujo de fluido controlado en función de la temperatura o del tiempo en que aumenta su temperatura.



Figura 2.7. Equipo Q5000, TA Instruments.



---

La representación de la masa o del porcentaje de masa en función del tiempo se denomina termograma o curva de descomposición térmica. Con el fin de observar las transformaciones que existen en el material con respecto a la temperatura, se llevaron a cabo análisis termogravimétricos (TGA) en un equipo *Q5000*, TA Instruments. El análisis térmico de las muestras se efectuó bajo las siguientes condiciones

<b>Velocidad calentamiento</b>	10 °C/min
<b>Intervalo de Temperatura</b>	20°C- 600°C
<b>Atmósfera</b>	Nitrógeno
<b>Crisol</b>	Platino
<b>Cantidad de muestra para el análisis</b>	10-13 mg

Tabla 2.6. Condiciones experimentales para el análisis termogravimétrico.

#### **2.2.4. Moldeo por inyección**

Para obtener bioplásticos se pueden utilizar diferentes técnicas como moldeo por compresión, casting o extrusión, en este estudio nos hemos declinado por el moldeo por inyección. Esta técnica combina la presión y la temperatura pero a diferencia del moldeo por compresión, la mezcla se introduce en una cámara a una temperatura y a un tiempo determinado, desde donde fluirá la masa hasta un molde por la acción de un pistón que ejerce una presión antes programada. En esta ocasión se ha escogido la inyectora MiniJet Piston Injection Molding System II (ThermoHaake, Karlsruhe, Germany) para estudiar las variables

---

como la temperatura, cámara y molde, la presión, inyección y post-inyección, y el tiempo en la cámara.



Figura 2.8. Inyectora MiniJet Piston Injection Molding System II (ThermoHaake, Karlsruhe, Germany).

Tres moldes con diferentes geometrías fueron utilizados para la obtención de los bioplásticos, cada geometría es válida para diferentes estudios: (1) una circular, 25 x 1.5 x 20.5 mm utilizada para las medidas de capacidad de absorción de agua, (2) probeta rectangular 55 × 10 × 1 mm, para ser usado tanto para ensayos mecánicos dinámicos de temperatura (DMTA) como para medidas de transparencia, y (3) probeta tipo pajarita definida por la ISO 527-2:1993 para determinar las propiedades de tracción en los plásticos.

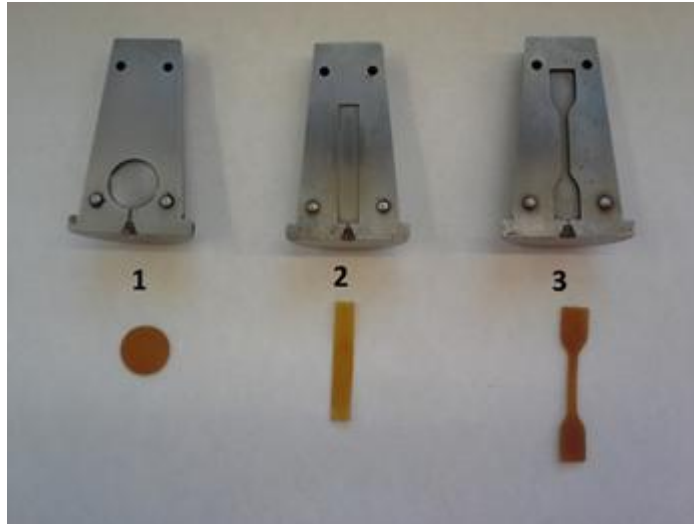


Figura 2.9. 1) molde circular con probeta circular, 2) molde rectangular con su correspondiente probeta y 3) molde tipo pajarita.

### 2.2.5. Caracterización reológica:

Los reómetros son equipos sofisticados capaces de medir las propiedades mediante el control de esfuerzo, *control stress*, o la deformación, *control strain*, en ensayos de oscilatorios; o bien, mediante el control de la velocidad de cizalla en modo estacionario. La posibilidad de aplicar esfuerzos/deformación o velocidades de cizalla muy pequeña, mediante el uso de cojinetes de aire comprimido, hace posible que se puedan realizar ensayos no destructivos para valores de deformaciones muy bajos.

Para caracterizar las muestras se han realizados ensayos viscoelásticos dinámicos, barridos de esfuerzos y de frecuencia, y rampas de temperaturas en cizalla y compresión tanto a las masas como a los bioplásticos.

---

Se utilizaron dos reómetros en el estudio, Thermo Haake Mars (Alemania) y el reómetro de esfuerzo controlado RSA3 (TA Instruments, New Castle, DE, USA). En el cambio de reómetro, para garantizar la fiabilidad y repetitividad de los resultados, se repitieron ensayos en ambos reómetros observándose que eran repetitivos.

Los sistemas sensores utilizados se han variado en función del tipo de ensayo y de la consistencia de las muestras. No se ha podido seguir un protocolo exacto para todas las muestras debido a su diferente naturaleza, influyendo esto en su consistencia, y envejecimiento. Iremos describiendo la técnica experimental por equipo utilizado.

En el caso de los sistemas estudiados en el Mars, masas, tanto los ensayos oscilatorios, barridos de esfuerzo y barridos de frecuencia, como la rampa de temperatura, se ha utilizado desde un sensor placa-placa liso de 60mm de diámetro hasta un sensor placa-placa rugoso con un diámetro de 20mm.



Figura 2.10. Reómetro Thermo Haake Mars.

- Los ensayos de esfuerzo se han realizado a una frecuencia de 1Hz, mientras que el rango de esfuerzo se ha ido modificando según la muestra y el periodo de envejecimiento.
- Para los ensayos dinámicos de barrido de frecuencia, tampoco se ha podido realizar un protocolo exacto para todas las muestras, existiendo variación en el esfuerzo fijado que vendría determinado por el ensayo previo de esfuerzo. El rango de frecuencia se fijó de 10Hz a 0,01Hz.
- En los barridos de temperaturas, primero durante 300s se termostatiza la muestra a 20°C, el intervalo de temperatura escogido es

---

desde 20°C hasta 90°C, con un incremento de 0,01667 °C/s a 300Pa y 1Hz, tanto en la rampa de subida como en la de bajada.

El gap utilizado, la distancia entre los sensores, para todos los ensayos y muestras ha sido de 1mm.

Todos los ensayos se han realizado por duplicado, para verificar que los resultados eran medianamente repetitivos en el día ya que se observaba una evolución con respecto al tiempo de medida.

Para los sistemas estudiados en el ARES, masas y bioplásticos, se ha cambiado el tipo de sensor por el tipo de ensayo y de muestra. Los estudios realizados en las masas, barridos de esfuerzos, de frecuencia y las rampas de temperaturas se han hecho por compresión con sensores circulares mientras que cuando se ha examinado bioplásticos procesados en probetas rectangulares, se han usado en tensión donde el sensor escogido ha sido el dual cantilever bending con el mismo tipo de ensayo que las masas.

- Los barridos de esfuerzo para determinar el rango viscoelástico lineal de cada muestra se han realizado a una frecuencia de 1Hz, modificando el rango de esfuerzo según la muestra.

- Los ensayos dinámicos de barrido de frecuencia, se han definido a un esfuerzo fijado determinado por el ensayo previo de esfuerzo y a la temperatura correspondiente en cada caso de estudio. El rango de frecuencia se fijó de 0.01 a 20Hz.

- 
- En las rampas de temperaturas el intervalo de temperatura escogido es desde  $-30^{\circ}\text{C}$  hasta  $130^{\circ}\text{C}$ , con un incremento de  $3^{\circ}\text{C/s}$  a  $1\text{Hz}$  a esfuerzos comprendidos entre desde  $10^{-4}$  a  $3 \cdot 10^{-3}$ .



Figura 2.11. Ensayo de compresión de masa en el equipo RSA3 con geometría cilíndrica de 8 mm de diámetro.

El gap seleccionado ha sido entorno a 2mm para las muestras en compresión debido a su alta viscosidad.

Todos los ensayos se han realizado por duplicado, para verificar que los resultados eran medianamente repetitivos el mismo día ya que al igual que anteriormente se observaba una evolución con respecto al tiempo de medida.

---

## **Rigidez y resistencia mecánica**

Toda pieza, componente o artículo fabricado de cualquier material debe resistir las sollicitaciones externas y las que se generen en su interior como consecuencia y como reacción a aquellas, o por efecto de los procesos de conformado y de los tratamientos a que ha estado sometido durante su fabricación. Los requisitos de resistencia mecánica no se limitan en general a que la pieza no se rompa, sino que, además, exigen que no aparezcan deformaciones que pongan en peligro su estabilidad, dificulten su funcionalidad o afecten a su estética.

Las sollicitaciones mecánicas externas pueden ser esfuerzos concertados o repartidos, momentos flectores o torsores; generalmente pueden ser fácilmente identificadas y claramente definidas en cada caso particular. Las internas son mucho más difíciles de reconocer y evaluar, pero muchas veces se escapan del control del diseñador y del fabricante; pueden ser tensiones térmicas (creadas por diferentes velocidades de enfriamiento, o diferentes coeficientes de dilatación, en piezas o componentes de geometría inadecuada) o consecuencia de deformaciones impuestas por las condiciones de servicio. Todas ellas definen un estado de tensiones en cada punto (tensiones normales en la dirección de los tres ejes geométricos  $\sigma$  y las correspondientes tensiones cortantes  $\tau$ ) al que corresponde un estado de deformaciones (lineales  $\varepsilon$  y angulares  $\gamma$ ) y también en cada punto.



---

## 2.2.6. Ensayos de tracción

Como hemos mencionado anteriormente, el ensayo de tracción de un material consiste en someter a una probeta normalizada a un esfuerzo axial de tracción creciente hasta que se produce la rotura de la probeta. Este ensayo mide la resistencia de un material a una fuerza estática o aplicada lentamente.

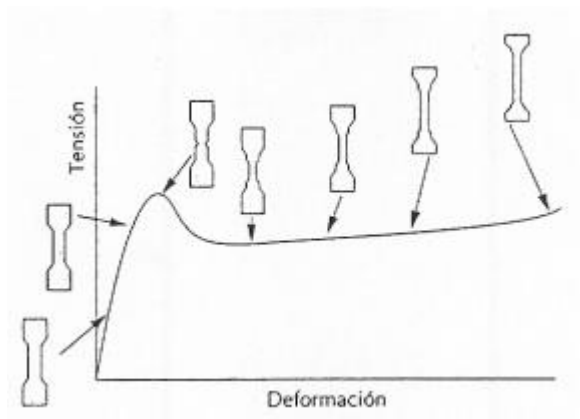


Figura 2.12. Gráfico tensión frente a la deformación de una probeta al sufrir un esfuerzo axial.

Los ensayos de tracción se realizaron a temperatura ambiente con una máquina universal de ensayos 10 kN Electromechanical Testing System (MTS, EE.UU.), de acuerdo con la norma ISO 527-2: 1993 con una velocidad de extensión de 1 mm/min a temperatura ambiente hasta rotura. El equipo dispone de un extensómetro para registrar con precisión la elongación de la muestra durante el ensayo. Las probetas tipo pajarita se sujetan con las mordazas de la prensa 24 horas después de su moldeo por inyección. Se realizaron al menos seis replicados para cada muestra de la fabricación del bioplástico, mostrándose los promedios y sus desviaciones estándar.

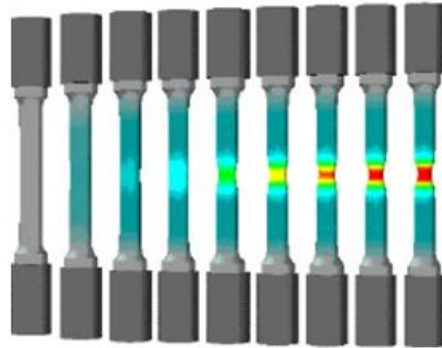


Figura 2.13. La muestra se coloca entre las mordazas las cuales se van separando a una velocidad de 1mm/mm. La probeta va sufriendo una elongación hasta llegar a la tensión máxima que puede aguantar por encima de cual fractura.

Se realizan 6 replicados para cada tipo de probeta llevada a estudio.

### **2.2.7. Absorción de agua**

En este punto hemos empleado dos métodos para medir la sorción del agua por las probetas circulares ( $25 \times 1.5 \text{ mm}^2$ ), uno sería por la completa inmersión de los bioplásticos donde el agua se encuentra en estado líquido y otro a través de la humedad relativa (RH) del ambiente en la que el agua está en estado gaseoso.

Para determinar los cambios en la masa de las probetas debido a la absorción por inmersión de agua se sigue el protocolo definido en la normativa ASTM D570 (2005) UNE-EN ISO 62:2008. Las probetas

---

se sumergen en un vol cerrado con 300ml de agua destilada durante 24h. La capacidad de absorción de agua se calcula como un porcentaje de agua absorbida con respecto a la masa de la probeta inicial mediante la siguiente formula:

$$\text{Capacidad absorción \%} = \frac{m_2 - m_1}{m_1} \times 100 \quad \text{ec.1}$$

Donde  $m_1$  es el peso de la probeta después de pasar 24h en un horno a 50°C y enfriada en un desecador y  $m_2$  es el peso de la probeta justo tras pasar 24h inmergidas en agua destilada, donde también se vuelve a medir para calcular el cambio de volumen.

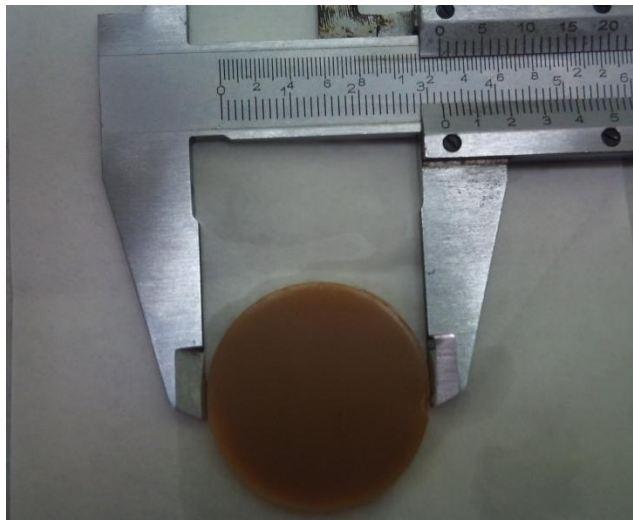


Figura 2.14. Medida de una probeta con el pie de rey tras su inmersión en agua destilada durante 24horas.

---

Para la pérdida de material soluble en agua, en porcentaje, se sigue la siguiente fórmula para su cálculo:

$$\text{Pérdida de material soluble \%} = \frac{m_1 - m_3}{m_1} \times 100 \quad \text{ec.2}$$

$$\text{Soluble matter loss \%} = \frac{m_1 - m_3}{m_1} \times 100 \quad \text{ec.3}$$

Donde  $m_3$  es el peso final de la probeta seca tras pasar por segunda vez por la estufa a 50°C durante 24h después de su inmersión.

Todos los ensayos se han hecho al menos por duplicado y tras 24h después del moldeo de las probetas por inyección.

Para la sorción en saturación atmosférica, se han realizado los cálculos utilizando la ecuación 1, sin embargo en este caso,  $m_2$  es el peso de la probeta justo después de una semana en un vol con una disolución saturada de diferentes sales equilibrados a diferentes RH. Cuatro valores de RH fueron seleccionados: 100%, 75%, 53% y 33%, obtenida por disoluciones saturadas de sales en agua destilada (NaCl, Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> y MgCl<sub>2</sub>), respectivamente.

Al menos dos replicados de cada medición se realizaron 24 h después de la fabricación del bioplástico.

---

### 2.2.8. Transparencia:

La transparencia de las probetas se midió con un método cuantitativo basado en la absorción, la transmitancia. Se define como la fracción de luz incidente, a una longitud de onda ( $\lambda$ ) determinada, que pasa a través de una muestra. Para cuantificar requiere dos medidas de potencia: una, antes de que el haz haya pasado a través del medio que contiene al analito ( $P_0$ ), y la otra, después ( $P$ ). Como consecuencia de las interacciones de los fotones y los átomos o moléculas absorbentes, la potencia del haz disminuye de  $P_0$  a  $P$ . Se expresa con frecuencia como porcentaje de la relación de  $P_0$  y  $P$ :

$$T (\%) = \frac{P}{P_0} \times 100 \quad \text{ec.4}$$

Las medidas de transparencia fueron hechas en un espectrofotómetro Genesis 20 (Thermo Scientific, USA). La transmitancia (%) fue medida utilizando probetas de geometría rectangular usando una longitud de onda de 600nm.

### 2.2.9. Porosimetría por inyección de mercurio

Técnica indirecta para la caracterización de los materiales porosos, obteniéndose una distribución de la porosidad en función del tamaño aparente de acceso a los poros.

Se basa en los fenómenos de capilaridad generados por los líquidos que no mojan a los sólidos en los que están en contacto. Así, un líquido como el mercurio que no penetra espontáneamente en los

conductos capilares, precisa una presión para su introducción que es inversamente proporcional al radio de los mismos:

$$r = 2 * \sigma * \cos \alpha / P \quad \text{ec.5}$$

Donde : P es la presión

r es el radio de los poros

$\sigma$  es la tensión superficial del mercurio

$\alpha$  es el ángulo de contacto sólido-líquido.

En el caso de conductores cilíndricos ideales, de acuerdo con los valores normalmente aceptados para los materiales rocosos ( $\sigma$ : 480 dinas/cm y  $\alpha$  : 141,3°) dicha relación es:

$$r = \frac{7'5}{P} \quad \text{ec.6}$$

Donde el radio de los capilares “r” viene expresado en  $\mu\text{m}$ , y la presión “P” en  $\text{Kg}/\text{cm}^2$ .

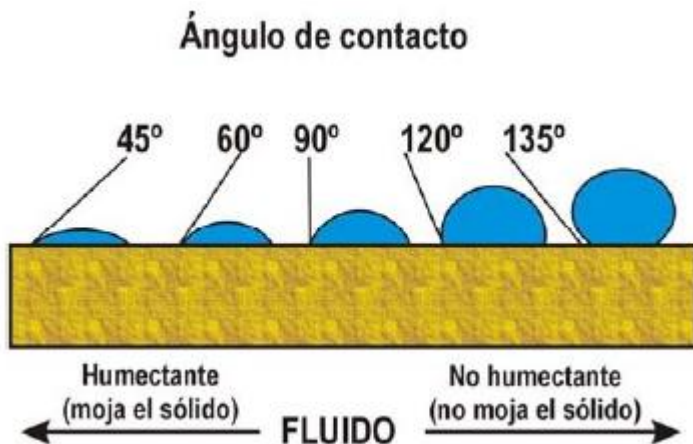


Figura 2.15. Ángulo de contacto de una gota de mercurio sobre una superficie sólida (Webb, P.A., 2001a)

---

El ensayo porosimétrico es un técnica destructiva que permite estudiar la red porosa de los materiales en un rango que oscila entre  $0,0035\mu\text{m}$ - $1000\mu\text{m}$ . Consiste en la penetración controlada de mercurio como respuesta a una presión hidrostática aplicada y registrar el volume de mercurio absorbido. Para cada intervalo de presión considerado, el volumen de mercurio absorbido nos indica el volume de poros de la muestra que tienen un determinado interval de tamaño de acceso.

El ensayo se lleva a cabo mediante el equipo Pore Master-60 GT de la marca Quantachrome Instruments. Este equipo analiza el tamaño de poro desde 900 micras y tamaños inferiores a los 3.5 nm de diámetro.



Figura 2.16. Equipo utilizado, Pore Master, Quantachrome Instruments

El sistema dual permite el llenado simultáneo de dos células con mercurio en las estaciones de baja presión, si la intrusión de mercurio no es apreciable que sería señal de un tamaño de poro pequeño, se procede a instalar las células con la muestra en la cámara de alta presión. En ambos casos se realiza el registro del volumen frente a la

---

presión usando el software de control Poremaster. Para medir tamaños de poro superiores a 7 micras se utiliza, generalmente, baja presión (0.2-50 psi), mientras que para tamaños menores se usa el de alta presión (20-60000 psi). El ensayo se ha realizado a una temperatura de 20°C, bajo un ángulo de contacto del mercurio con la muestra de 140°, siendo el rango de presión estudiado entre 0.2 y 50.000 psi.

### **2.2.10. Microscopio Confocal Láser de Barrido**

El CLSM (Microscopio Confocal Láser de Barrido) combina el microscopio de fluorescencia con imagen electrónica y puntos de luz suministrados que nos permite obtener imágenes en tres-dimensiones sobre el objeto deseado.

Las muestras seleccionadas fueron analizadas por medio de un microscopio confocal láser de barrido (CLSM) LSM 7 DUO de Carl Zeiss Microscopio GmbH (Jena, Alemania). El CLSM fue utilizado en modo fluorescente y una longitud de onda del láser de 405nm. Fueron analizadas longitudes de onda desde 410 a 585nm.



Figura 2.17. El equipo utilizado (CLSM) LSM 7 DUO de Carl Zeiss Microscopio GmbH (Jena, Alemania).



---

Se utilizó un objetivo 20x. No fue necesario teñir la muestra cuando se estudió ya que la proteína seleccionada fue la Albúmina de huevo y esta mostró s propiedades autofluorescentes.

### **2.2.11. Microscopía de barrido electrónico**

En el microscopio electrónico de barrido, un campo magnético permite enfocar los rayos catódicos (electrones) y obtener una imagen tridimensional, por el examen de la superficie de las estructuras, permitiendo la observación y la caracterización de materiales orgánicos e inorgánicos, proporciona aumentos de 200.000 diámetros.

Previamente la muestra se recubre con oro, paladio o carbono. Gracias a este recubrimiento se permite que el haz de electrones primarios choquen contra la muestra recubierta con el material conductor para que éstas sean eléctricamente conductivas.



Figura 2.18.

---

Este procedimiento se realiza con un rociador o Sputter coater. Se coloca la muestra en la cámara, se sella y se programa el tiempo de recubrimiento en el cual el oro cae uniformemente, se hace vacío y automáticamente el timer se enciende y la muestra se recubre totalmente según el tiempo programado, aproximadamente unos 2 minutos. Cuando el tiempo ha finalizado, lentamente empieza a ingresar aire a la cámara y de esta forma, la muestra está lista para colocarla en el MEB. Una vez la muestra está recubierta no se debe tocar con los dedos, por lo tanto es necesario utilizar pinzas.

Microestructura de las muestras de bioplásticos seleccionados se determinó en colaboración con el Servicio de Microscopía (CITIUS, Universidad de Sevilla, Sevilla, España) como se describe por Orawan *et ál.*<sup>25</sup> (2006). Las muestras con un espesor de 1,5 mm se montaron en un trozo de bronce, y revestido por bombardeo iónico con oro. Las muestras se observaron con un XL-30 microscopio electrónico de barrido Philips (Eindhoven, Países Bajos) a un voltaje de aceleración de 10 kV.



---

**ESTUDIO DE LA VISCOELASTICIDAD LINEAL DE  
MEZCLAS DE ALBÚMINA DE HUEVO Y GLICERINA**



---

## Resumen

Diferentes masas de proteína de albúmina de huevo y glicerina se obtuvieron a partir de un mezclador de laboratorio tipo Brabender. El efecto de la composición, las condiciones de almacenamiento, así como de la temperatura sobre sus propiedades reológicas lineales se estudió a diferentes proporciones de sus ingredientes: 50/50, 60/40 y 65/35 (p/p). Al aumentar la relación proteína/plastificante, el espectro mecánico de las masas estudiadas mostró un incremento bastante importante (del orden de 15 000 veces superior a su valor original en el caso del módulo de almacenamiento a 1 rad/s ( $G'$ ), alcanzando un mayor grado de estructuración. Con ese cambio en la composición, también fue posible observar una evolución desde un comportamiento predominantemente viscoso a otro predominantemente elástico, reflejado en un cambio desde 1,9 a 0,3 en los valores de la tangente de pérdidas,  $\tan \delta$ , a 0,16 Hz

Cuando se estudió el efecto del tiempo de almacenamiento sobre el módulo de almacenamiento ( $G'$ ) y el módulo de pérdidas ( $G''$ ) de las muestras, se encontró un mínimo en sus valores a tiempos relativamente cortos. Dicho mínimo, probablemente relacionado con procesos de relajación, podría ayudar a definir las condiciones óptimas de procesado de las mezclas, por ejemplo, por moldeo por inyección. Asimismo, el almacenamiento a bajas temperaturas también demostró jugar un papel importante en la inhibición del envejecimiento observado en las muestras, al retrasar de manera importante la evolución de  $G'$  y  $G''$ .

Para estudiar el efecto de la temperatura sobre las muestras proteína/plastificante, se sometieron a un tratamiento térmico hasta 90°C son tratadas con métodos térmicos hasta 90°C, un mínimo es siempre encontrado en  $G'$  y  $G''$  a bajas temperaturas con un aumento de la relación proteína/glicerina (desde 62 a 49°C).

---

### 3.1. Introducción

La mayoría de las aplicaciones de los diferentes constituyentes del huevo se encuentran relacionadas con la yema, lo que conduce eventualmente a un exceso de albumina de huevo en la industria alimentaria. Muchos estudios han investigado con éxito la viabilidad del uso de la albúmina de huevo como material para formar películas y recubrimientos en alimentos<sup>1-8</sup>.

Aunque muchos de los procesos utilizados para producir films de proteína de huevo están basados en métodos físico-químicos o de *casting*<sup>8</sup>, existen otras técnicas disponibles para ello, como los métodos termo-mecánicos. Entre estos últimos cabe destacar la extrusión<sup>9,10</sup> o el moldeo por compresión<sup>2,6,11,12</sup>. Otra opción para el procesado de masas en forma de bioplásticos es el moldeo por inyección, que consiste en la alimentación de *pellets* plásticos a través de un cilindro provisto de un sistema de calefacción que ayuda a la fusión de los *pellets* y al mantenimiento de la temperatura del cilindro. A continuación, el material es inyectado a alta presión en la cavidad del molde. Cuando el bioplástico producido es enfriado, el molde se abre para extraer el material plástico<sup>13</sup>. Masas de proteína de albúmina de huevo con glicerina como plastificante similares a las estudiadas en el presente capítulo han sido utilizadas previamente para la obtención de materiales poliméricos biodegradables mediante moldeo por compresión<sup>6,7</sup> y podrán ser utilizadas para obtener bioplásticos mediante moldeo por inyección, tal y como se describirá en el siguiente capítulo. Por tanto, es necesario caracterizar estos materiales desde una perspectiva reológica con el fin de seleccionar las condiciones de procesado óptimas que economícen el proceso de moldeo desde un punto de vista

---

energético. De este modo, parámetros tales como la temperatura y el tiempo de residencia en la cámara de inyección (cilindro), la presión de inyección y la temperatura del molde pueden ser estimados a partir de mediciones reológicas.

El principal objetivo del presente capítulo es la caracterización de diferentes masas de proteína de albúmina de huevo y glicerina con objeto de su utilización posterior como materia prima en el procesado y fabricación de bioplásticos a partir de técnicas que impliquen altas temperaturas, tales como el moldeo por inyección. Algunos parámetros relevantes que se han considerado para tales técnicas de procesado han sido la composición, las condiciones de almacenamiento, el tiempo de envejecimiento o la temperatura.



---

## 3.2. Materiales y métodos

### 3.2.1. Materiales

Los materiales utilizados en el siguiente capítulo vienen especificados en el siguiente cuadro resumen.

	<b>Materias primas</b>	<b>Proveedor</b>
<b>Proteína</b>	Albúmina (EW)	Proanda, S.L.
<b>Plastificante</b>	Glicerina (GL)	Panreac Química, S.A.

Tabla 3.1. Materias primas utilizadas para los sistemas EW/GL.

### 3.2.2. Preparación de muestras

Las masas fueron obtenidas a temperatura ambiente, bajo condiciones adiabáticas, siguiendo el mismo protocolo descrito previamente en la bibliografía<sup>14</sup> y en el capítulo 2. Durante el proceso de mezclado se detectó únicamente un ligero aumento de temperatura, siempre inferior a 2°C, lo cual es consistente con resultados obtenidos anteriormente por otros autores<sup>7</sup>. Las muestras se almacenaron selladas en bolsas de plástico a 4°C, salvo que se indique lo contrario.

En el siguiente cuadro resumen se hace un breve repaso de las condiciones de mezclado de este estudio.

<b>Mezclador</b>	<b>Velocidad</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Condiciones</b>	<b>Sistemas (p/p)</b>
Plastógrafo	50 r.p.m.	10 min	No	50/50

adiabáticas	40/60
	35/65

Tabla 3.2. Condiciones de mezclado de los sistemas en el mezclador Thermo Haake.

### 3.2.3. Tipos de ensayos

Se hicieron medidas de cizalla oscilatoria de baja amplitud (SAOS, *Small Amplitude Oscillatory Shear*) con la finalidad de obtener propiedades de viscoelasticidad dinámica en la región viscoelástica lineal por medio de un reómetro de esfuerzo controlado MARS. Todos los sistemas tuvieron el mismo historial termo-reológico, salvo los utilizados en el estudio del efecto de almacenamiento por congelación.

<b>Reómetro</b>	Mars
	Placa-placa rugosa de 60 a 20mm.
<b>Sensores</b>	Peltier para rampa de T <sup>a</sup>
<b>Gap</b>	1-1,2 mm
	Barrido esfuerzo
<b>Ensayos</b>	Barrido frecuencia
	Barrido de temperatura

Tabla 3.3. Condiciones de ensayos en el reómetro Mars.

Cada etapa del tratamiento térmico se llevó a cabo a esfuerzo constante, el cual se ajustó convenientemente para estar siempre en la región viscoelástica lineal.

---

A fin de una mejor caracterización de las muestras también fueron estudiadas mediante microscopia confocal.

<b>Microscopio</b>	Zeiss
<b>Longitud de onda</b>	410 -585nm
<b>Objetivo</b>	x20
<b>Tinte muestra</b>	No hizo falta, proteína autofluorescente.

Tabla 3.4. Condiciones de microscopia confocal.

### **3.3. Resultados y discusión**

#### **3.3.1. Influencia de la composición**

Las diferentes masas fueron procesadas en el plastógrafo Brabender a diferentes relaciones proteína de albúmina de huevo/glicerina: 50/50, 60/40 y 65/35. Todas las muestras estudiadas mostraron una región viscoelástica lineal evidente tal y como se observó en los resultados de los ensayos de barrido de esfuerzo a frecuencia constante (1 Hz) realizados 24 h después de su preparación. Así, en la figura 3.1 se representa la evolución de parámetros viscoelásticos lineales representativos, como el módulo de almacenamiento y el módulo de pérdidas ( $G'$ ,  $G''$ , respectivamente) en función del esfuerzo para los sistemas estudiados.

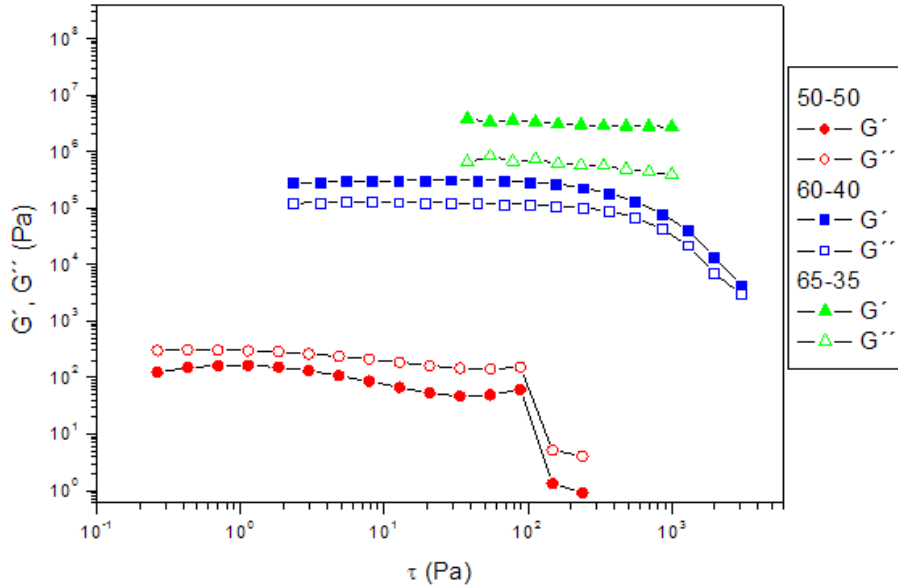


Figura 3.1. Barridos de esfuerzo a frecuencia constante (1 Hz) para las masas albúmina de huevo/glicerina 50/50, 60/40 y 65/35 (p/p).

Los resultados muestran una variación importante de las propiedades viscoelásticas lineales del material en función de la relación proteína/plastificante, variando consecuentemente el intervalo viscoelástico lineal (IVL). Se observa cómo a medida que hay un aumento de proteína, los sistemas poseen un intervalo viscoelástico lineal de mayor extensión. Para observar esto de forma clara, se ha representado en la figura 3.2. el esfuerzo frente a la deformación en escala lineal, quedando definidos los valores críticos de ambos parámetros por el último punto que permite un buen ajuste a una línea recta ( $R \geq 0,999$ ). Es posible apreciar cómo mientras el esfuerzo crítico ( $\tau_c$ ) aumenta al aumentar la relación proteína/plastificante, la deformación crítica ( $\gamma_c$ ) descende de 0,57% (50/50) a 0,036% (65/35). Por tanto, cabría concluir cómo los sistemas poseen una estructura

mucho más resistente a la cizalla a medida que aumenta su contenido en proteína.

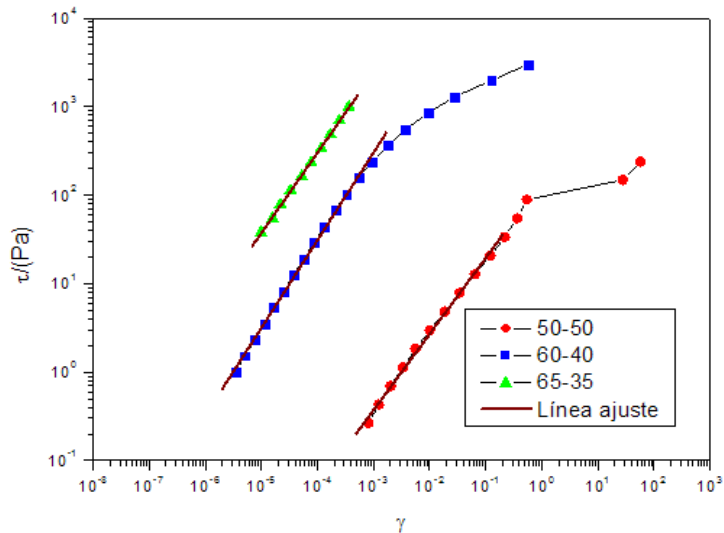


Figura 3.2. Evolución de esfuerzo frente a deformación a frecuencia constante (6,8 rad/s) para las masas albúmina de huevo/glicerina 50/50, 60/40 y 65/35.

La figura 3.3. muestra la evolución de los parámetros viscoelásticos lineales, tanto el módulo elástico ( $G'$ ) como el viscoso ( $G''$ ), con la frecuencia para los tres sistemas estudiados un día después de su producción. El espectro mecánico muestra un notable aumento con el aumento de la proporción de proteína. Así, el sistema con el contenido de proteína más bajo (50/50) muestra un comportamiento predominantemente viscoso, con valores de  $G''$  mayores que  $G'$  a lo largo de todo el rango de frecuencia estudiado, mientras que el comportamiento elástico siempre prevalece sobre el viscoso para el sistema con mayor contenido de proteína (65/35).

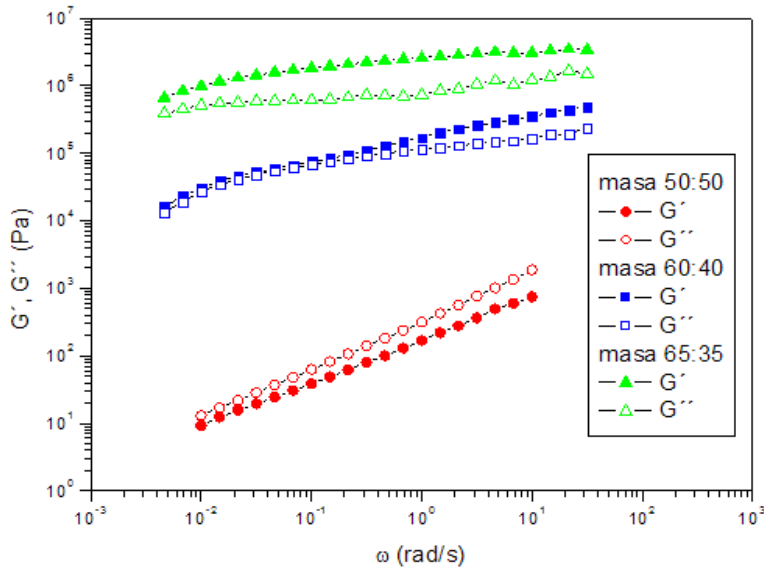


Figura 3.3. Evolución de las funciones viscoelásticas con la frecuencia para los diferentes sistemas en función de su concentración.

La masa 60/40 presentan un comportamiento intermedio, con  $G'$  y  $G''$  prácticamente coincidentes en sus valores durante la primera parte del espectro mecánico, imponiéndose finalmente el módulo de almacenamiento sobre el módulo de pérdidas a altas frecuencias.

Por otra parte, es posible observar cómo la pendiente de ambas funciones viscoelásticas ( $G'$  y  $G''$ ) decrece cuando el contenido de proteína aumenta. Esto podría relacionarse con el hecho de que una concentración de proteína superior favorece una estructuración en la masa, al aumentar el número de enlaces covalentes en la proteína. Por lo tanto, el sistema más concentrado (65/35) muestra un espectro mecánico con una región *plateau*, típica de geles débiles en los que  $G'$  permanece prácticamente constante y  $G''$  alcanza un valor mínimo. Esta región podría estar asociada a un entrecruzamiento estructural formado por las cadenas de proteína.

---

### 3.3.2. Influencia del tiempo de almacenamiento

Con la finalidad de estudiar posibles efectos de envejecimiento sobre las propiedades reológicas de las masas de albúmina de huevo y glicerina se prepararon muestras con diferentes relaciones proteína/glicerina (50/50, 60/40 y 65/35) y se caracterizó su reología mediante ensayos SAOS a diferentes tiempos desde su mezclado en el plastógrafo Brabender (1, 15 y 30 días). Las muestras fueron almacenadas a 4°C previamente a su caracterización reológica.

Las tablas 3.5. y 36 muestran la evolución para la deformación crítica ( $\gamma_c$ ) y el esfuerzo crítico ( $\tau_c$ ) de las diferentes muestras con el tiempo de almacenamiento. Para todos los sistemas, se puede observar cómo en general los valores del  $\tau_c$  aumentan con el tiempo de almacenamiento. En cualquier caso, todas las medidas de barridos de frecuencia han sido llevadas a cabo utilizando un esfuerzo por debajo del valor crítico correspondiente, es decir, los ensayos oscilatorios de frecuencia se realizaron siempre a un esfuerzo dentro del IVL.

Las figuras 3.4., 3.5. y 3.6. muestran el espectro mecánico para las masas 50/50, 60/40 y 65/35 a los diferentes tiempos de almacenamiento.

---

Sistema Proteína/plastificante	$\gamma_c$			
	tiempo (días)			
	1	5	15	30
50/50	0,57	0,54	0,10	2,19
60/40	0,055	0,079	> 1,12	> 2,9

---

65/35	> 0,036	0,44	0,11	-
-------	---------	------	------	---

Tabla 3.5. Valores de la deformación crítica para las diferentes masas a distintos tiempos de envejecimiento.

Sistema Proteína/plastificante	$\tau_c$ tiempo (días)			
	1	5	15	30
50/50	1,84	4,83	3470	2510
60/40	157	108	>3000	>3000
65/35	>1000	1250	>3000	-----

Tabla 3.6. Valores del esfuerzo crítico (Pa) para las diferentes masas a distintos tiempos de envejecimiento.

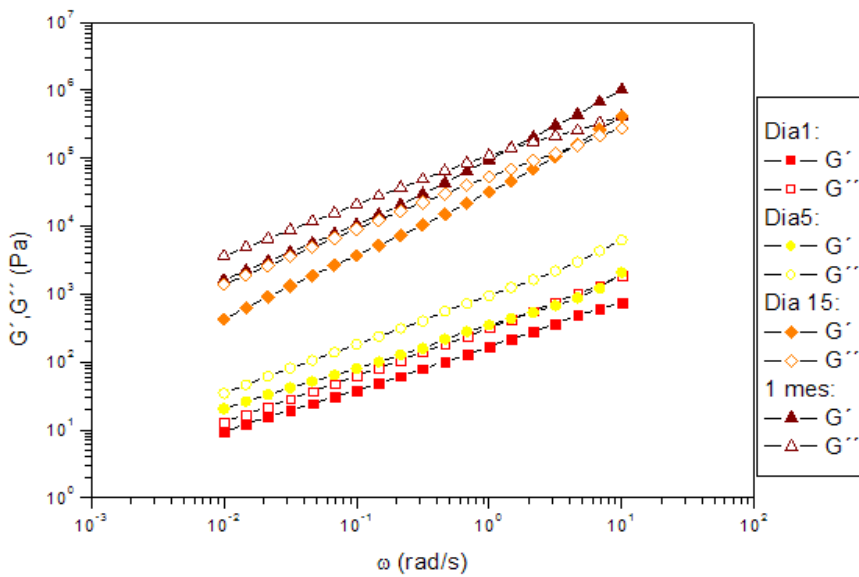


Figura 3.4. Estudio del comportamiento de los módulos en un barrido de frecuencia para la masa de concentración 50/50 % p/p.



---

El sistema 50/50 (figura 3.4.), el de menor cantidad de proteína de los estudiados, es además el menos estructurado de los mismos, tal y como ya se observaba en la figura 3.1. Este sistema presentó un comportamiento predominantemente viscoso para todos los tiempos de almacenamiento en la mayor parte de las frecuencias estudiadas, aunque un punto de cruce entre  $G'$  y  $G''$  pudo ser detectado, apareciendo por primera vez después de 15 días de almacenamiento. Este punto de cruce se desplaza hacia valores de frecuencia más bajos conforme la muestra envejece. Por lo tanto, el envejecimiento conduce a un cambio en el comportamiento desde uno similar al de un fluido, a cortos periodos de almacenamiento, hasta otro típico de una solución de polímeros<sup>15</sup>. En cualquier caso, el principal efecto que ocurre como consecuencia del almacenamiento a 4°C es un aumento evidente de los valores de ambos módulos con el transcurso del tiempo de almacenamiento.

La figura 3.5. revela cómo, para la masa 60/40, ocurre una reducción notable en los valores de  $G'$  y  $G''$  durante los primeros cinco días de almacenamiento. Así,  $G'$  y  $G''$  a 0,159 Hz sufrieron una reducción del 67 y 55%, respectivamente, desde el momento de su preparación hasta el quinto día de almacenamiento. En ese momento se alcanzó un mínimo en ambas funciones, seguido de un importante y progresivo incremento en las propiedades viscoelásticas, que llegó a ser superior a un orden de magnitud después de un mes de almacenamiento a 4°C.

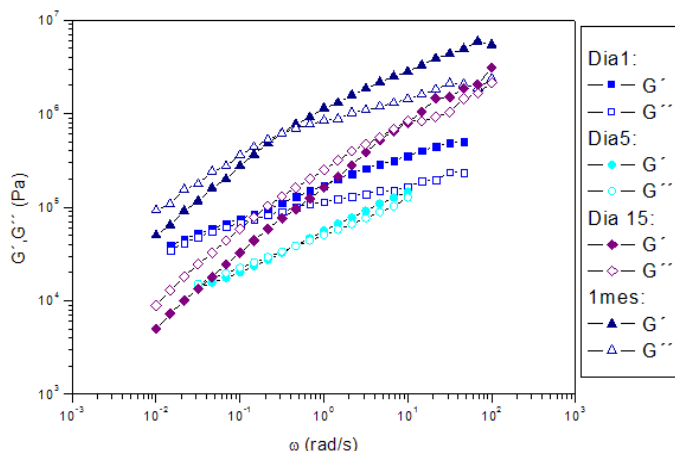


Figura 3.5. Evolución de las funciones viscoelásticas con la frecuencia para el sistema, 60/40 % (p/p), en función del tiempo de almacenamiento.

Además, para la misma la masa de proporción proteína/polisacárido 60/40, también fue posible observar un cambio del tipo de comportamiento como consecuencia del envejecimiento. Así, la masa inicial era predominantemente elástica, con un comportamiento de gel muy débil. Sin embargo, después de 15 y 30 días se puede observar un comportamiento viscoelástico característico de una disolución de polímeros tal y como se muestra en la figura 3.5. Puede observarse también un cambio en la posición del punto de corte hacia valores menores de frecuencia desde el día 15 al 30 de almacenamiento. Resulta interesante señalar el comportamiento de gel crítico que a los 5 días de envejecimiento presenta la masa, observándose la misma pendiente con la frecuencia para  $G'$  y  $G''$ .

En la muestra 65/35 (figura 3.6.), que como se comentó previamente muestra inicialmente un comportamiento predominantemente elástico en todo el intervalo de frecuencia considerado, muestra una evolución del espectro mecánico con el tiempo de almacenamiento similar al observado en la muestra 60/40. Así, se observó un mínimo en las

propiedades viscoelásticas, denotando un comportamiento viscoso evidente, durante el quinto día. A partir de ese momento, la muestra presenta un comportamiento típico de una solución de polímeros con un punto de corte entre  $G'$  y  $G''$  que se desplaza hacia bajas frecuencias al aumentar el tiempo de almacenamiento. Después de 30 días desde el procesado de la masa, tiene lugar un endurecimiento importante, de manera que las medidas de las propiedades viscoelásticas lineales no pudieron llevarse a cabo en las mismas condiciones experimentales.

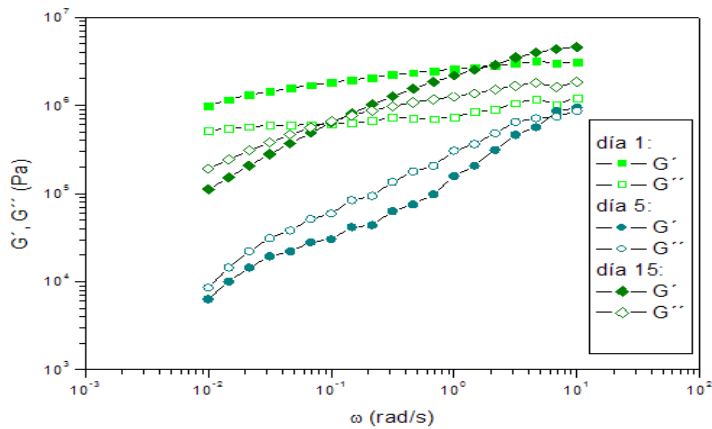


Figura 3.6. Evolución de las funciones viscoelásticas  $G'$  y  $G''$  con la frecuencia para el sistema, 65/35 en función del tiempo de almacenamiento.

En la figura 3.7 se puede observar el efecto que tiene en el envejecimiento de las muestras su congelación mediante almacenamiento a una temperatura de  $-26^{\circ}\text{C}$  a través de sus parámetros viscoelásticos ( $G'$  y  $G''$ ). El espectro mecánico de las muestras un día después de la descongelación se muestra en tal figura para las tres proporciones de glicerina y albúmina de huevo estudiadas (50/50, 60/40, 65/35). Si se comparan estos resultados con los que aparecían en la figura 3.1, se pone de manifiesto el hecho que el proceso de

congelación no resulta en ningún efecto relevante sobre las propiedades viscoelásticas lineales para ninguna de las masas. Es decir, esto significa que la congelación de las muestras inhibe el envejecimiento observado en las muestras de proteína de albúmina de huevo/glicerina.

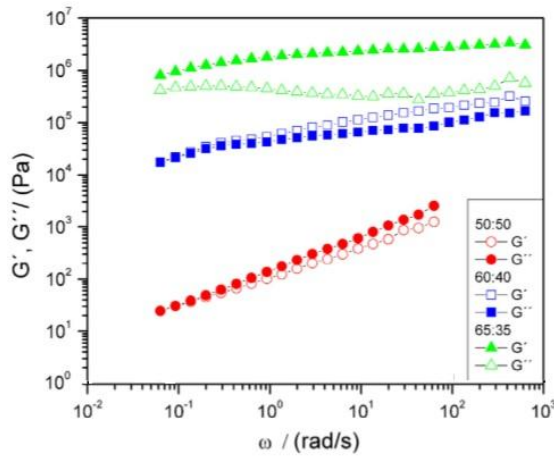


Figura 3.7. Espectro mecánico para los tres sistemas estudiados un día después de su descongelación.

En la figura 3.8. resulta evidente cómo la congelación afecta a la evolución de los parámetros viscoelásticos a lo largo del tiempo de almacenamiento. De esta manera, se puede observar cómo los resultados obtenidos por la muestra almacenada en condiciones de congelación durante un mes después de su descongelación son evidentemente más bajos que los de la muestra sin congelar tras el mismo periodo de almacenamiento. De hecho, el comportamiento de la primera es similar a la de la muestra refrigerada después de 15 días desde su procesado (figura 3.5).

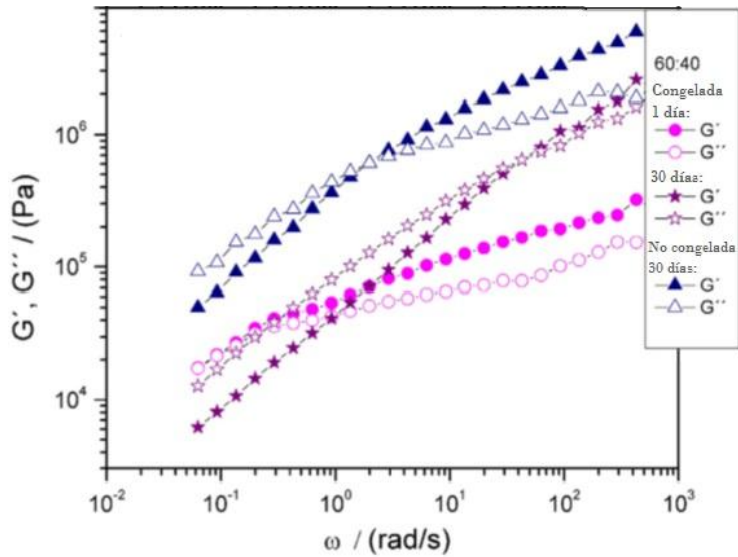


Figura 3.8. Espectro mecánico para la masa 60/40, 1 día y 30 días después de su descongelación y para la masa 30 días después de su procesamiento no almacenada en congelador.

A partir de estos resultados, se puede concluir que el almacenamiento de las muestras a  $-26^{\circ}\text{C}$  juega un papel importante incluso después de su descongelación, ya que retrasa de manera importante la evolución de  $G'$  y  $G''$ . La información extraída de estos resultados es útil ya que parecen indicar que es posible controlar en cierta medida las propiedades reológicas de las mezclas que podrían ser procesadas mediante moldeo por inyección. Así, parecería conveniente que la masa que se introducirá en la cámara de inyección presentara una consistencia relativamente baja con el fin de facilitar el procedimiento de moldeo por inyección. Mediante el estudio de los resultados obtenidos en este apartado se puede concluir que el tiempo y condiciones de almacenamiento de las muestras antes de la inyección serían parámetros claves a tener en cuenta.

---

Las imágenes de CLSM obtenidas para la muestra 65/35 después de 1, 5, 15 y 30 días de almacenamiento a  $-26^{\circ}\text{C}$  quedan recogidas en la figura 3.9. Las proteínas de albúmina de huevo presentan autofluorescencia, lo cual hizo posible este estudio sin necesidad de añadir aditivos fluorescentes. Es posible distinguir diferentes áreas en las cuatro imágenes presentadas: a) burbujas de aire; b) regiones oscuras, que corresponderían a dominios de glicerina c) regiones más claras, que corresponderían a la albúmina de huevo. Sin embargo, en algunas regiones la contribución de cada una de los componentes no es clara. Con el fin de asegurar que la imagen tomada corresponde siempre a la misma ubicación mientras se sigue la evolución de la microestructura con el tiempo, se introdujo en la muestra un marcador brillante (esquina superior izquierda). Como era de esperar, las burbujas de aire tienden a adquirir formas más esféricas a medida que pasa el tiempo, para reducir así la tensión interfacial. Se debe tener en cuenta que las muestras se congelaron inmediatamente después de mezclar. Cuando se observa qué sucede con la glicerina y la albúmina de huevo a lo largo del tiempo de almacenamiento, parece tener lugar una segregación de los mismos, con una migración de la proteína hacia las regiones circundantes de la glicerina. También es evidente una reducción de la fluorescencia con el tiempo.

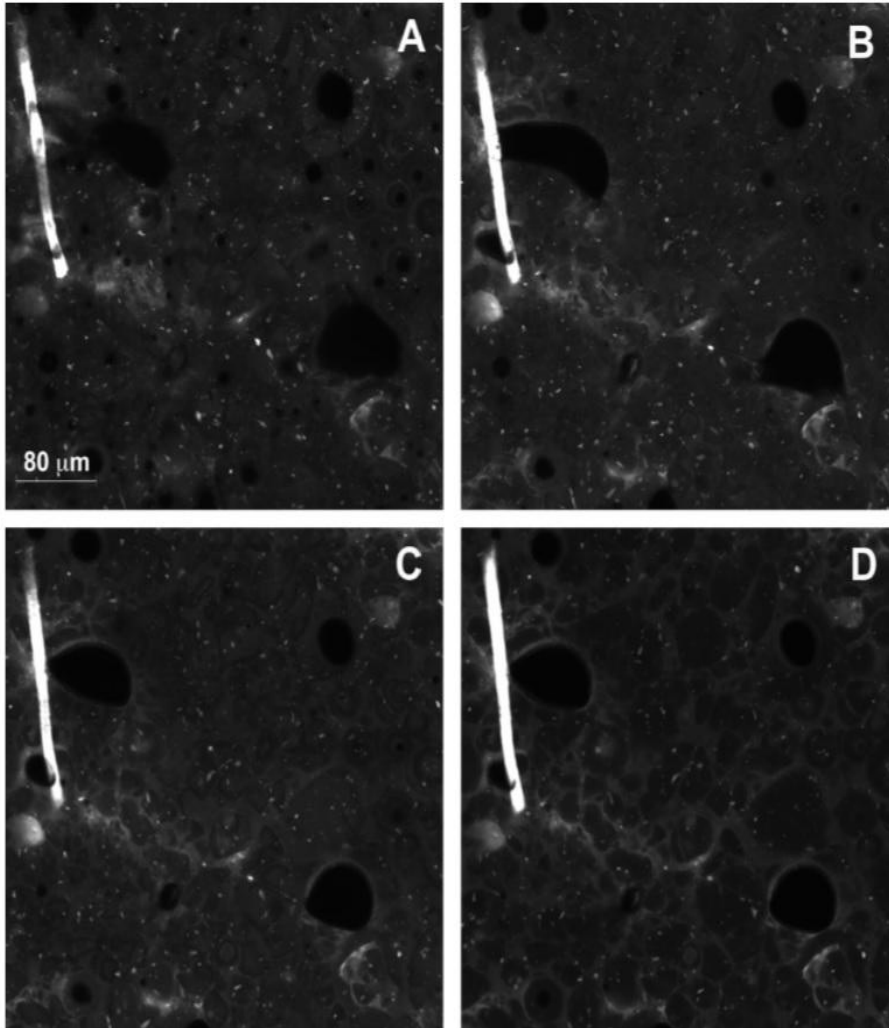


Figura 3.9. Imágenes de la evolución de las masas 65/35 de albúmina de huevo/glicerina usando la técnica de *Confocal Laser Scanning Microscopy* (CLSM) a lo largo del tiempo de almacenamiento (A) 1 día (B) 5 días (C) 15 días (D) 30 días a  $-26^{\circ}\text{C}$ .

### 3.3.3. Efecto de la temperatura sobre las propiedades reológicas

---

Una de las variables más importantes que hay que optimizar en la obtención de bioplásticos mediante procesado termomecánico es la temperatura. Así, para obtener materiales bioplásticos mediante extrusión es esencial seleccionar un perfil de temperatura adecuado, como lo es establecer la temperatura a la que se ha de alimentar la masa a un proceso de moldeo por compresión o por inyección, así como la temperatura a la que se realiza el moldeo en ambos casos. Este factor resulta especialmente importante en sistemas que contienen especies poliméricas altamente dependientes de la temperatura, tales como las proteínas.

Las figuras 3.10, 3.11 y 3.12 muestran la evolución de  $G'$  y  $G''$  para las muestras 50/50, 60/40 y 65/35, respectivamente, cuando se someten a una rampa de temperatura a 1 Hz tal y como se ha descrito en el capítulo 2. La evolución de las ondas de esfuerzo y deformación, así como los valores de las funciones armónicas, se registraron durante las medidas con el fin de establecer la validez de los datos experimentales a través de la detección de un posible comportamiento no lineal. Así, según el criterio de no linealidad en la señal de respuesta propuesto por Hyun *et al.*<sup>16</sup>, la relación entre el tercer y primer armónico,  $I_{3/1}$  debe ser inferior a un valor crítico (por ejemplo,  $I_{3/1} < 5 \cdot 10^{-3}$ )<sup>17</sup>. Por tanto, las medidas realizadas que mostraron valores de  $I_{3/1}$  superior a ese umbral crítico se descartaron.



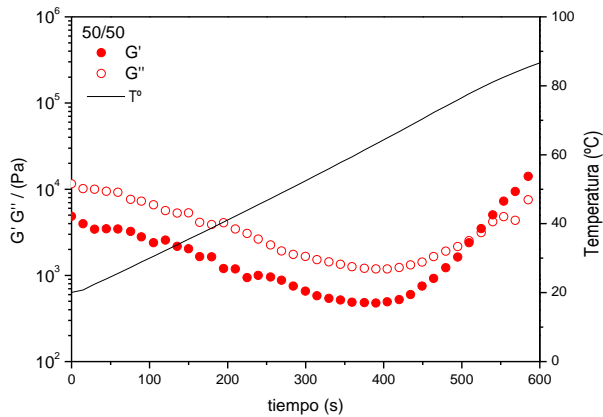


Figura 3.10. Rampa de temperatura desde los 20°C hasta los 90°C para la masa de albúmina de huevo/glicerina con relación 50/50.

La figura 3.10 muestra cómo la masa con menor concentración de proteína (50/50) exhibe un comportamiento predominantemente viscoso hasta 80°C, temperatura a la que aparece un punto de cruce entre  $G'$  y  $G''$  y desde la cual la componente elástica se convierte más importante. A 62°C se puede observar un mínimo en ambos módulos. Los resultados obtenidos a temperaturas superiores a 85°C no se han incluido, ya que no se ajustan al criterio antes mencionado para la viscosidad lineal. De alguna manera, resulta sorprendente que el sistema se desviara del comportamiento viscoelástico lineal mientras que la frecuencia y la amplitud del esfuerzo aplicado permanecían constantes. Sin embargo, a partir de estos resultados, se podría indicar que el reforzamiento de la microestructura inducido por la temperatura parece resultar en una mayor sensibilidad a las fuerzas de cizalla, lo que finalmente conduce a la ruptura del entramado viscoelástico lineal.

En cambio, en las condiciones estudiadas, se pudo comprobar que para la masa 60/40, sí es posible obtener resultados de viscoelasticidad lineal

durante la mayor parte del ensayo. Únicamente se produce una salida del IVL durante el último tramo de la etapa de enfriamiento, a temperaturas próximas a 30°C.

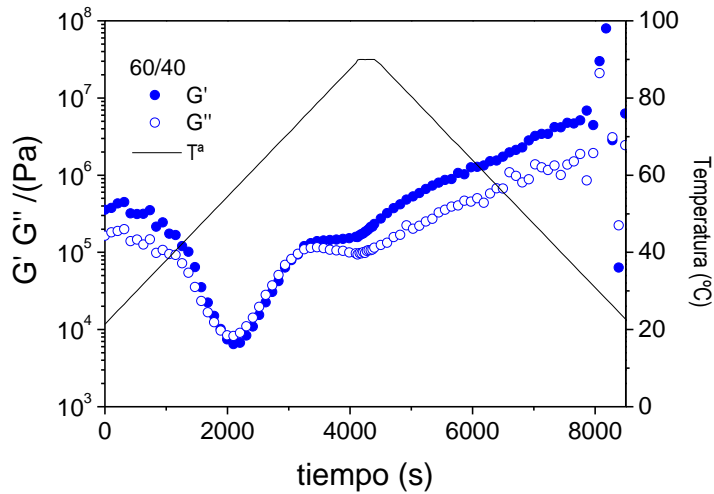


Figura 3.11. Rampa de temperatura desde los 20°C hasta los 90°C con su posterior barrido ensayo oscilatorio a 90°C y descenso de temperatura, para la masa de albúmina de huevo/glicerina con relación 60/40.

Se pueden distinguir cuatro regiones para la muestra 60/40 (Figura 3.11).

- 1) Una primera región (hasta aproximadamente 55°C) donde se observa un moderado descenso de ambos módulos hasta alcanzar valores mínimos, como consecuencia de un incremento en la agitación térmica. Dentro de esta región,  $G'$  y  $G''$  se aproximan entre sí conforme aumenta la temperatura, llegando a cruzarse incluso antes de que se alcance el mínimo. El descenso de ambos módulos a temperaturas moderadas podría

---

relacionarse con un incremento en la movilidad y la ruptura de los puentes de hidrógeno.

- 2) Una segunda región, en la que tiene lugar un aumento repentino de  $G'$  y  $G''$ , comprende desde el mínimo antes mencionado hasta un punto de cruce alrededor de 70-75°C. Esta evolución se corresponde con la aparición de las interacciones entre diferentes segmentos de la proteína, lo que puede provocar entrecruzamientos a través de enlaces covalentes (por ejemplo, por puentes de disulfuro) que finalmente conducen a la formación de una red tridimensional y al reforzamiento del gel elástico<sup>18</sup>. Esta región puede ser explicada en base a los diferentes procesos que tienen lugar durante la gelificación de las proteínas globulares: desnaturalización parcial; formación de agregados; y asociación de los agregados para formar una red tridimensional<sup>19</sup>.
- 3) Una tercera región, en la que se obtiene un comportamiento similar al de un gel, con un aparente predominio de la componente elástica sobre la viscosa, presentando ambas funciones una baja dependencia con la temperatura. De hecho  $G'$  se mantiene aproximadamente constante, mientras que  $G''$  muestra un leve descenso.
- 4) Una cuarta región, que incluye tanto la etapa isoterma a 90°C como la etapa de enfriamiento, corresponde a un reforzamiento del entramado reticular formado, observándose un incremento tanto de  $G'$  como de  $G''$ .

---

La evolución observada para las funciones viscoelásticas cuando se somete la mezcla al tratamiento térmico pone en relieve el carácter predominante de termoendurecimiento de estos sistemas, al menos cuando la temperatura es superior a la correspondiente al mínimo encontrado en las propiedades viscoelásticas. Cuando disminuye la temperatura, este refuerzo puede estar asociado principalmente a interacciones de tipo físico (puentes de hidrógeno).

Estas regiones características de la gelificación de proteínas fueron previamente descritas para la albúmina de huevo nativa<sup>20</sup>.

La figura 3.12 muestra la evolución de las propiedades viscoelásticas con la temperatura para la muestra 65/35. Su comportamiento es similar al anterior, con las cuatro regiones descritas. La única diferencia encontrada para la muestra con alto contenido en proteína es el descenso de ambos módulos durante la etapa isoterma. Este hecho podría estar relacionado con un mecanismo de relajación estructural, en el que la energía térmica confiere un mayor grado de movilidad a las cadenas proteicas, lo que podría finalmente conducir a una modificación reversible de las interacciones proteína-plastificante y podría originar un aumento de glicerina libre en el sistema. Ese descenso en los valores de  $G'$  y  $G''$  se puede detectar únicamente para esta muestra, puesto que un mayor contenido de proteína podría dar lugar a una evolución más rápida de los parámetros viscoelásticos.

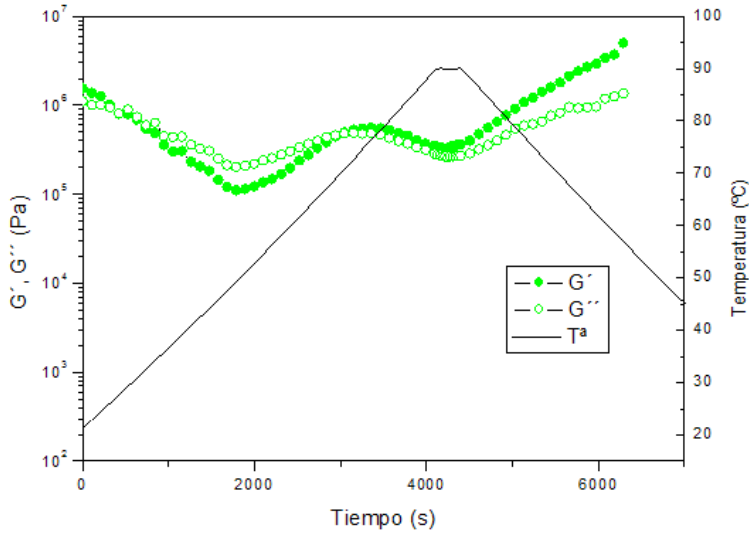


Figura 3.12. Rampa de temperatura desde los 20 $^{\circ}\text{C}$  hasta los 90 $^{\circ}\text{C}$  con su posterior barrido ensayo oscilatorio a 90 $^{\circ}\text{C}$  y descenso de temperatura, para la masa de albúmina de huevo/glicerina 65/35.

El mínimo observado para ambos módulos viscoelásticos durante la primera región aparece alrededor de 62, 55 y 49 $^{\circ}\text{C}$  para las muestras 50/50, 60/40 y 65/35 respectivamente. Estos resultados sugieren que el termoendurecimiento se hace patente más tarde conforme el contenido de proteína disminuye, como consecuencia del efecto diluyente del plastificante.

En vista de estos resultados, se seleccionaron tres temperaturas de referencia (23, 55, 73 $^{\circ}\text{C}$ ) para caracterizar la viscoelasticidad lineal de la masa 60/40 a diferentes valores de esfuerzo y frecuencia. Previo a la obtención del barrido de frecuencia que proporciona el correspondiente espectro mecánico, se realizó un barrido de esfuerzo para determinar el valor de esfuerzo crítico por debajo del cual ha de realizarse el barrido

de frecuencia. En la figura 3.13, se observa claramente, cómo el intervalo viscoelástico lineal se va desplazando a mayores valores de esfuerzo al aumentar la temperatura, al mismo tiempo que disminuyen los valores de los módulos. Como ya había prever en vista de los resultados para la etapa de calentamiento mostrados en la figura 3.11, es sólo a 23°C cuando  $G'$  se encuentra por encima de  $G''$ .

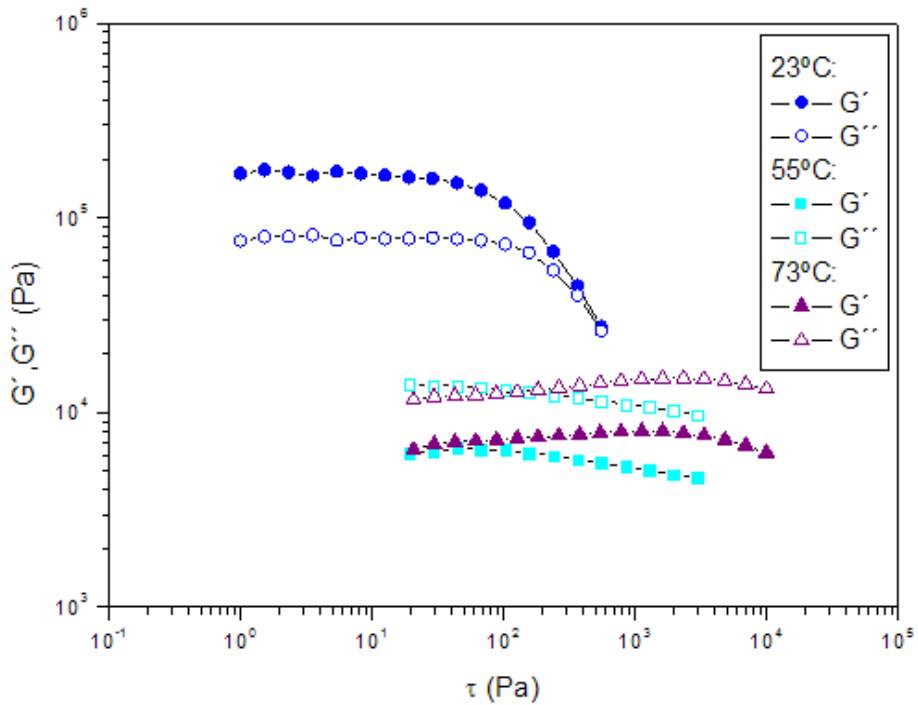


Figura 3.13. Ensayo oscilatorio de esfuerzo para la masa 6/040 a las diferentes temperaturas de referencia 23, 55 y 73°C.

Los espectros mecánicos de la masa 60/40 a las tres temperaturas correspondientes se reflejan en la figura 3.14. Conviene puntualizar que estos ensayos se llevaron a cabo en sentido decreciente (de mayor a menor valor de frecuencia), lo que significa que los valores de  $G'$  y  $G''$  obtenidos a frecuencias más bajas se corresponden con tiempos más largos expuestos a cada temperatura.

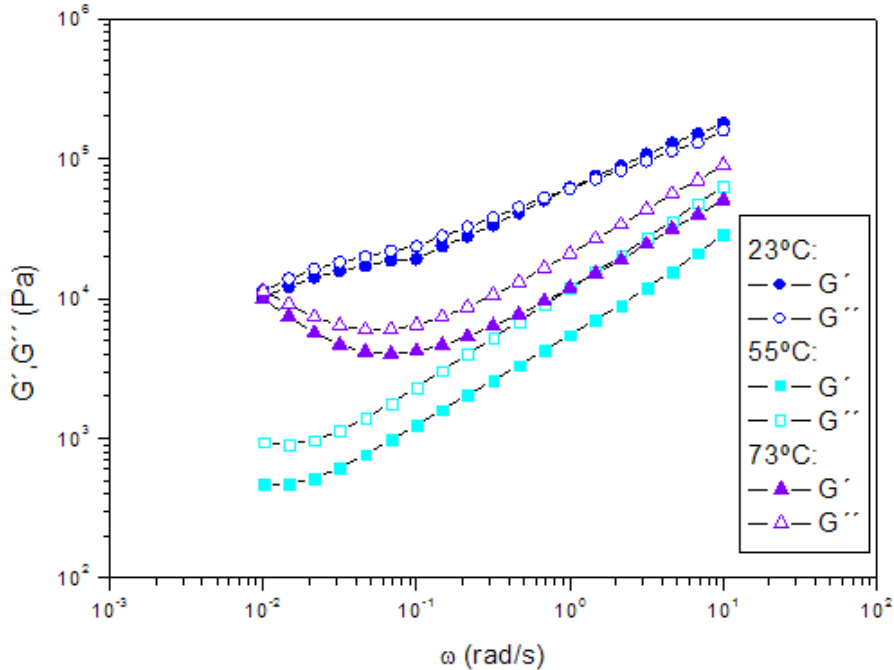


Figura 3.14. Estudio reológico de la masa de composición 60/40 a las tres temperaturas de referencia.

Como era de esperar a partir de los resultados mostrados en la figura 3.11, es a la temperatura más baja (23°C) para la que se obtienen los valores mayores de  $G'$  y  $G''$ . Para esa temperatura, el espectro mecánico incluso llega a mostrar un comportamiento de gel muy débil, con una respuesta predominantemente elástica a altas frecuencias, pero que muestra una región a frecuencias más bajas donde ambos módulos son paralelos y bastante coincidentes. De hecho, esta región de baja frecuencia se asemeja al comportamiento de un incipiente gel crítico. Tal y como cabía esperar, a 55°C, temperatura correspondiente al mínimo en la figura 3.11, se observa un descenso en  $G'$  y  $G''$ , excepto para los menores valores de frecuencia, en los que ambos módulos permanecen constantes. Por último, tiene lugar un aumento en ambos módulos a 73°C. No obstante, debe tenerse en cuenta el efecto antes

---

mencionado (tiempos de exposición más largos en frecuencias más bajas). Por lo tanto, a 73°C y 55°C, tiene lugar un aumento en los módulos viscoelásticos a frecuencias bajas, como consecuencia del reforzamiento del entramado reticular formado a través de la asociación de agregados de proteína. Este reforzamiento es debido posiblemente a reacciones de entrecruzamiento que favorecen un punto de cruce entre  $G'$  y  $G''$ . Estos resultados confirman el hecho de que a lo largo del tratamiento térmico de sistemas proteicos, no es posible separar los efectos del tiempo y la temperatura<sup>19</sup>.

Los resultados aquí presentados ilustran la naturaleza dual de los sistemas estudiados: por una parte, el comportamiento termoplástico aparece sobre todo a temperaturas moderadas y tiempos de exposición cortos; mientras que, por otra parte, las altas temperaturas y los tiempos de residencia más largos promueven el comportamiento termoestable, a través de la formación de entrecruzamientos. Esta información permite la selección de las condiciones óptimas para la producción de bioplásticos mediante moldeo por inyección a partir de estos sistemas. Así, el tiempo de residencia en la cámara de pre-inyección debería ser moderado y la temperatura óptima debería corresponder al mínimo encontrado para  $G'$  y  $G''$ . En cambio, en el molde deberían establecerse las condiciones necesarias para favorecer el termoendurecimiento de las mezclas, promoviendo el desarrollo de entrecruzamientos que permitan conferir al material su estructura y propiedades finales.

Este capítulo ha puesto de manifiesto la importancia de las propiedades reológicas de las masas obtenidas a partir de mezclas de albúmina/glicerina de cara a la selección de condiciones óptimas en el



---

procesado de materiales, tales como moldeo por inyección. En el siguiente capítulo se desarrollará la aplicación de estos resultados para obtener bioplásticos moldeados por inyección, así como su caracterización mediante sus propiedades mecánicas, reológicas y químicas.

---

### 3.4. CONCLUSIONES

- Las propiedades reológicas de la masa de albumina/glicerina muestran una fuerte dependencia con la relación albúmina de huevo/glicerina, con las condiciones de almacenamiento y con la temperatura.
- Un aumento en el contenido de proteína en las muestras estudiadas, produce un aumento importante en las propiedades viscoelásticas, así como un cambio de carácter predominantemente viscoso a una respuesta predominantemente elástica. Ambos efectos se encuentran relacionados con un mayor grado de estructuración del sistema a través del establecimiento de interacciones proteicas.
- Todos los sistemas, independientemente de su composición, evolucionan hacia mayores valores tanto del módulo elástico como del módulo de pérdidas con el tiempo de almacenamiento a 4°C. En ocasiones, se detecta un mínimo que podría estar relacionado con un proceso de relajación estructural a tiempos de almacenamiento relativamente cortos. Las imágenes de CLSM sugieren la aparición de un mecanismo de segregación de ambos componentes con el tiempo de almacenamiento. Asimismo, la congelación a -26°C ha demostrado que inhibe de manera efectiva el envejecimiento en las muestras durante el almacenamiento. Además, conduce a una cinética de envejecimiento más lenta tras la descongelación de las muestras. Como resultado, una etapa de congelación-descongelación podría considerarse conveniente para el control de las propiedades reológicas de las masas de albúmina de

---

huevo/glicerina, lo que sería clave para el posterior procesado por moldeo por inyección.

- La aplicación de los tratamientos térmicos a las masas de proteína/plastificante deja patente la naturaleza dual termoplástica/termoendurecible de las mismas, la cual podría ser estudiada para optimizar el procesado por moldeo por inyección. Así, la relajación estructural tiene lugar en la primera etapa del calentamiento, mientras que las reacciones de entrecruzamiento entre los segmentos de proteína son evidentes a altas temperaturas.

---

### 3.5. REFERENCIAS

1. Jones, A., Mandal, A., Sharma, S. (2015). Protein based bioplastics and their antibacterial potential. *Journal of Applied Polymer Science*. 132(18), 41931.
2. López-Castejón, M<sup>a</sup> L., Bengoechea, C., García, M., Martínez, I. (2015). Effect of plasticizer and storage conditions on thermomechanical properties ovalbumen/tragacanth based bioplastics. *Food and bioproducts processing*. 95, 264–271.
3. Félix, M., Martínez-Alfonso, J. E., Romero, A., Guerrero, A. (2014). Development of albumen/soy biobased plastic materials processed by injection molding. *Jornal of Food Engineering*. 125, 7-16.
4. González-Gutiérrez, J., Partal, P., García-Morales, M., Gallegos, C. (2011). Effect of processing on the viscoelastic tensile and optical properties of albumen/starch-based bioplastics. *Carbohydrate Polymers*, 84, 308-315.
5. Taqi, A., Askar, KA., Nagy, K., Mutihac, L., Stamatina, L. (2011). Effect of different concentrations of olive oil and oleic acid on the mechanical properties of albumen (egg white) edible films. *African Journal of Biotechnology*. 10 (60).
6. Jerez, A., Partal, P., Martínez, I., Gallegos, C., Guerrero, A. (2007a). Protein-based bioplastics: effect of thermo-mechanical processing. *Rheologica Acta*. 46 (5), 711-720
7. Jerez, A., Partal, P., Martinez, I., Gallegos, C., Guerrero, A. (2007b). Egg white-based bioplastics developed by thermomechanical processing. *Journal of food engineering*. 82 (4), 608-617.

- 
8. Gennadios, A. (1998). Physical Properties of egg white-Dialdehyde Starch Films. *Journal of Agriculture Food chemistry*. 46, 1297-1302.
  9. Jerez, A., Partal, P., Martinez, I., Gallegos, C., Guerrero, A. (2005). Rheology and processing of gluten based bioplastics. *Biochemical engineering journal*. 26 (2), 131-138.
  10. Krochta, J.M. (2002). Proteins as raw materials for films and coatings: Definitions, current status and opportunities. In *Protein-Based Films and Coatings*, edited by A. Gennadios, Boca Raton, FL: CRC Press, pp: 672.
  11. Sothornvit, R., Olsen, C.W., McHugh, T.H., Krochta. J.M. (2007). Tensile properties of compression-molded whey protein sheets: Determination of molding condition and glycerol-content effects and comparison with solution-cast films. *Journal of Food Engineering*. 78(3)3, 855-860.
  12. Pallos, F.M., Robertson, G.H., Pavlath, A.E., Orts, W.J. (2006). Thermoformed wheat gluten biopolymers. *J. Agric. Food Chem*. 54, 349–352.
  13. Cybulski, E., (2009). Injection molding. In: *Plastic Conversion Processes: A Concise and Applied Guide*. CRC Press, Taylor and Francis Group, FL, USA, pp. 1–21.
  14. Zárate-Ramírez, L.S., Martínez, I., Romero, A., Partal, P., Guerrero, A., (2011). Wheat gluten-based materials plasticised with glycerol and water by thermoplastic mixing and thermomoulding. *J. Sci. Food Agric*. 91 (4), 625–633.
  15. Ferry, J.D., (1980). *Viscoelastic Properties of Polymers*. John Willey & Sons Inc., New York, USA.

- 
16. Hyun, K., Kim, S.H., Ahn, K.H., Lee, S.J., (2002). Large amplitude oscillatory shear as a way to classify the complex fluids. *J. Non-Newton. Fluid Mech.* 107 (1–3), 51–65.
  17. Massimiliano, Grosso. (2011). *Fourier Transform Rheology: A New Tool to Characterize Material Properties*. ISBN: 978-953-307-2326.
  18. Weijers, M., Sagis, L.M.C., Veerman, C., Sperber, B., van der Linden, E., (2002). Rheology and structure of ovalbumin gels at low pH and low ionic strength. *Food Hydrocolloid* 16 (3), 269–276.
  19. Clark, A.H., (1998). Gelation of globular proteins. In: Hill, S.E., Ledward, D.A., Mitchell, J.R. (Eds.), *Functional Properties of Food Macromolecules*. Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, USA, pp. 77–142.
  20. Aguilar, J.M., Jaramillo, A., Cordobés, F., Guerrero, A., (2010). Influencia del procesado térmico sobre la reología de geles de albumen de huevo. *Afinidad* 545, 28–32.

---

**BIOPLÁSTICOS OBTENIDOS POR MOLDEO POR  
INYECCIÓN A BASE DE MEZCLAS  
PROTEÍNA/GLICERINA: ESTUDIO COMPARATIVO DE  
LA PROTEÍNA DE SOJA Y ALBÚMINA DE HUEVO**





---

## Resumen

Se seleccionaron dos proteínas bien estudiadas para producir bioplásticos mediante moldeo por inyección: un aislado de proteína de soja, SPI, y un concentrado de albúmina de huevo, EW. Cada una de ellas por separado se mezcló con glicerina, GL (40% p/p), caracterizándose la mezcla homogénea resultante por medio de técnicas reológicas y termomecánicas, lo cual permitió la optimización de las diferentes condiciones en el procesado de moldeo por inyección (temperatura de inyección, 60-65 ° C; temperatura del molde, 120 °C; presión de post-inyección, 500-600 bar). Una vez que se obtuvieron los bioplásticos se evaluaron sus propiedades termomecánicas y de tracción, así como su capacidad de absorción de agua y transparencia.

Los bioplásticos que contienen EW mostraron valores más altos en el módulo elástico y en el de pérdidas,  $E'$  y  $E''$ , durante todo el intervalo de temperaturas estudiado, desde -30 a 130°C, que el correspondiente bioplástico de SPI. Sin embargo, ambos mostraron cualitativamente la misma evolución con la temperatura, observándose una reducción en los valores de  $E'$  y  $E''$  hasta un valor *plateau* a altas temperaturas. Al examinar sus propiedades de tracción y de absorción de agua, se encontró cómo los bioplásticos de SPI son más dúctiles y presentan un mejor comportamiento de absorción de agua que los bioplásticos de EW, que por otro lado poseen un mayor módulo de Young.

Finalmente, SPI parece proporcionar bioplásticos más tenaces, representando una excelente opción para potenciales aplicaciones en el campo de los materiales superabsorbentes, mientras que EW parece adaptarse mejor a aquellas aplicaciones que requieren propiedades mecánicas superiores.

---

## 4.1. Introducción

A pesar de que los plásticos obtenidos a partir de derivados petroquímicos son utilizados ampliamente en multitud de aplicaciones, no hay que olvidar que su uso también resulta en importantes inconvenientes, especialmente de carácter medioambiental. Así, por ejemplo, la producción de plásticos sintéticos genera grandes cantidades de desechos no fácilmente degradables, que permanecen tiempos muy largos en los ecosistemas. Es importante resaltar que la industria del plástico ha crecido de manera continua durante más de 50 años, llegando a una producción global en 2014 de 311 millones de toneladas. El embalaje representa el mayor sector del mercado donde se utilizan los plásticos, seguido por el sector de la construcción. A pesar de su omnipresencia en la vida cotidiana, sólo una baja proporción de ellos (26%)<sup>1</sup> se llega a reciclar. Es debido a estos atributos negativos relacionados con el uso del plástico convencional que la atención se ha centrado en los últimos tiempos en los plásticos ecológicos provenientes de fuentes alternativas<sup>2</sup>. De esta forma, el mercado de los bioplásticos está creciendo a un ritmo anual entorno al 15-20%.

Los bioplásticos se han producido a partir de diferentes fuentes, como las proteínas, los lípidos y polisacáridos<sup>3-5</sup>. Los bioplásticos basados en proteínas están recibiendo mucha atención últimamente, ya que representan una opción válida para muchas aplicaciones en las que se han utilizado tradicionalmente polímeros sintéticos, tanto por motivos económicos como ecológicos. Entre estas proteínas que han sido utilizadas adecuadamente para producir bioplásticos y que, además, provienen de una fuente renovable producida a escala mundial, es posible señalar el gluten de trigo<sup>6-12</sup>, la proteína de soja<sup>13-16</sup>, la albúmina de la clara de huevo<sup>2,17</sup>, la proteína de arroz<sup>18</sup>, la proteína proveniente de residuos de la industria cárnica<sup>19</sup> o la espirulina<sup>20</sup>.

De todos modos, aún queda mucho trabajo por delante con el fin de mejorar las propiedades mecánicas y físicas de los bioplásticos basados en proteínas. Por lo general, estos bioplásticos muestran propiedades de tracción similares a la de los polímeros sintéticos, como, por ejemplo,

---

el polietileno de alta densidad, representando una fuente atractiva de bioplásticos, ya que muchos de ellos son materiales de bajo costo, renovables anualmente y fácilmente disponibles<sup>18</sup>. Jerez *et ál.*<sup>18</sup> señaló cómo la capacidad de absorción de agua de los bioplásticos puede variar desde un 40 hasta un 320%. Sin embargo, dependiendo de sus aplicaciones futuras, pueden encontrarse posibles inconvenientes, ya que sus buenas propiedades higroscópicas normalmente están relacionadas con propiedades elásticas inferiores. Por lo tanto, aunque se hayan logrado algunos avances con el fin de minimizar algunos de los inconvenientes comentados, todavía es necesaria una mayor investigación con objeto de evaluar tanto las propiedades positivas como las negativas de los bioplásticos basados en proteínas para apoyar su idoneidad para una amplia variedad de aplicaciones<sup>21</sup>.

Estudios recientes han mostrado cómo la albúmina de huevo presenta propiedades antibacterianas, debido a la presencia de lisozima<sup>22</sup>, pudiendo ser útil tanto en medicina como en farmacología. Aún más, cuando se compara con otras proteínas comunes como el gluten, la clara de huevo ha demostrado ser una materia prima adecuada en la obtención de bioplásticos altamente transparentes con propiedades mecánicas adecuadas para la fabricación de envases biodegradables de alimentos y otros productos plásticos. Recientemente se ha propuesto la mezcla de esta proteína con otros productos de origen agrícola, biodegradables y de menor costo que los aditivos proteicos y sintéticos<sup>23</sup>.

Las proteínas de soja consisten principalmente en las globulinas 7S y 11S, siendo la primera un trímero y la última compuesta por seis subunidades<sup>24</sup>. Las proteínas de soja pueden ser transformadas en plásticos biodegradables cuando se mezclan con un plastificante<sup>25,26</sup>. Las principales aplicaciones de bioplásticos a base de proteína de soja se pueden encontrar en objetos tan diversos como cucharas, juguetes o embalaje de alimentos<sup>27-29</sup>. Sin embargo, estos bioplásticos de soja han mostrado una baja resistencia mecánica y una alta absorción de humedad.

El presente capítulo se centra en la caracterización reológica y térmica de dos mezclas proteína/plastificante: una basada en la albúmina de

---

huevo y otra en la proteína de soja, ambas utilizando glicerina como plastificante. A través de esa caracterización, se pretende optimizar los parámetros de procesado que se utilizarán en el moldeo por inyección de ambas masas para obtener los bioplásticos. Por lo tanto, el principal objetivo de este estudio es la comparación de los bioplásticos obtenidos por moldeo por inyección en las condiciones seleccionadas para ambas proteínas. Se analizarán sus propiedades termomecánicas y de tracción, así como su capacidad de captación de agua (bien a partir de la humedad del ambiente (adsorción) o bien por inmersión en agua (absorción)) y transparencia. Por otra parte, también se considerará en base a los resultados obtenidos su idoneidad para diferentes aplicaciones.

## 4.2. Materiales y métodos

### 4.2.1 Materiales

Materias primas		Surtida
Proteína	Albúmina de clara de huevo (EW)	Proanda, S.L.
	Soja (SPI)	SUPRO 500E
Plastificante	Glicerina (GL)	Panreac Química, S.A.

Tabla 4.1. Materias primas utilizadas para los sistemas EW/GL y SPI/GL.

### 4.2.2. Preparación de la muestra

La preparación de las probetas se divide en dos etapas, una primera de mezclado para la formación de la masa, seguida de la inyección de esta masa para obtener los bioplásticos de diferente geometrías.

Mezclador	Velocidad	Tiempo	Condiciones	Sistemas (p/p)
Mezclador				EW/GL 60/40
Thermo	50 r.p.m.	10 min	Adiabáticas	
Haake				SPI/GL 60/40

Tabla 4.2. Condiciones de mezclado de los sistemas en el mezclador Thermo Haake.

$T_{\text{inyección}} (^{\circ}\text{C})$	$P_{\text{inyección}} (\text{bar})$		$T_{\text{molde}} (^{\circ}\text{C})$
60	SPI/GL	EW/GL	120
	600	500	

Tabla 4.3. Resumen de las condiciones de procesado por moldeo por inyección para las probetas EW/GL y SPI/GL 60/40.

### 4.2.3. Tipos de ensayos

Ensayos	Equipo	Sensor	Sistema
Análisis termogravimétrico (TGA)	Q5000, TA Instruments	Crisol de platino	Masas
Análisis dinámico termomecánico por compresión	RSA3, TA Instruments,	Cilíndrico 8mm	Masas
Análisis dinámico termomecánico por flexión	RSA3, TA Instruments,	Dual Cantilever	Bioplásticos rectangular
Propiedades de tracción	10 kN Electromechanical Standar System		tipo mancuernas Bioplástico circular
Capacidad de absorción de agua	poner en qué recipientes lo has hecho	Inmersión en agua	Bioplástico
Transparencia	Idem de arriba	75%. NaCl; 53%. Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	
	Génesis 20(casa comercial???)	33%. MgCl <sub>2</sub> longitud de onda de 600 nm	probetas rectangulares

## 4.3. Resultados y discusión

### 4.3.1. Masas proteína/glicerina

#### 4.3.1.1. Análisis Térmico Gravimétrico (TGA)

Se evaluó la estabilidad térmica de las mezclas SPI/GL y EW/GL, así como la de sus componentes de manera individual, a través de ensayos de análisis termogravimétrico (TGA, del inglés *Thermogravimetric Analysis*). Estos resultados se muestran en la figura 4.1.

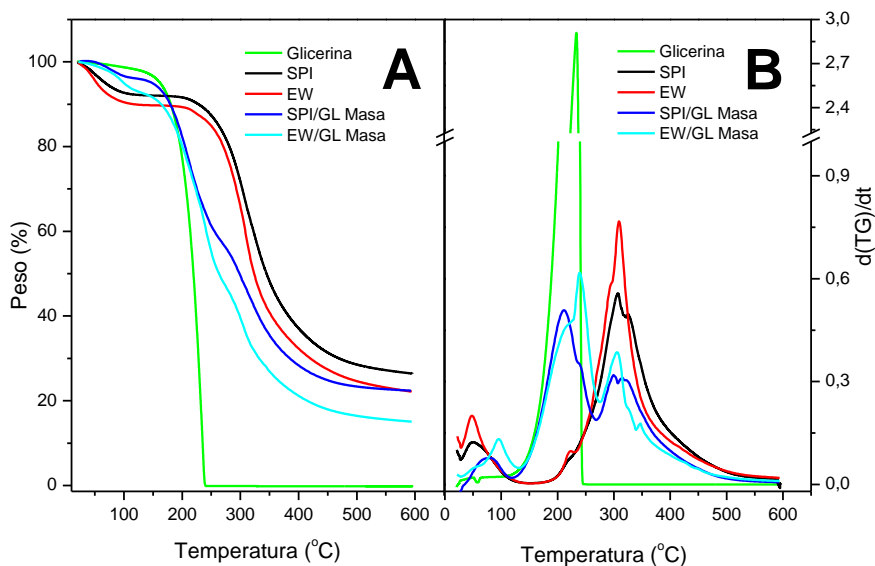


Fig. 4.1. (A) Análisis térmico gravimétrico, y (B) derivada de la señal de cada muestra para los componentes individuales y sus mezclas

Como puede observarse en el perfil de TGA para el glicerina, ésta muestra inicialmente una suave pérdida de peso que comienza alrededor de 120 °C, asociada a la poca cantidad de agua presente, seguida por una pérdida mucho más pronunciada, mostrando un pico bastante marcado a 234 °C en la derivada de la señal (Fig 4.1.B), que corresponde a la evaporación del glicerina. Yunos y Rahman<sup>30</sup> también informaron de un perfil de TGA similar de la glicerina con la

---

evaporación teniendo lugar en el intervalo entre 200 y 300 °C. Jones *et al.*<sup>2</sup> también encontró un pico a 225 °C. La posición de este pico es altamente dependiente del contenido de agua y de glicerina<sup>38</sup>.

Por otra parte, EW y SPI mostraron unos perfiles de TGA y de su derivada similares. El perfil de la derivada mostró un primer pico alrededor de 48,5 °C debido a la pérdida de humedad, siendo más pronunciada en el caso de proteína EW. En ambos casos, la degradación de proteínas se inicia alrededor de 220 °C, pero el pico para EW se desarrolla más rápido y se hace más estrecho, estando su máximo a 302 °C, lo que sugiere una estabilidad térmica ligeramente superior para SPI. Estos resultados son similares a otros encontrados por otros autores tanto para EW<sup>2,31</sup> como para SPI<sup>32-34</sup>. Los dobles picos de SPI también parecen indicar que la proteína 7S (pico a 303 °C) muestra una cinética de degradación ligeramente más rápida que la fracción 11S (pico a 312 °C), tal y como se puede encontrar en bibliografía<sup>35</sup>. Otros autores han mostrado perfiles de TGA con eventos térmicos a 294 y 307 °C para la ovoalbúmina<sup>36</sup> y la lisozima<sup>37</sup>, respectivamente, de acuerdo con los perfiles encontrados en este estudio. Estos autores también informaron de un evento térmico moderado a 224°C que atribuyeron a una cierta pérdida asociada a la fusión de la ovoalbúmina. Este evento térmico ha sido también detectado en el presente estudio para la albúmina, así como en otras publicaciones<sup>2,31</sup>.

En cuanto a las mezclas de proteína/plastificante, cabe destacar que los dos sistemas estudiados, SPI/GL y EW/GL, mostraron tres etapas de pérdida de peso durante el calentamiento. En la primera etapa, la pérdida de peso por debajo de 130 °C se atribuye principalmente a la evaporación de la humedad absorbida<sup>39-41</sup>. La temperatura a la que ocurre la máxima pérdida de peso correspondiente a la evaporación de la humedad es 78,8 °C y 94,7 °C para SPI/GL y EW/GL, respectivamente. Posteriormente, la pérdida de peso que tiene lugar durante la segunda etapa, desde 130 °C a 270 o 275 °C para SPI/GL y EW/GL, respectivamente, parece ser debida a la evaporación de la glicerina<sup>30,37,39</sup>. Es a partir de entonces, a temperaturas más altas, cuando la degradación de la proteína se produce, con un máximo



alrededor de 300 °C<sup>2,32,40,41</sup>. De hecho, ambas mezclas muestran este máximo a una temperatura alrededor de 300 a 310 °C.

Es posible observar algunas diferencias al comparar los resultados de TGA para las mezclas y sus componentes individuales. La humedad parece perderse a temperaturas más altas para las mezclas proteína/plastificante que para las muestras de proteínas. Esto podría explicarse en base a la mayor capacidad de retención del agua que tienen las mezclas debida a la formación de puentes de hidrógeno tanto con la glicerina como con la proteína. Por otra parte, los picos correspondientes al plastificante y a la proteína parecen aproximarse en las mezclas, en comparación con las de los componentes individuales. Chen *et ál.*<sup>32</sup> explicó este efecto a través de los puentes de hidrógeno que tiene lugar entre la proteína y la glicerina en las mezclas.

#### 4.3.1.2. Análisis dinámico mecánico (DMTA) en modo de compresión

En la figura 4.3.1.2.1. se muestran los resultados de los ensayos de rampa de temperatura realizados en modo de compresión a 1 Hz para las mezclas SPI/GL y EW/GL antes de ser procesadas mediante moldeo por inyección. Ambas muestras reflejan una respuesta predominantemente elástica ( $E' > E''$ ) en todo el intervalo de temperatura.

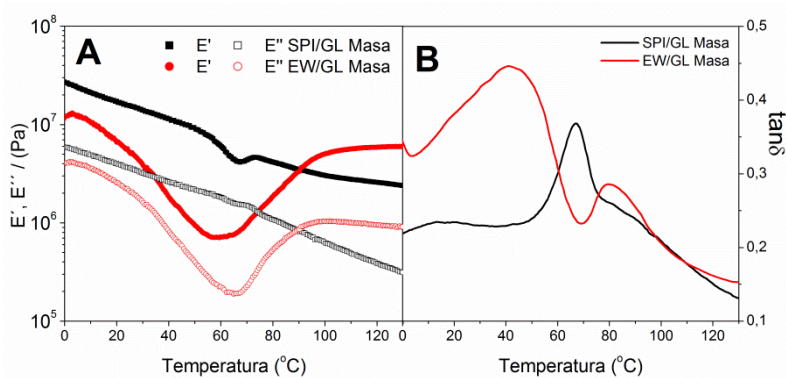


Fig. 4.2. (A) Rampa de temperatura para las masas SPI/GL y EW/GL. (B)  $\tan \delta$  de ambas mezclas.

---

A bajas temperaturas y hasta alrededor de 60-65 °C, ambos sistemas muestran una respuesta análoga, tanto en el módulo de elasticidad como en el de pérdidas,  $E'$  y  $E''$ , cuyos valores van disminuyendo progresivamente con la temperatura, siendo esto más notable para la muestra EW/GL que para la mezcla de SPI/GL (figura 4.2.A). La disminución de las propiedades viscoelásticas a medida que aumenta la temperatura se ha relacionado a menudo con un aumento de movilidad en las cadenas de biopolímeros, así como con la rotura de puentes de hidrógeno. Para la mezcla EW/GL,  $E'$  y  $E''$  comienzan a aumentar desde 60 °C hasta alcanzar unos valores estables en torno a 110 °C. Este aumento puede explicarse por los enlaces covalentes que se forman entre diferentes segmentos de la superficie de la proteína (por ejemplo, puentes de disulfuro), que eventualmente dan lugar a la formación de entrecruzamientos, fortaleciendo la red del gel elástico<sup>42</sup>. Por el contrario, para la mezcla SPI/GL, después de que  $E'$  alcance un valor mínimo a 65 °C, y de un ligero aumento en  $E'$ , tanto  $E'$  como  $E''$  continúan decreciendo con la temperatura. Cabe hacer notar, sin embargo, que la pendiente decreciente encontrada para  $E'$  se vuelve menos acusada en el régimen de alta temperatura. Como consecuencia de estos diferentes perfiles con la temperatura, se encuentra cómo en el intervalo de temperatura entre 0 y 90 °C, la mezcla SPI/GL muestra propiedades termomecánicas más alta que la masa EW/GL. Sin embargo, a partir de 90 °C, la mezcla EW/GL muestra valores más altos en ambos módulos. La razón de esto podría estar en el mayor potencial de las proteínas de albúmina de clara de huevo a establecer puentes de disulfuro en comparación con la proteína de soja. Así, trabajos previos mostraron que la cantidad de puentes de disulfuro y los grupos sulfhidrilos es mayor para EW<sup>43</sup>. Esto se ha relacionado con la presencia de algunos aminoácidos tales como metionina y cisteína en la ovoalbúmina, que es la única proteína de huevo que contiene grupos -SH<sup>44</sup>.

La figura 4.2.B muestra los perfiles de  $\tan \delta$  para ambas mezclas a medida que se calientan. SPI muestra un pico alrededor de 67 °C, que parece estar relacionado con una transición similar a la vítrea en la mezcla SPI/GL, siendo consistente con el perfil térmico de  $E'$ . El perfil de EW es muy diferente, mostrando dos picos a 41 y 79 °C. El primero

---

de ellos tiene lugar antes del valor mínimo observado para  $E'$  (figura 4.2.A), dando lugar a un cierto ablandamiento estructural inducido térmicamente que se relaciona con una transición vítrea, mientras que el segundo pico, que tiene lugar después del mínimo en  $E'$ , se asocia con el reforzamiento de la mezcla tipo gel. La evolución de los resultados de DMTA puede explicarse a través de dos procesos diferentes que tienen lugar a lo largo del calentamiento: un aumento en la movilidad por la transición que tiene lugar desde un estado tipo vítreo a otro tipo gomoso; y, por otra parte, un aumento de la agregación entre segmentos de proteínas. Este segundo proceso es particularmente evidente para la mezcla de EW/GL, si bien parece estar limitado en el caso de la mezcla de SPI / GL.

A partir de los resultados mostrados en la figura 4.2., se pueden seleccionar algunas de las condiciones de procesado por moldeo por inyección. En general, se podría concluir que la temperatura de inyección óptima ( $T_{\text{inyección}}$ ) será aquella para la que se encuentre el mínimo de  $E'$ . En ese punto, la mezcla ha alcanzado su máximo grado de ablandamiento y el flujo desde el cilindro hasta el molde sería más fácil. Este parece ser el caso de la mezcla de EW/GL, ya que sus módulos son mucho más altos (hasta una orden de magnitud) a temperaturas diferentes del mínimo ( $T_{\text{inyección}} = 60 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Sin embargo, este criterio debe ser modificado para la mezcla SPI/GL, ya que el mínimo en  $E'$  corresponde al régimen de altas temperaturas para el que el valor de  $\tan \delta$  es mucho menor. En su lugar, se seleccionó  $65 \text{ }^\circ\text{C}$  como  $T_{\text{inyección}}$ , ya que está cerca del máximo encontrado en  $\tan \delta$  para esta mezcla. Además, la mezcla SPI/GL muestra valores más altos para  $E'$  y  $E''$  que la de EW/GL a la temperatura seleccionada  $T_{\text{inyección}}$ , lo que finalmente resultará en la necesidad de una mayor presión (600 bares) para la inyección de la mezcla que contiene SPI que para aquella que contiene EW (500 bares). Por último, la temperatura del molde se ha fijado en  $120 \text{ }^\circ\text{C}$  para ambos sistemas. A esa temperatura, las mezclas de EW/GL ya han alcanzado un valor *plateau* en ambos módulos  $E'$  y  $E''$ . González-Gutiérrez *et ál.*<sup>23</sup> han encontrado resultados similares para muestras de EW y almidón.

Además, se realizaron ensayos de barrido de tiempo a 1 Hz y a una temperatura constante igual a la  $T_{inyección}$  correspondiente para cada sistema con el fin de determinar el tiempo óptimo ( $t_{inyección}$ ) que las muestras deben permanecer en el cilindro antes de proceder a la inyección en el molde. Inicialmente, hay un reblandecimiento de la estructura, observándose una disminución de ambos módulos hasta el mínimo que define el valor de  $t_{inyección}$ , a partir del cual las muestras comienzan a reforzar sus estructuras suavemente debido a que las interacciones covalentes pueden tener lugar. El valor del parámetro  $t_{inyección}$  es de alrededor de 300 s para ambas mezclas. Aunque luego en la inyección debido al efecto de la presión de inyección las masas plastifican en la cámara de inyección por lo que se tuvo que disminuir la temperatura de inyección a 200s.

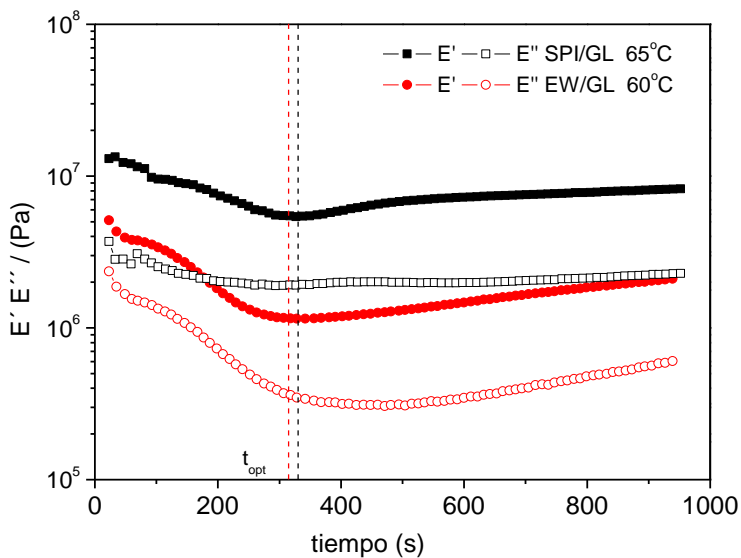


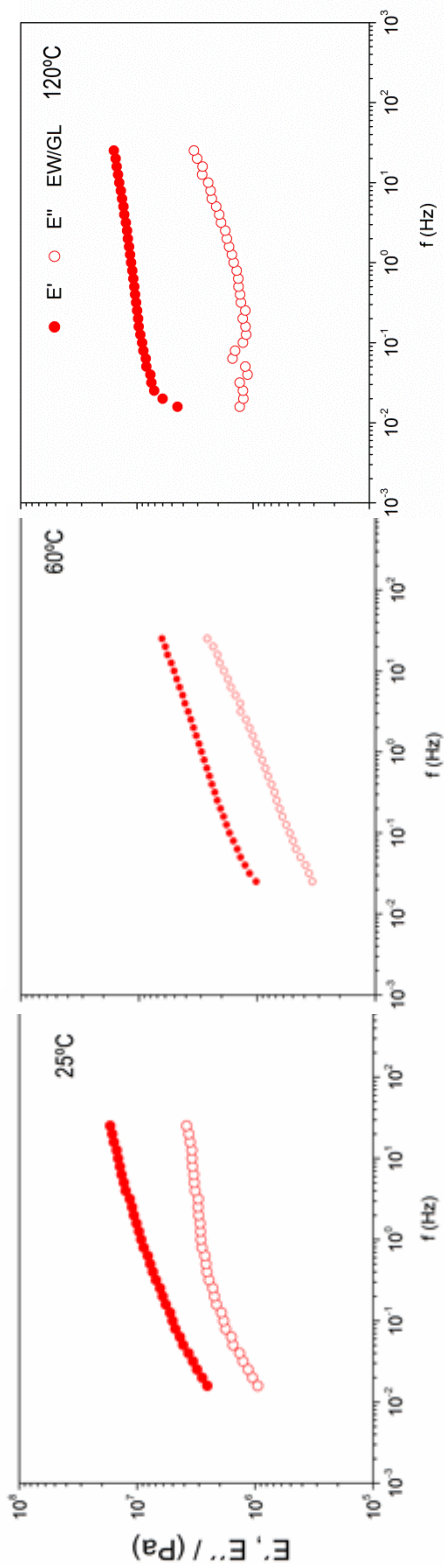
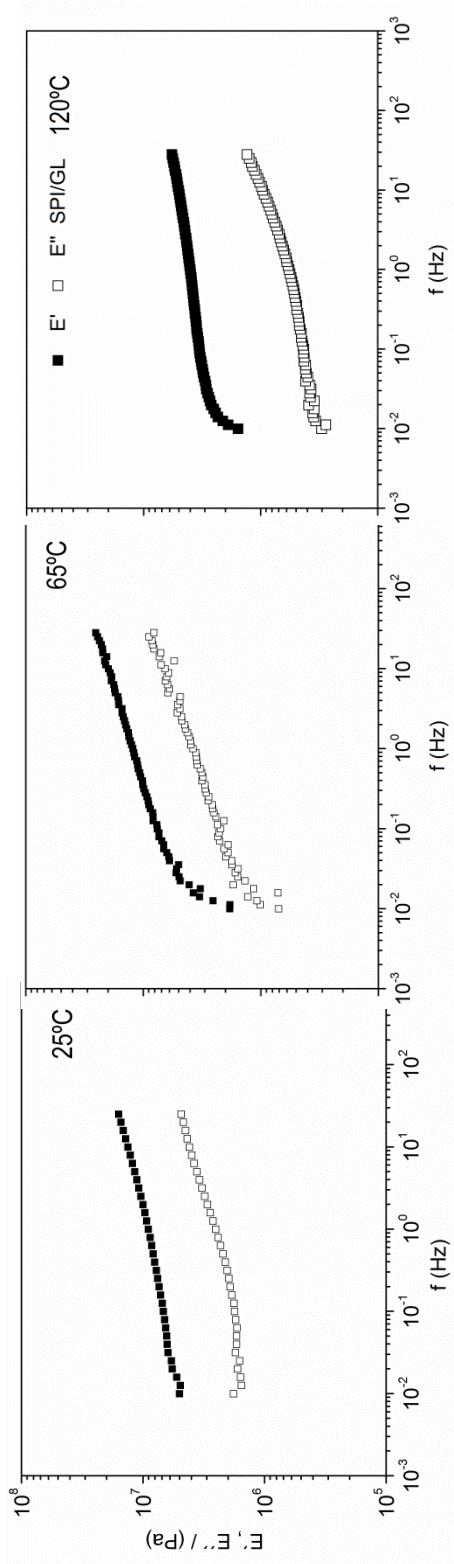
Figura 4.3. Barridos de tiempo a 1Hz a 60°C para la masa EW/GL y 65°C para SPI/GL.

Con objeto de llevar a cabo una caracterización adicional de estas mezclas antes de su moldeo por inyección, se realizaron ensayos de barrido de frecuencia a un esfuerzo constante dentro del intervalo

---

viscoelástico lineal a tres temperaturas diferentes: temperatura ambiente (25 °C); temperatura del cilindro,  $T_{\text{inyección}}$  (60 y 65 ° C para EW/GL y SPI/GL, respectivamente); y temperatura del molde,  $T_{\text{molde}}$  (120 °C). Los resultados obtenidos se representan en la figura 4.4.

Fig. 4.4 Barridos de frecuencia de 0,01 a 20 Hz a 25, 60-65 y 120°C para las masas EW/GL y SPI/GL



---

En todos los casos, y teniendo en cuenta la naturaleza de las mezclas estudiadas, los espectros mecánicos muestran respuestas predominantemente elásticas ( $E' > E''$ ). Estos resultados están en consonancia con los mostrados en la figura 4.2. Ambas mezclas exhiben comportamientos termorreológicos complejos en los que la superposición tiempo-temperatura no es posible. Por el contrario, los espectros mecánicos obtenidos a partir de ensayos oscilatorios de baja amplitud en modo de compresión siguen diferentes patrones con el aumento de la temperatura para ambas mezclas. Así, EW/GL muestra un mínimo para ambos módulos a la temperatura intermedia de 60 °C (coincidiendo con los valores mínimos que se muestran en la figura 4.2.A), seguido de una evolución hacia un espectro mecánico típico de un entramado reticular tipo gel reforzado, caracterizado por valores más altos para  $E'$  y  $E''$ , con una menor pendiente con la frecuencia para ambos módulos, así como por valores de  $\tan \delta$  inferiores a 120°C. Por otro lado, los espectros mecánicos de la mezcla SPI/GL son bastante similares a 25 y 65 °C, disminuyendo ambos módulos de forma importante cuando se obtiene el espectro mecánico a 120 °C. Curiosamente, a pesar de que  $E'$  y  $E''$  son mucho menores para la mezcla SPI/GL que para EW/GL a esta temperatura, las formas de los espectros mecánicos son similares en ambos casos, mostrando también valores de  $\tan \delta$  similares en todo el intervalo de frecuencia. Estos resultados pueden ser explicados en términos del efecto que la temperatura ejerce sobre la interacción entre los segmentos de proteínas. Generalmente, el calentamiento a temperaturas superiores a 100 °C promueve tanto las interacciones hidrofóbicas como los puentes de disulfuro que se asocian con la agregación proteica. Sin embargo, el aumento de la temperatura también rompe las interacciones electrostáticas y de puente de hidrógeno<sup>33,45</sup>. En el caso de la mezcla SPI/GL, estas últimas interacciones son las que ejercen un efecto dominante sobre la respuesta viscoelástica, lo que conduce a los valores más bajos obtenidos para  $E'$  y  $E''$  a 120 °C. En cualquier caso, también se espera la participación de algunos enlaces covalentes, lo que explicaría la disminución en los valores de  $\tan \delta$ . Por otro lado, el efecto de la agregación es más apreciable para las mezclas de EW/GL, lo que sugiere que su comportamiento está dominado por enlaces hidrofóbicos y de disulfuro. Las diferencias entre ambas proteínas

deben encontrarse en la mayor hidrofobicidad superficial y contenido de sulfhidrilo libre encontrados para la proteína EW<sup>46</sup>. Además, se ha demostrado que el calentamiento favorece la exposición de grupos sulfhidrilo situados en la superficie para la proteína EW<sup>47</sup>.

### 4.3.2. Bioplásticos de proteína/glicerina

#### 4.3.2.1. Análisis dinámico mecánico (DTMA) en modo de flexión

Los ensayos de rampa de temperatura para los bioplásticos de SPI/GL y EW/GL procesados mediante moldeo por inyección se muestran en la figura 4.5. La evolución de  $E'$  y  $E''$  a lo largo del calentamiento es cualitativamente similar para ambos sistemas, aunque se pueden señalar algunas diferencias. Se observa cómo a medida que aumenta la temperatura, los bioplásticos de EW/GL muestran una disminución en  $E'$  hasta un valor *plateau* alcanzado a una temperatura alrededor de 90 °C.  $E''$  también disminuye progresivamente con la temperatura, pero a un ritmo más lento a altas temperaturas, mostrando asimismo una tendencia a alcanzar un valor *plateau* (figura 4.5.A). La aparición de un valor *plateau* para ambos módulos sugiere que las muestras basadas en EW presentan un cierto carácter termoestable.

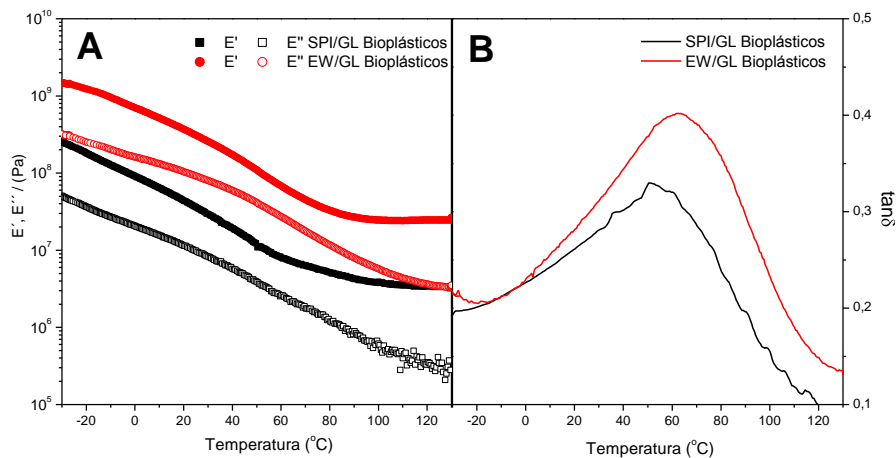


Fig. 4.5 (A) Rampa de temperatura en bioplásticos de SPI/GL y EW/GL. (B)  $\tan \delta$  de ambas mezclas.



---

Los bioplásticos de SPI/GL muestran valores mucho más bajos en ambos módulos en todo el intervalo de temperatura cuando se comparan con los procesados a partir de mezclas de EW/GL, lo que resulta coherente con las respuestas viscoelásticas encontradas anteriormente a alta temperatura. La tendencia al valor *plateau* para el sistema de SPI es menos clara, en particular para E". Por otra parte, la evolución de la tangente de pérdidas es similar para los bioplásticos basados en EW y SPI, mostrando valores máximos alrededor de 50 °C y 60 °C para SPI y EW, respectivamente. Una explicación de las diferencias encontradas en la evolución de los módulos entre ambos sistemas parece encontrarse en la formación de interacciones hidrófobas y de disulfuro, que se darían en mayor medida para los sistemas de albúmina de huevo.

#### 4.3.2.2. Propiedades mecánicas de tracción

Los valores promedio para la resistencia máxima a la tracción ( $\sigma_m$ ), la deformación máxima antes de la ruptura ( $\epsilon_f$ ) y el módulo de Young (E) para los bioplásticos de SPI/GL y EW/GL se muestran en la figura 4.6. La tenacidad ( $U_T$ ), que mide la capacidad de la muestra para absorber la energía por unidad de volumen antes de la fractura, también se muestra en esta figura. Este parámetro se puede determinar mediante la integración de la curva de tensión-deformación:

$$U_T = \int_0^{\epsilon_f} \sigma d\epsilon \quad \text{ec. 1}$$

Los bioplásticos de EW/GL son más frágiles que los bioplásticos SPI/GL, la resistencia máxima a la tracción y la deformación a la fractura son mayores para las probetas de soja. Por otra parte, los bioplásticos de EW/GL poseen un módulo de Young más alto, lo cual es consistente con la mejor respuesta elástica encontrada en las pruebas de DMTA anteriores. Además, las muestras de SPI/GL exhiben mayor tenacidad que los de EW/GL ( $3,5 \pm 0,5 \text{ MJ/m}^3$  en comparación con  $0,91 \pm 0,07 \text{ MJ/m}^3$ ).

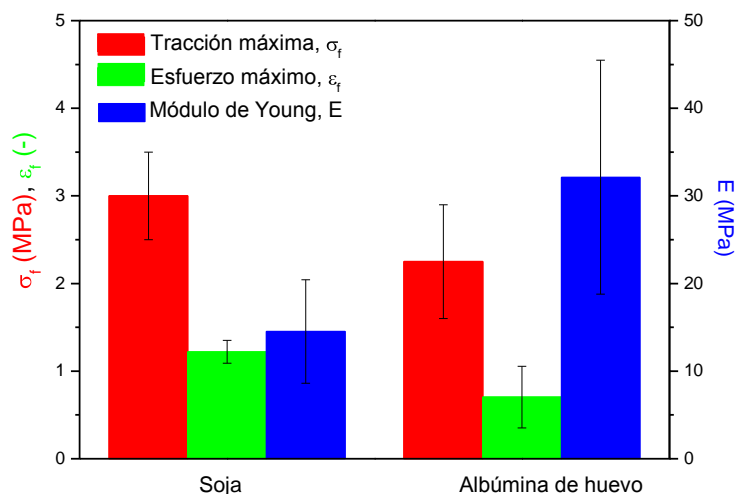


Fig. 4.6. Valores de tracción máxima, esfuerzo máximo y módulo de Young con desviación estándar para las probetas de bioplástico SPI/GL y EW/GL.

Estos resultados indican que los bioplásticos basados en SPI pueden absorber más energía por unidad de volumen antes de romperse que los basados en EW. Los parámetros de tracción ( $\sigma_m$ ,  $\varepsilon_f$ , E) encontrados en el presente estudio para EW y SPI están en consonancia con los encontrados en investigaciones previas<sup>46-48</sup>.

#### 4.3.2.3. Capacidad de captación de agua

En la figura 4.7 se muestra una tabla con los valores de absorción de agua y pérdida de materia soluble en agua de los bioplásticos obtenido después de su inmersión durante 24 horas en agua destilada.

La capacidad de absorción de agua es claramente mayor para los bioplásticos SPI/GL, con un valor promedio de 200% en comparación con el valor obtenido para bioplásticos EW/GL (~ 40%). El hecho de que los bioplásticos de albúmina muestren una capacidad de absorción de agua más baja que las muestras basadas en soja ha sido relacionada

---

previamente con un mayor grado de estructuración en la matriz de proteína de la albúmina: al estar la reticulación más favorecida en la matriz de la proteína de albúmina que en la matriz de soja, resulta un bioplástico más rígido y menos propenso a su hinchamiento por captación de agua<sup>15,49</sup>. De hecho, la cantidad de sulfhidrilos libre de EW es aproximadamente 24 veces superior a la cantidad correspondiente de SPI<sup>15</sup>, lo que debe asociarse a una mayor contribución de los enlaces disulfuro en la red del bioplástico en el caso de la EW. Por otra parte, trabajos previos también señalaron la mayor hidrofobicidad de EW respecto a la SPI, lo que apoya también estos resultados.

En diferentes estudios, se han indicado valores de capacidad de absorción de agua alrededor de 180-200% para bioplásticos de SPI procesados a través de diferentes métodos, como extrusión<sup>50</sup> o compresión<sup>51</sup>.

Además, se puede observar a partir de los resultados de pérdida de materia soluble que se muestran en la misma tabla que, aunque los valores son similares, las muestras de SPI tienen valores de pérdida de material soluble significativamente mayor que las muestras de EW. Se podría suponer que estas pérdidas de materia solubles (37 y 35,5%, para SPI y EW, respectivamente) podrían corresponder principalmente a la glicerina inicialmente contenida en los bioplásticos (~40%), que es altamente hidrofílica. No obstante, también habría que considerar la posibilidad de la pérdida de cierta cantidad de proteína en la disolución, al no encontrarse fuertemente entrecruzada.

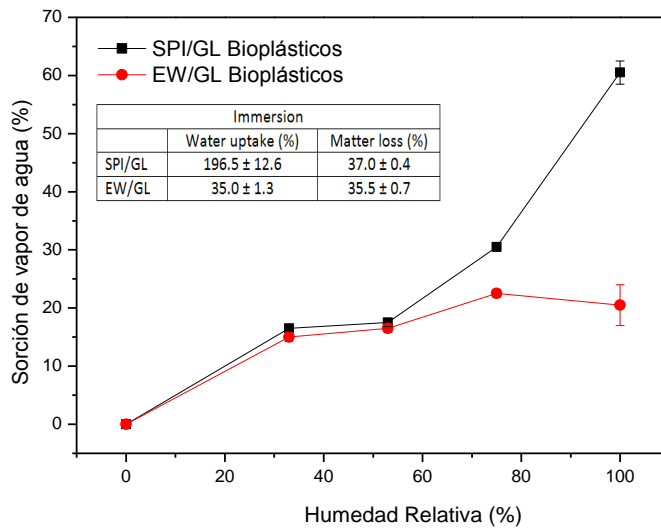


Fig. 4.7 Gráfico de la capacidad de absorción de agua en atmósfera con humedad relativa. Tabla con los datos de la capacidad de absorción de agua de los bioplásticos en inmersión de agua y su pérdida de material soluble.

Por otra parte, la figura 4.7 muestra la evolución del aumento relativo de peso de las probetas debido a la adsorción de vapor de agua en función del contenido de la humedad relativa (33%, 53%, 75% y 100%) a la que fueron almacenadas.

La línea que corresponde al bioplástico SPI/GL sigue la típica curva en forma de S o isoterma tipo II, dentro de los seis tipos de isotermas de adsorción características de sólidos macroporosos<sup>54</sup> que reconoce la IUPAC<sup>52,53</sup>. En cuanto a los bioplásticos de EW, se puede observar un comportamiento bastante similar a la SPI hasta una RH igual a 53%, mostrando el inicio de la curva en forma de S, que finalmente se trunca al alcanzar un punto de saturación, de manera que no tiene lugar una evolución significativa por encima del 75% de HR. Este comportamiento diferente sugiere que el bioplástico de EW tiene menor capacidad hidrofílica. Esto podría ser debido a la presencia de microporos en el material, los cuales, una vez ocupados por agua, no son capaces de adsorber más cantidad (parte horizontal de la isoterma). En el caso del bioplástico de SPI/GL, la presencia de poros más grandes permitiría una adsorción en multicapa, de forma que las

---

moléculas de agua se van adsorbiendo formando una monocapa, sobre la que se ordenan en capas sucesivas más cantidad adsorbida.

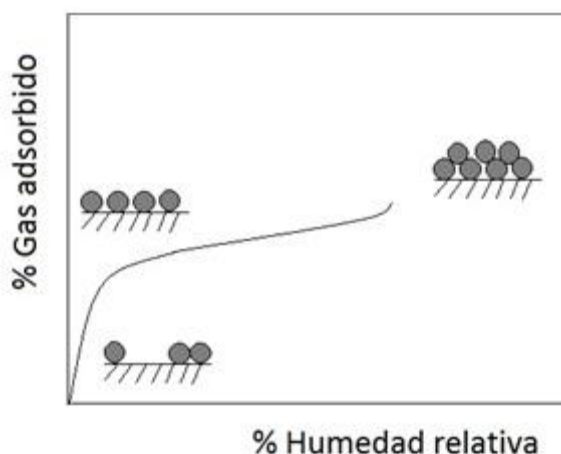


Fig. 4.8 Gráfico de la adsorción del adsorbato en una adsorción monocapa y una adsorción multicapa.

#### 4.3.2.4. Transparencia

Los bioplásticos producidos a través del moldeo por inyección muestran diferentes colores y transparencia, en función de la fuente proteica utilizada. Así, los bioplásticos EW/GL son de color amarillo claro, mientras que los bioplásticos de SPI/GL son de color marrón claro o tono ámbar. En la bibliografía es posible encontrar cómo, para bioplásticos de SPI obtenidos por moldeo por compresión, Paulk y Ogale<sup>55</sup> obtuvieron a una temperatura de compactación de 175 °C *films* de color marrón oscuro debido a la degradación evidente del material. Asimismo, también por compresión, Cunningham *et ál.*<sup>56</sup> obtuvieron *films* de soja de color ámbar semitransparentes a 150 °C.

Como se puede observar en la figura 4.9, los bioplásticos de EW/GL muestran mayor transparencia que los de SPI/GL. De forma más concreta, cuando se mide la transmitancia (T) a través de la muestra, y teniendo el aire como referencia (T = 100%), el bioplástico de albúmina presenta un valor de transmitancia un 26% más alto que el

---

correspondiente al bioplástico de soja. En general, la transparencia de las películas se puede mejorar con el aumento de temperatura procesado<sup>56</sup>.

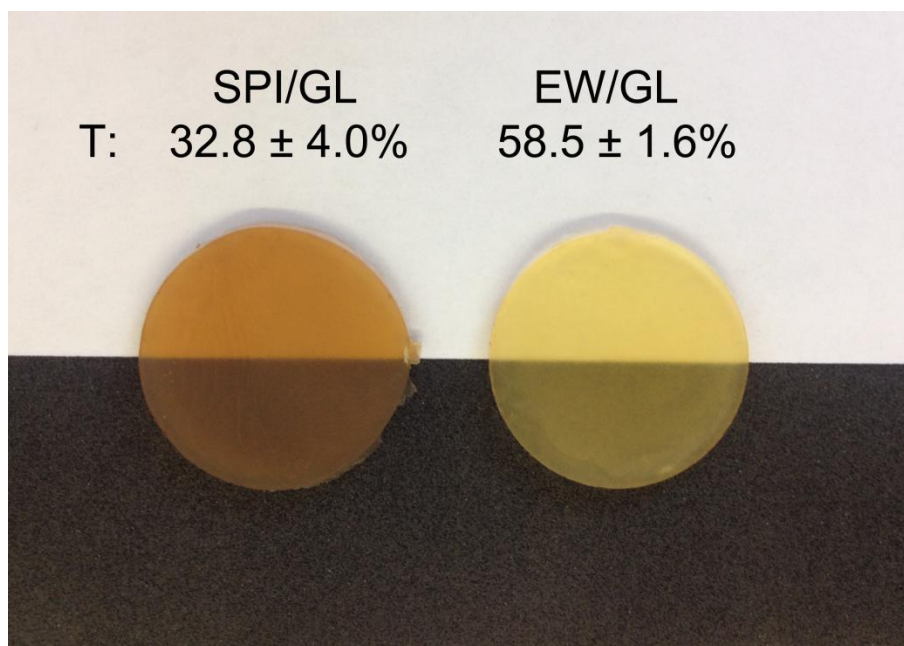


Fig. 4.9. Bioplásticos circular de aislado de soja (SPI/GL), izquierda, y de albúmina de huevo (EW/GL), derecha, con los valores de transmitancia de cada uno bajo sobre fondo blanco y negro.

#### **4.3.3. Estudio de composición de la proteína aislada de soja**

En el apartado anterior se ha determinado que la proteína de soja tiene mayor carácter termoplástico e hidrofílico que la albúmina de huevo, por lo que es necesario realizar un estudio a diferentes proporciones proteína/plastificante (SPI/GL) para determinar la proporción más adecuada. Esta será aquella en la que los bioplásticos sigan siendo buenos captadores de agua, y al mismo tiempo posean unas propiedades mecánicas adecuadas. Las proporciones SPI/GL

seleccionadas para el estudio fueron 50/50, 55/45 y 60/40. Debido a que para la obtención de las probetas para el sistema 60/40 la temperatura de inyección debe ser 65°C con un tiempo de termostatzado previo de 200 s, se ha variado esta temperatura de inyección a 80°C evitando así ese tiempo, pudiendo tener todas las probetas de los diferentes sistemas la misma historia térmica. En estas condiciones se realizan ensayos térmicos de flexión, tracción mecánica y capacidad de absorción de agua.

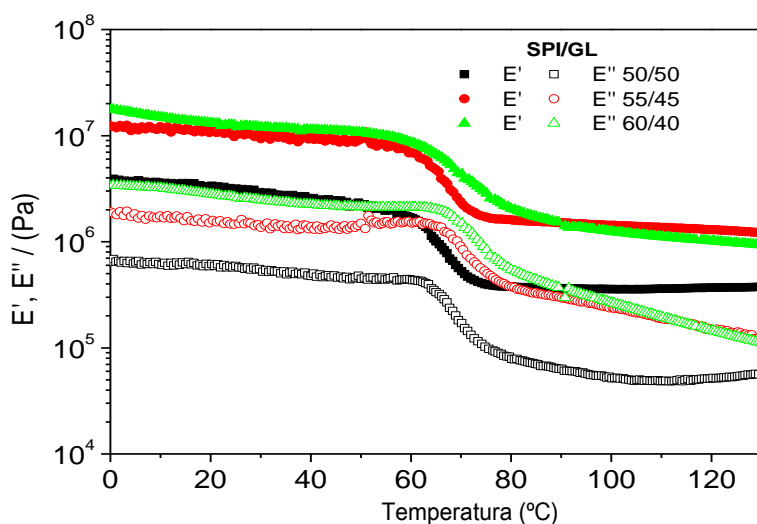


Figura 4.10. Rampa de temperatura de masas SPI/GL en proporciones 50/50, 55/45 y 60/40 (p/p).

Se observa cómo al aumentar el contenido en proteína por encima de 50% (p/p), los valores de los módulos de flexión aumentan, existiendo una diferencia significativa entre el menor, 50/50, y los dos mayores, 55/45 y 60/40, los cuales no difieren mucho.

En la tabla siguiente se representan las propiedades mecánicas y capacidad de absorción de agua para los sistemas con diferente concentración de proteína.

<b>Sistemas</b>	$\sigma_{\max}$ (MPa)	$\epsilon_{\max}$ (mm/mm)	<b>E (MPa)</b>	<b>Absorción agua (%)</b>	<b>Pérdida material soluble (%)</b>
50/50	1,7 ± 0,2	1,3 ± 0,5	8,8 ± 2,8	231,5 ± 0,5	44,9 ± 0,1
55/45	2,8 ± 0,7	1,1 ± 0,2	14,3 ± 3,2	244,4 ±21,9	46,05 ± 0,2
60/40	3,4 ± 0,1	0,8 ± 0,1	18,2±1,06	155,4 ± 4,5	39,7 ± 0,5

Al ir aumentando la proporción de proteína tanto el módulo de Young como el esfuerzo máximo aumenta, se obtienen probetas más estructuras y rígidas, tal y como concuerda con el descenso de su deformación máxima. Con respecto a la capacidad de absorción de agua la tendencia es inversa, es decir, a menor proporción de proteína mayor capacidad de agua. Esto puede ser debido a que el plastificante, la glicerina, tiene alta capacidad hidrofílica y al aumentar su presencia hace que el bioplástico absorba mayor cantidad de agua. En cualquier caso, y con el objeto de obtener materiales bioplásticos con una mayor capacidad absorbente se ha seleccionado la proporción SPI/GL 50/50 tanto para el estudio del efecto de las condiciones de procesado (capítulo 5) como de la adición de un agente efervescente (capítulo 6).



---

## 4.4. Conclusiones

A partir de los resultados obtenidos en este capítulo puede concluirse que el aislado proteico de soja posee un mayor carácter termoplástico que la proteína de albúmina de huevo. Este comportamiento diferente permitiría elegir entre un intervalo más amplio de valores de condiciones de procesado para las mezclas que contienen soja. Esto ayudaría en la realización de un barrido de esas condiciones que promuevan la obtención de matrices de bioplástico obtenidos por moldeo por inyección con un carácter hidrofílico superior. Por otro lado, si se requieren matrices con un mayor grado de reforzamiento, lo cual puede ser deseable en ciertas aplicaciones, se deberían seleccionar para su moldeo por inyección las mezclas basadas en albúmina de huevo. Es importante mencionar que estos bioplásticos de albúmina son más transparentes, elásticos, duros y frágiles que los bioplásticos de soja para la misma proporción de proteína/plastificante, a pesar de ser producidos a un menor coste energético, ya que se producen a menores presiones de inyección. Las diferencias comentadas están relacionadas con el mayor contenido en grupos sulfhidrilos en la clara de huevo, lo que permite un mayor grado de estructuración cuando se somete a alta presión y temperatura.

Además, el mayor carácter hidrófilico de los bioplásticos de soja es responsable de su mejor respuesta en los ensayos de capacidad de captación de agua (ya sea por inmersión o por almacenamiento en atmósfera saturada) en comparación con los bioplásticos de albúmina de huevo. Los resultados aquí presentados permiten proponer a la proteína de soja para diferentes potenciales aplicaciones en los que la absorción de agua fuera crítica como, por ejemplo, la producción de materiales superabsorbentes.

---

## 4.5. Referencias

1. Plastics Europe, Brussels, Belgium, Plastics – the facts 2014-2015. 2015, <http://www.plasticseurope.org/Document/plastics-the-facts-20142015.aspx?FolID=2>
2. Jones, A., Ashton Zeller, M., Sharma, S., (2013). Thermal, mechanical, and moisture absorption properties of egg White protein bioplastics with natural rubber and glycerol. *Progress in Biomaterials*. 2:12.
3. Avérous, L. (2004). Biodegradable multiphase systems based on plasticized starch: a review. *Journal of macromolecular science-polymer reviews*. C4 3: 231-274.
4. Hernández-Izquierdo, V.M., Krochta, J.M. (2008). Thermoplastic processing of proteins for film formation – a review. *Journal of food science*. 73: 30–39.
5. Siracusa, V., Rocculi, P., Romani, S., Dalla Rosa, M. (2008). Biodegradable polymers for food packaging: a review. *Trends in food science & technology*. 19: 634–643.
6. Domenek S, Feuilleley P, Gratraud J, Morel M-H, Guilbert S. (2004). Biodegradability of wheat gluten based bioplastics. *Chemosphere*. 54: 551–559.
7. Gómez-Martínez, D.P., Partal, P., Martínez, I., Gallegos, C. (2009). Rheological behaviour and physical properties of controlled-release gluten-based bioplastics. *Bioresource technology*. 100: 1828–1832.

- 
8. Jerez A, Partal P, Martínez I, Gallegos C, Guerrero A. (2005). Rheology and processing of gluten-based bioplastics. *Biochemical engineering journal*. 26:131–138.
  9. Song, Y., Zheng, Q. (2008). Preparation and properties of thermo-molded bioplastics of glutenin-rich fraction. *Journal of cereal science*. 48: 77–82.
  10. Sun, S., Song, Y., Zheng, Q. (2008). Thermo-molded wheat gluten plastics plasticized with glycerol: effect of molding temperature. *Food Hydrocolloid* 22: 1006–1013.
  11. Zuo, M., Song, Y., Zheng, Q. (2008). Influence of equibiaxial extensional strain on stress relaxation of glycerol plasticized wheat gluten. *Journal of the science of food and agriculture*. 88: 2350–2356.
  12. Zárate-Ramírez, L., Romero, A., Martínez García, I., Partal, P., Guerrero, A. (2011). Wheat Gluten-Based Materials Plasticized With Glycerol and Water by Thermoplastic Mixing and Thermomoulding. *Journal of the science of food and agriculture*. 91: 625-633.
  13. Mohanty, A.K., Tummala, P., Liu, W., Misra, M., Mulukutla, P.V., Drzal, L.T. (2005). *Journal of polymers and the environment*. 13 3: 279.
  14. Tummala, P., Liu, W., Drzal, L.T., Mohanty, A.K., Misra, M., (2006). Influence of plasticizers on thermal and mechanical properties and morphology of soy-based bioplastics. *Industrial & engineering chemistry research*. 45: 7491–7496.
  15. Zheng H., Tan Z., Zhan Y.R. (2003). Huang J. Morphology and properties of soy protein plastics modified with chitin. *Journal of applied polymer science*. 90: 3676–3682.

- 
16. Jones, A., Abhyuday, M., Sharma, S. (2015). Journal of applied polymer science. 41931.
  17. Jerez, A., Partal, P., Martínez, I., Gallegos, C., Guerrero, A. (2007 a). Egg White-based bioplastics development by thermomechanical processing. Journal of food engineering. 82: 608-617.
  18. Jerez, A., Partal, P., Martínez, I., Gallegos, C., Guerrero, A. (2007 b). Protein-based bioplastics: effect of thermo-mechanical processing. Rheol Acta 46:711-720.
  19. Adamy, M., Verbeek, C.J.R. (2013). Injection-molding performance and mechanical properties of blood meal-based thermoplastics. Advances in polymer technology. 32(3): 21361.
  20. Zeller, M.A., Hunt, R., Jones, A., Sharma, S. (2013). Journal of applied polymer science. 3263-3275.
  21. Dorigato, A., Pegoretti, A. (2012). Biodegradable single-polymer composites from polyvinyl alcohol. Colloid and polymer science. 290(4):359-370.
  22. Baron, F., Rehaut, S. (2007). Compounds with antibacterial activity. Huopalahti R, Lopez-Fandiño, R., Anton, M., Schade, R., Bioactive egg compounds, 191-198. Berlin: Springer-Verlag ISBN: 978-3-540-37885-3.
  23. González-Gutierrez. J., Partal, P., García-Morales, M., Gallegos, C. (2010). Development of highly- transparent protein/starch- Based bioplastics. Bioresource technology. 101: 2007-2013.

- 
24. Fukushima, D. (1991). Structure of plant storage proteins and their functions. *Food reviews international*. 7, 353–381.
  25. Liu, W., Mohanty, AK., Askeland, P., Drzal, LT., Mirsa, M. (2004). Influence of fiber surface treatment on properties of Indian grass fiber reinforced soy protein based biocomposites. *Polymer*. 45: 7589-7596.
  26. Liu, W., Mohanty, AK., Askeland, P., Drzal, LT., Mirsa, M. (2005). Green composites from soy based plastic and pineapple leaf fiber: fabrication and properties evaluation. *Polymer*. 46: 2710-2721.
  27. Pateau, I., Chen, C., Jane, J. (1994). Biodegradable plastic made from soybean products. 1. Effect of preparation and processing on mechanical properties and water absorption. *Industrial & engineering chemistry research*. 33 (7): 1821-1827.
  28. Jane, J., Wang, S. (1996). Soy protein-based thermoplastic composition for preparing molded articles. U.S. patent 5,523,293
  29. Zhong, Z., Sun, X. S. (2001). Properties of soy protein isolate/polycaprolactone blends compatibilized by methylene diphenyl diisocyanate. *Polymer* 42: 6961-9.
  30. Yunos, M., Rahman, W. (2011). Effect of glycerol on performmancerice straw/starch based polymer. *J Appl Sci*. 11 (13): 2456-2459.
  31. Sharma, S., and Luzinov, I. (2012). Water aided fabrication of whey and albumin plastics. *Journal of polymers and the environment*. 20(3): 681-689.

- 
32. Chen, P., Zhang, L., Cao, F. (2005). Effects of moisture on glass transition and microstructure of glycerol-plasticized soy protein. *Macromolecular bioscience*. 5: 872-880.
  33. Guerrero, P., Retegi, A., Gabilondo, N., de la Caba, K. (2010). Mechanical and thermal properties of soy proteins films processed by casting and compression. *Journal of food engineering*. 100:145-15.
  34. Božič, M., Majerič, M., Denac, M., Koko, V. (2015). *Journal of applied polymer science*. 132.
  35. Güttler, B. (2009). *Soy-Polypropylene Biocomposites for Automotive Applications*. Thesis. Department of Chemical Engineering. University of Waterloo.
  36. Lii C., Liaw S., Tomasik P. (2003). Xanthan Gum-Ovalbumin Complexes From Electrosynthesis and Coacervation. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* . 12/53 (3): 25–29.
  37. Ma, F., Huang, H., Zhou, L., Yang, C., Zhou, J., Liu, Z. (2012). Study on the conformation changes of Lysozyme induced by Hypocrellin A: The mechanism investigation. *Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. *Spectrochim Acta* 97: 1159–1165.
  38. Glycerin Producers' Association *Physical Properties of Glycerin and Its Solutions*. Glycerin Producers' Association, New York (1975).
  39. Ogale, A.A., Cunningham, P.L., Acton, A.C. (2000). Viscoelastic, Thermal, and microstructural characterization of soy protein isolate films. *Journal of food science*. 65 (4): 672-679.

- 
40. Chen, P., Zhang, L. (2005 b). New evidences of glass transition and microstructures of soy protein plasticized with glycerol. *Macromolecular bioscience*. 5: 237-245.
41. Tian, H., Wu, Wenqian., Guo, G., Gaolun, B., Jia, Q., Xiang, A., (2012). Microstructure and properties of glycerol plasticized soy protein plastics containing castor oil. *Journal of food engineering*. 109: 496-500.
42. Weijers, M. Sagis, L.M.C. Veerman, C. Sperber, B. and van der Linden, E. (2002). Rheology and structure of ovalbumin gels at low pH and low ionic strength. *Food Hydrocolloid*, 16 (3): 269-276.
43. Fernández-Espada, L., Bengoechea, C., Cordobes, F., Guerrero, A. (2013). Linear Viscoelasticity Characterisation of Egg Albumen/Glycerol Blends With Applications in Material Moulding Processes. *Food Bioprod Process*. 91: 319-326.
44. Mine, Y. Noutomi, T., Haga N. (1991). Emulsifying and structural-properties of ovalbumin. *Journal of agricultural and food chemistry*. 39: 443–446.
45. Swain S.N., Rao KK., Nayak PL. (2005). Biodegradable polymers: IV. Spectral, thermal, and mechanical properties of cross-linked soy protein concentrate. *Polymer international*. 54:739–743.
46. Félix, M., Martínez-Alfonso, J.E., Romero, A., Guerrero, A. (2014). Development of albumen/soy biobased plastic materials processed by injection molding. *Journal of food engineering*. 125: 7-16.

- 
47. Handa, A. Gennadios, A., Hanna, M.A., Weller, C.L., Kuroda, N. (1999). Physical and Molecular Properties of egg-white Lipid Films. *Journal of food science*. 64(5) 860-864.
  48. Huafeng, T., Wenqian, W., Gaiping, G., Bagen, G., Qingqing, J., Aimin, X. (2012). Microstructure and properties of glycerol plasticized soy protein plastics containing castor oil. *Journal of food engineering*. 109: 496-500.
  49. Bounocore G.G., Del Nobile M.A., Panizza A., Corbo M.R., Nicolais L. (2003). A general approach to describe the antimicrobial agent release from highly swellable films intended for food packaging applications. *Journal of controlled release*. 90: 97–107.
  50. Zhang, J., Mungara, P., Jane, J. (2001). Mechanical and thermal properties of extruded soy protein sheets. *Polymer*. 42: 2569-2578.
  51. Mo, X.; Susan Sun X., Wang, Y. (1999). Effects of Moulding Temperature and Pressure on Properties of Soy Protein. *Journal of applied polymer science*. 73(13): 2595-2602.
  52. IUPAC Recommendations Pure Appl. Chem. 1985, 57, 603.
  53. IUPAC Recommendations Pure Appl. Chem. 1994, 66, 1739.
  54. Findenegg, G. H., Fundamentals of adsorption, Engineering Foundation: New York, 1984, 207-218.
  55. Paulk, J.M., Ogale, A. (1995). Thermal Processing of food grade proteins. Proceedings of the Annual Technical Conference, ANTEC '95; 5-9 May 1995. Boston, Mass. Brookfield, Conn.: Society of Plastics Engineers. 3139-3140.



- 
56. Cunningham, P., Ogale, A., Dawson, P., Acton, J. (2000).  
Tensile Properties of soy protein isolate films produced by thermal  
compaction Technique. *Journal of food science*. 65(4): 668-671.



---

**EFFECTO DE LAS CONDICIONES DE PROCESADO  
SOBRE LAS PROPIEDADES DE BIOPLÁSTICOS A BASE  
DE PROTEÍNA DE SOJA POR MOLDEO POR  
INYECCIÓN**



---

## Resumen

La optimización de las condiciones de procesado en la producción de bioplásticos de proteínas de soja mediante moldeo por inyección ha sido esencial para el desarrollo de materiales que presenten una gran capacidad para absorber el agua al mismo tiempo que buenas propiedades mecánicas. Se ha estudiado el efecto de los parámetros de procesado sobre las propiedades termomecánicas y de capacidad de absorción de agua, utilizando como referencia para ello una mezcla de proteína de soja/glicerina 50/50 (p/p), procesada a 40°C, 500 bar y 70°C como valores de referencia para la temperatura de la cámara de inyección, la presión de inyección y la temperatura del molde, respectivamente. Los parámetros de procesado no mostraron una gran influencia sobre las propiedades termomecánicas de flexión desde -30 a 130°C, al mostrar la mayoría de las muestras una respuesta similar, independientemente del parámetro estudiado. Por otro lado, cuando se estudiaron las propiedades de tracción y las propiedades de capacidad de absorción de agua, el mayor efecto tiene lugar al modificar los valores de la temperatura, ya sea de la cámara de inyección o del molde, ya que la presión no ejerce una influencia clara cuando aumentó de 300 a 900 bar. Se obtuvieron muestras con una menor capacidad de absorción de agua y una mayor extensibilidad cuando fueron procesadas a temperaturas más altas, lo cual puede relacionarse con un aumento del grado de reticulación del sistema.

Este tercer capítulo de la presente Tesis Doctoral se centra en la optimización de los parámetros de procesado necesarios para la fabricación de bioplásticos a base de un aislado proteico de soja mediante moldeo por inyección: temperatura de inyección ( $T_{\text{inyección}}$ ), temperatura del molde ( $T_{\text{molde}}$ ) y la presión de inyección ( $P_{\text{inyección}}$ ). Una selección óptima de estos parámetros de procesado será un factor clave en la obtención de bioplásticos que muestren propiedades adecuadas para su aplicación final. En este capítulo se ha estudiado las propiedades de flexión termomecánica, las propiedades de tracción, y la capacidad de absorción de agua de los bioplásticos obtenidos.

---

## 5.1. Introducción

Tradicionalmente, la mayoría de los productos plásticos que se utilizan en una gran variedad de aplicaciones (por ejemplo, embalaje, construcción, dispositivos electrónicos, artículos para el hogar...) han sido fabricados a partir de materiales sintéticos derivados del petróleo, tales como polietileno, polipropileno, poliestireno, etc. La mayoría de ellos no pueden degradarse con facilidad, lo que implica consecuencias ambientales y ecológicas graves. Este hecho hace que gradualmente estén siendo reemplazados por bioplásticos. El interés hacia los bioplásticos que utilizan una base proteica ha aumentado enormemente debido a su gran potencial derivado de una serie de factores como el bajo costo, alta rentabilidad y disponibilidad, así como excelente biodegradabilidad<sup>1</sup>.

La proteína de soja es uno de los biopolímeros más utilizado como materia prima para la producción de bioplásticos, ya que es una fuente renovable con un precio relativamente asequible. La soja contiene aproximadamente un 40% de proteínas, 20% de aceite, 35% de hidratos de carbono y 5% de cenizas (referido a la sustancia seca<sup>2,3</sup>). Existen varios productos a base de soja con diferentes contenido en proteína: aislado de proteína de soja (SPI, *Soy Protein Isolate*, 90%), concentrado proteico de soja (SPC, *Soy Protein Concentrate*, 72%) o harina de soja (SF, *Soy Flour*, 56%, o SM, *Soy Meal*, 48%). La proteína de soja posee una estructura compleja, en la que la glicina (7S) y la  $\beta$ -conglucina (11S) representan las principales fracciones, estando compuestas por 20 aminoácidos con diferentes grupos laterales, como

---

-SH, -OH y -NH, que facilitan las reacciones de entrecruzamiento con otros polímeros<sup>5-8</sup>. Las proteínas de soja son típicamente difíciles de procesar a menos que una cierta cantidad de plastificante, agente desnaturalizante, o una combinación de ambos de ellos, esté presente en la formulación del material bioplástico. Los plastificantes son agentes de bajo peso molecular que tienen la capacidad de aumentar la movilidad de las cadenas proteicas, reduciendo el número de interacciones intra- e intermoleculares. Entre los plastificantes más utilizados en el procesado de la proteína de soja cabe destacar el agua y los polialcoholes, siendo la glicerina el plastificante más utilizado dentro estos últimos<sup>9-13</sup>.

El moldeo por inyección, junto con la extrusión, es el método de procesado más popular utilizado en la industria del plástico, ya que es muy adecuado para lograr un alto volumen de producción. Esta técnica de procesado ofrece una preparación eficiente, sencilla y rápida, siendo utilizada para producir un gran número de artículos idénticos, desde componentes de ingeniería de alta precisión hasta bienes de consumo desechables. Hoy en día, una gran variedad de productos, que varían mucho en su tamaño, complejidad y aplicación, se fabrican utilizando el moldeo por inyección. El moldeo por inyección es un proceso por lotes que consta de tres etapas diferentes. Normalmente, la primera es una etapa de plastificación con objeto de obtener una masa fundida de polímero a una temperatura determinada. La segunda etapa consiste en el llenado del molde, comprendiendo la inyección, la compresión (a una velocidad controlada de inyección y de presión) y la post-inyección (a presión y tiempo de residencia en el molde controlados). La última etapa consiste en el enfriamiento de la muestra. El proceso de inyección realizado a escala de laboratorio es básicamente igual al descrito,

---

aunque la etapa de plastificación se realiza en una pequeña cámara cilíndrica, provista de un pistón, en lugar de un sistema de tornillo y barril. La mayor parte de las aplicaciones de los materiales moldeados por inyección se han desarrollado para polímeros termoplásticos. Sin embargo, el procesado puede cambiar mucho cuando se trabaja con materiales de naturaleza proteica para los que no hay muchos datos disponibles. Por ejemplo, en estos casos se deben evitar temperaturas muy elevadas en la cámara de inyección donde tiene lugar la plastificación con objeto de prevenir la formación de entrecruzamientos, mientras que, por otra parte, se impondrían temperaturas altas en el molde con el fin de favorecer el entrecruzamiento de la red proteica<sup>14,15</sup>.

Los parámetros de procesado que mayor influencia tienen son la temperatura de la cámara de inyección (también denominada temperatura de inyección), la temperatura de moldeo y la presión<sup>15-18</sup>. No obstante, la selección de los parámetros de procesado necesarios para lograr bioplásticos que muestren propiedades mecánicas óptimas está lejos de ser trivial. En cualquier caso, las aplicaciones de los plásticos a base de proteínas de soja son todavía bastante limitadas debido a su baja resistencia y a su alta capacidad de adsorción de humedad<sup>19-20</sup>.



---

---

## 5.2. Materiales y métodos

### 5.2.1 Materiales

Materias primas		Proveedor
Proteína	Soja (SPI)	Proanda, S.L.
Plastificante	Glicerina (GL)	Panreac Química, S.A.

Tabla 5.1. Materias primas utilizadas para los sistemas SPI/GL.

### 5.2.2. Preparación de la muestra

La preparación de las probetas se divide en dos etapas, una primera de mezclado para la formación de la masa, seguida de la inyección de esta masa para obtener los bioplásticos de diferente geometrías.

Mezclador	Velocidad	Tiempo	Condiciones	Sistemas (p/p)
Mezclador Thermo Haake	50 r.p.m.	10 min	Adiabáticas	SPI/GL 50/50

Tabla 5.2. Condiciones de mezclado de los sistemas en el mezclador Thermo Haake.

Los parámetros de procesado seleccionados con el fin de estudiar su influencia sobre las propiedades mecánicas y físicas de los bioplásticos SPI/GL resultantes son: la temperatura de la cámara de inyección ( $T_{\text{inyección}}$ ), la presión de inyección ( $P_{\text{inyección}}$ ) y la temperatura del molde ( $T_{\text{molde}}$ ). La tabla 5.3. muestra todas las condiciones de procesado estudiadas en el presente capítulo.

<b>T<sub>inyección</sub> (°C)</b>	40		
	80	40	40
	120		
<b>P<sub>inyección</sub> (bar)</b>		300	
	500	500	500
		900	
<b>T<sub>molde</sub> (°C)</b>			60
	70	70	70
			80
			90

Tabla 5.3. Resumen de las condiciones de procesado utilizadas para la mezcla SPI/GL 50/50.

La densidad de muestras de bioplásticos se estimó después de pesar las muestras en una balanza analítica y tras la medición de sus dimensiones usando un micrómetro IP65 (Mitutoyo, EE.UU.).

### 5.2.3. Tipos de ensayos

Ensayos	Equipo	Sensor	Sistema
Análisis dinámico termomecánico por compresión	RSA3, TA Instruments,	Placa-placa 8mm	Masas
Análisis dinámico termomecánico por flexión	RSA3, TA Instruments,	Dual Cantilever	Bioplásticos rectangular
Propiedades de tracción	10 kN Electromechanical Estándar System		Bioplásticos tipo mancuernas
Capacidad de absorción de agua			Bioplástico circular
Microscopía electrónica de barrido (SEM)	microscopio electrónico XL-30 de barrido Philips		Bioplástico
Curva de solubilidad	Método de Markwell		aislada de soja (SPI)

---

Todas las muestras estudiadas contienen la misma cantidad de plastificante (50%). Se realizaron pruebas de barrido de deformación para determinar la región viscoelástica lineal (RVL) (entre 0,01% y 0,3%). Los ensayos dinámicos de rampas de temperatura se realizaron a una frecuencia constante de 1 Hz y deformaciones dentro de la región de viscoelasticidad lineal. La velocidad de calentamiento se fijó en 3 °C/min, dentro de un intervalo de temperatura que va desde -30 a 130 °C. Todas las muestras se recubrieron con una grasa de alto vacío *Dow Corning* para evitar la pérdida de agua durante el ensayo.

## 5.3. Resultados y discusión

### 5.3.1. Análisis dinámico termomecánico

La figura 5.1. muestra la evolución que tienen los módulos elástico y viscoso cuando la mezcla de SPI/GL resultante se calentó desde 0 a 140°C. Se observa cómo siempre prevalece la componente elástica ( $E'$ ) sobre la viscosa ( $E''$ ), dejando patente que tiene lugar un ablandamiento de la mezcla a medida que aumenta la temperatura. Esto conduce a un máximo de la tangente de pérdidas,  $\tan \delta$ , alrededor de 68°C, que presumiblemente corresponde a una transición vítrea de la muestra.

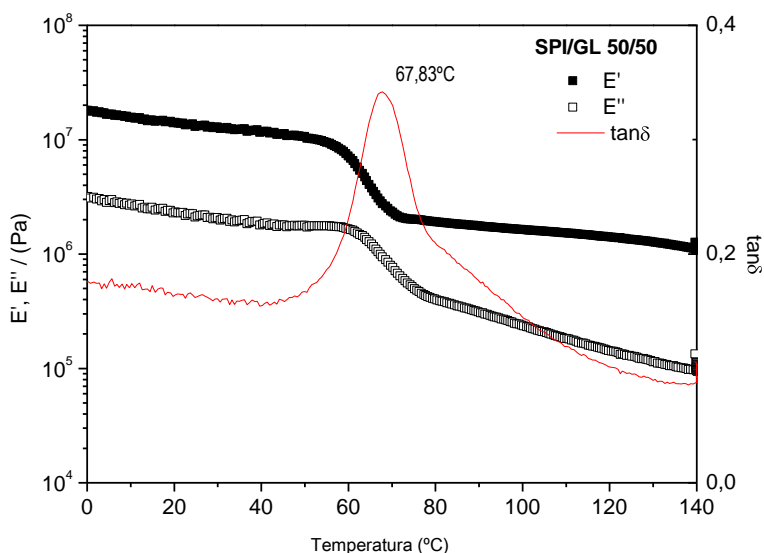


Figura 5.1. Evolución de los módulos viscoelásticos y la tangente de pérdidas para la mezcla SPI/GL 50/50 a lo largo del intervalo de temperatura de 0 a 140°C

A raíz de estos resultados, podría parecer plausible que la temperatura óptima para el proceso de inyección de esta mezcla,  $T_{\text{inyección}}$ , sería la correspondiente al valor mínimo de la componente elástica, en caso de

---

que se encontrara, puesto que el flujo de la mezcla de proteína-plastificante desde la cámara de inyección al molde se vería favorecido a dicha temperatura. Por otro lado, también debe tenerse en cuenta que la exposición de las mezclas a altas temperaturas puede promover el entrecruzamiento de la proteína inducido por calor. De hecho, puede apreciarse una disminución en la tangente de pérdidas en la figura 5.1 en la región de altas temperaturas, a pesar de que no se alcanza un mínimo en  $E'$ , lo que resulta coherente con los resultados mostrados previamente<sup>14</sup>. Esto puede ser considerado como una consecuencia de un carácter termoplástico superior mostrado por SPI en comparación con otras proteínas tales como el gluten<sup>26</sup> o la albúmina de huevo<sup>14</sup>. En cualquier caso, parece claro que existe un intervalo de temperaturas disponible para el procesado de esta proteína bastante amplio, lo cual proporciona una alta flexibilidad en la selección de la temperatura de inyección.

Asimismo, se estudió la influencia de los diferentes parámetros de procesado ( $T_{\text{inyección}}$ ,  $P_{\text{inyección}}$ ,  $T_{\text{molde}}$ ) sobre las propiedades viscoelásticas de los bioplásticos obtenidos a partir de mezclas SPI/GL a través del moldeo por inyección examinando los resultados de DMTA en el modo de flexión. Para ello se utilizaron probetas rectangulares de los bioplásticos, observándose como todas las probetas mostraron una respuesta a la temperatura análoga desde un punto de vista cualitativo, independientemente de las condiciones de procesado (figuras 5.2, 5.4 y 5.6): el módulo de elasticidad ( $E'$ ) resultó siempre más alto que el módulo de pérdidas ( $E''$ ), obteniendo valores de  $\tan \delta$  siempre inferiores a 1 para todo el intervalo de temperaturas estudiado (-30 a 130 °C). Ambos módulos disminuyeron sus valores a medida que aumentaba la temperatura, mostrando una tendencia a alcanzar un valor *plateau*. A

---

pesar de que el sistema estudiado es una mezcla compleja de moléculas de proteína de soja y glicerina, el perfil obtenido es similar al comportamiento típico mostrado por otros polímeros cuando se calientan, en concreto, a la parte correspondiente a la región de transición vítrea y al *plateau* gomoso, respectivamente. Todas las probetas que se estudiaron también muestran perfiles similares en la tangente de pérdidas (figuras 5.3, 5.5. y 5.7.), mostrando un único pico en el intervalo de temperatura estudiado. Otros autores han comentado la aparición de este pico, e indicaron también la aparición de otro pico a temperaturas inferiores a  $-50^{\circ}\text{C}$ <sup>1, 27-29</sup>. Según estos autores, los plásticos de proteína de soja plastificados con glicerina podrían ser entendidos como mezclas de dominios ricos en plastificante y dominios ricos en proteínas, lo que conduce a la aparición de dos eventos relajación  $\alpha$  simultáneos, relacionados con  $T_{\alpha 1}$  y  $T_{\alpha 2}$ , respectivamente. Por lo tanto, el valor máximo en las curvas de  $\tan \delta$  mostrado en las figuras 5.3, 5.5. y 5.7. se puede atribuir a las transiciones vítreas de los dominios ricos en proteínas ( $T_{g2}$ ) para los que una buena compatibilidad entre la proteína y plastificante parece tener lugar, como se puede deducir del perfil unimodal de  $\tan \delta$ . Más específicamente, es posible encontrar en bibliografía valores para  $T_{\alpha 2}$  y  $\tan \delta (T_{\alpha 2})$  dentro del intervalo de  $50-75^{\circ}\text{C}$  y  $0,3-0,5$ , respectivamente, para sistemas similares de SPI/GL<sup>1,14,27,28,29</sup>. Los valores de  $T_{\alpha 2}$  y el pico  $\delta$  obtenidos en el presente estudio para las muestras SPI/GL se incluyen en la tabla 5.5. Como se puede observar, la mayoría de estos valores se ajustan a los valores de bibliografía comentados para  $T_{\alpha 2}$  y  $\tan \delta (T_{\alpha 2})$  para mezclas SPI/GL.

		<b>tan δ (T<sub>α2</sub>)</b>	<b>T<sub>α2</sub> (°C)</b>
<b>T<sub>inyección</sub> (°C)</b>	40	0,38 ± 0,00	51 ± 1
	80	0,56 ± 0,07	55 ± 3
	120	0,38 ± 0,02	53 ± 4
<b>P<sub>inyección</sub> (bar)</b>	300	0,42 ± 0,03	53 ± 0,6
	500	0,56±0,07	55 ± 3
	900	0,42 ± 0,01	56 ± 0,4
<b>T<sub>molde</sub> (°C)</b>	60	0,83 ± 0,03	54 ± 0,2
	70	0,56 ± 0,07	55 ± 3
	80	0,47 ± 0,01	59 ± 2
	90	0,56 ± 0,01	63 ± 3
	130	0,43 ± 0,06	65 ± 4

Tabla 5.5. Valores de tan $\alpha_2$  y T $\alpha_2$  para las diferentes condiciones usadas en el moldeo por inyección para los bioplásticos SPI/GL, 50/50.

Las figura 5.2. y 5.3. muestran los resultados obtenidos para los bioplásticos SPI/GL procesados a diferentes temperaturas de inyección (40, 80 y 120°C), manteniendo tanto la presión de inyección y la temperatura del molde constante (500 bar y 70°C, respectivamente). Aunque no se encontraron grandes diferencias cuando se estudió el efecto de la T<sub>inyección</sub> sobre las propiedades dinámicas (figura 5.2.), sí es posible observar cómo a bajas temperaturas se obtienen valores mayores para el módulo elástico (E') para el bioplástico procesado a la temperatura más baja de inyección (40 °C).



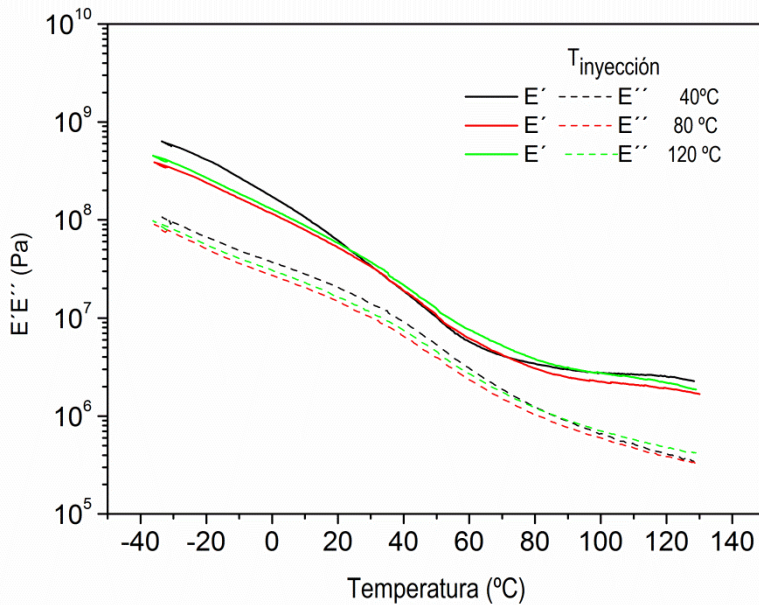


Figura 5.2. Evolucion de E' y E'' con la temperatura para probetas SPI/GL 50/50 procesadas a través del moldeo por inyección a diferente temperaturas de inyección (40, 80 y 120°C), con una presión de inyección de 500 bar y una temperatura de molde de 70°C.

Además, cuando se procesa a una  $T_{\text{inyección}}$  igual a 40°C, el descenso de E' con la temperatura es más pronunciado que cuando se hace a 80 o 120 °C, alcanzando la zona *plateau* a temperaturas más bajas. Esto podría explicarse por el comportamiento térmico observado anteriormente para la mezcla, ya que es la única muestra procesada a una  $T_{\text{inyección}}$  inferior a la de la transición vítrea estudiada para la mezcla (68°C). Por lo tanto, se espera que las propiedades viscoelásticas de la muestra que se introduce en el molde sean mayores a 40°C que a 80 o 120 °C. Esto podría dar lugar a un descenso en las propiedades viscoelásticas una vez que las muestras se introducen en el molde. Como se ha comentado anteriormente, todos las probetas muestran

valores que aproximadamente se ajustan a los encontrados en bibliografía, aunque se observa cómo el sistema inyectado a la temperatura más baja (40°C) muestra un carácter menos elástico (es decir, un pico de  $\tan \delta$  superior) que aquellos inyectados a una temperatura más alta. Por otro lado, como se observa en la figura 5.3. el valor de  $T_{\alpha 2}$  se mantiene constante (alrededor de 55°C), independientemente de  $T_{\text{inyección}}$ .

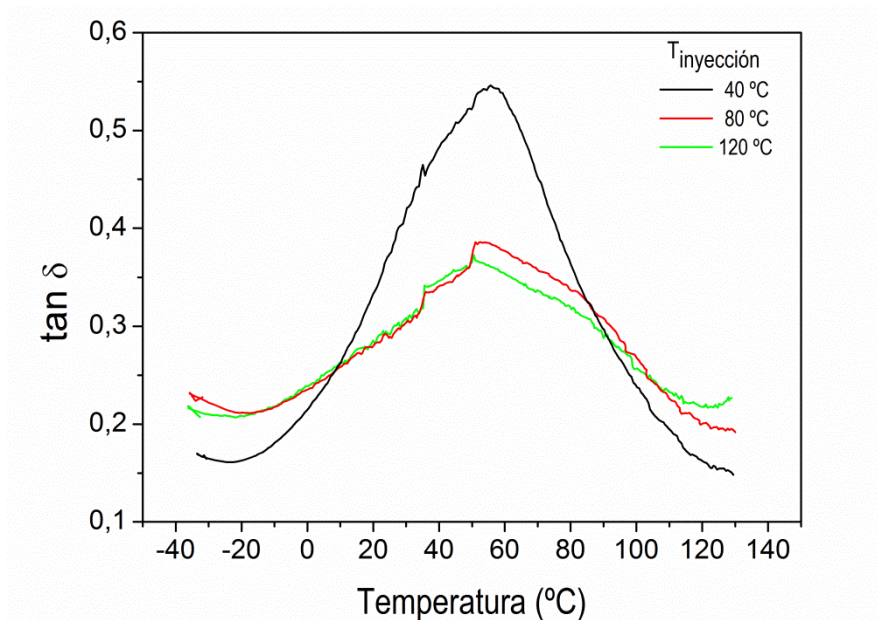


Figura 5.3. Evolucion de  $\tan \delta$  con la temperatura para probetas SPI/GL 50/50 procesadas a través del moldeo por inyección a diferente temperaturas de inyección (40, 80 y 120°C), con una presión de inyección de 500 bar y una temperatura de molde de 70°C.

Las figuras 5.4. y 5.5. muestran los resultados obtenidos para los bioplásticos SPI/GL procesados a diferentes presiones de inyección,  $P_{\text{inyección}}$  (300, 500, 900 bar), manteniendo esta vez tanto la temperatura

de inyección como la temperatura del molde constantes (40 y 70°C, respectivamente).

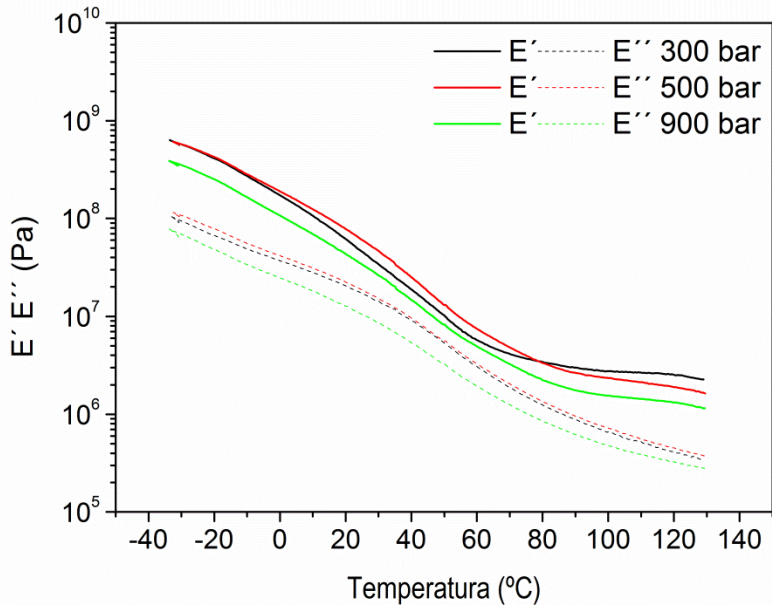


Figura 5.4. Evolución de  $E'$  y  $E''$  con la temperatura para probetas de SPI/GL 50/50 procesadas por moldeo de inyección a diferentes presiones (300, 500 y 900 bar), con una temperatura de inyección de 40°C, y una temperatura de molde de 70°C.

Se observa cómo desde -30 hasta 80°C hay una tendencia hacia valores más altos de  $E'$  y  $E''$  a medida que aumenta la  $P_{\text{inyección}}$  desde 300 a 900 bar (figura 5.4.). Esta evolución se explica por el hecho de que presiones más altas pueden causar un mayor grado de orientación, lo que resultaría un aumento de las propiedades viscoelásticas. También habría que considerar el aumento en la densidad que tiene lugar, desde  $1170 \pm 5 \text{ kg/m}^3$  hasta  $1260 \pm 40 \text{ kg/m}^3$  para 300 y 900 bar, respectivamente, como consecuencia del efecto de la presión durante la etapa de compactación. La evolución comentada prevalece para todo el

intervalo de temperaturas estudiado para el módulo de pérdidas,  $E''$ , pero se altera para el módulo elástico,  $E'$ , en la muestra procesada a 500 bar, que posee el mayor valor de  $E'$  por encima de 80°C. La disminución que tiene lugar para  $E'$  a temperaturas más altas cuando se aumenta la presión de inyección a 900 bar no está clara, a pesar de que podría estar relacionada con el hecho de que una presión más alta puede causar una desnaturalización adicional, que podría dar lugar a una estructura más amorfa, bien consolidada, y, por lo tanto, de menor módulo<sup>15</sup>. No se encuentra una tendencia clara ni para  $T_{\alpha 2}$  o  $\tan \delta (T_{\alpha 2})$  al variar la presión de inyección (figura 5.5.), aunque los máximos valores de  $\tan \delta (T_{\alpha 2})$  se observan a 500 bar.

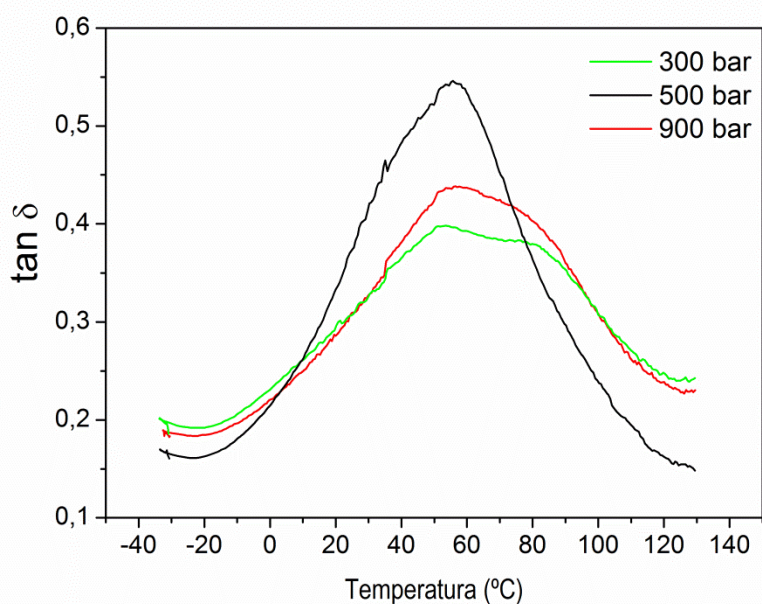


Figura 5.5. Evolucion de  $\tan \delta$  con la temperatura para probetas de SPI/GL 50/50 procesadas por moldeo de inyección a diferentes presiones (300, 500 y 900 bar), con una temperatura de inyección de 40°C, y una temperatura de molde de 70°C.

Las figuras 5.6. y 5.7 muestran los resultados obtenidos para los bioplásticos SPI/GL procesados a diferentes temperaturas de molde,  $T_{\text{molde}}$ , (60, 70, 80, 90 y 130°C), manteniendo tanto la temperatura de la cámara de pre-inyección como la presión de inyección constantes (40°C y 500 bar, respectivamente). Cuando se estudia el efecto de  $T_{\text{molde}}$ , se puede observar cómo no se encuentra una gran influencia sobre  $E'$  o  $E''$  a bajas temperaturas. A temperaturas intermedias (de 20 a 70°C aproximadamente), no se hallan grandes diferencias para  $E'$  o  $E''$  en las muestras procesadas a diferentes  $T_{\text{molde}}$ , excepto para la probeta procesada a la temperatura más baja, para la que  $E'$  muestra valores más bajos que el resto.

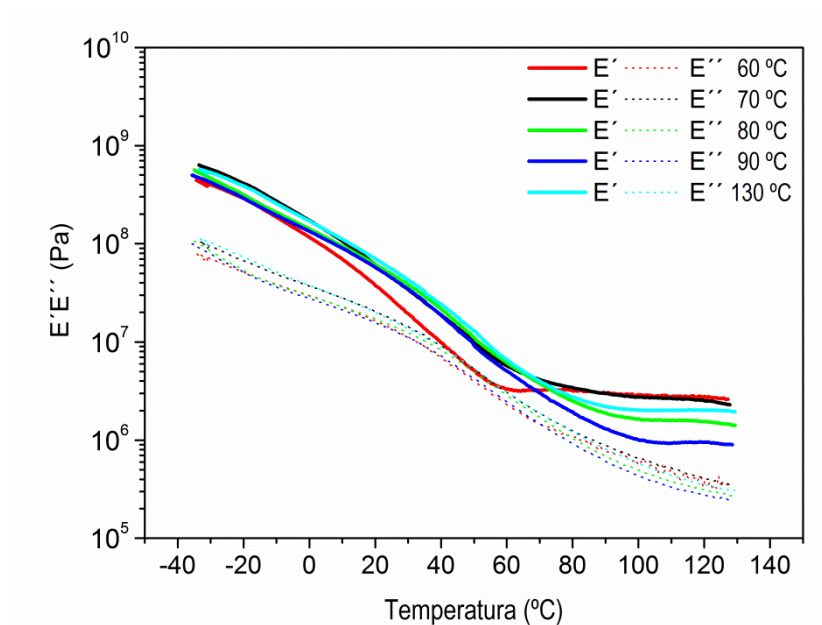


Figura 5.6. Evolucion de  $E'$  y  $E''$  con la temperatura para probetas de SPI/GL 50/50 procesadas por moldeo de inyección a diferentes temperaturas de molde (60, 70, 80, 90 y 130 °C), con una temperatura de inyección de 40°C, y una presión de inyección de 500 bar.

---

Bajo estas suaves condiciones de temperatura, el grado de reticulación obtenido a lo largo del moldeo parece ser muy bajo. Curiosamente, estos especímenes moldeados a 60°C llegan a la región del *plateau* a una temperatura más baja, justo cuando se supera esa temperatura utilizada para las condiciones de moldeo ( $T_{\text{moldeo}}$ ). En otras palabras, la zona correspondiente al *plateau* gomoso se alcanza a temperaturas más bajas que el resto de sistemas. Además, es evidente una disminución de  $E'$  y  $E''$  con el aumento de  $T_{\text{moldeo}}$  en la región de alta temperatura del DMTA. Como se mencionó anteriormente, el efecto de la temperatura de moldeo en esta región puede producir dos efectos opuestos: por un lado un aumento de temperatura tiende a producir una disminución en las propiedades viscoelásticas, como se observa en el perfil de  $E'$  mostrado en la figura 5.1, pero por otra parte, también puede inducir la reticulación por entrecruzamiento, previamente relacionada con la disminución de  $\tan \delta$ . El primer efecto parece ser el dominante en esta región de alta temperatura hasta valores de  $T_{\text{molde}}$  iguales a 90°C, mientras que el segundo efecto parece dominar a la mayor  $T_{\text{molde}}$  (130°C). Como consecuencia de esto, se puede observar un mínimo a 90°C.

También se puede observar cómo el inicio de la zona *plateau* parece sufrir un desplazamiento hacia temperaturas más altas cuando se aumenta  $T_{\text{molde}}$ . Como resultado, las muestras procesadas a temperaturas de moldeo más altas muestran una región de descenso de  $E'$  que se extiende hasta valores más altos de temperaturas. Por lo tanto, la región *plateau* tiene lugar a valores más bajos de  $E'$  con el aumento de la temperatura de moldeo. Esta diferencia en el comportamiento puede estar relacionada con el hecho de que una temperatura del molde igual a 60°C es menor a la transición vítrea de la mezcla 50/50 (figura

---

5.1). De esta manera, la menor movilidad y flexibilidad de las cadenas de proteínas pueden limitar el desarrollo de entrecruzamientos proteína-proteína. También debe ser considerado que una menor temperatura puede favorecer un menor grado de entrecruzamiento. De cualquier manera, las condiciones seleccionadas para el moldeo por inyección de la mezcla SPI/GL parecen ser adecuadas en todos los casos.

Como puede observarse en la figura 5.7. todas las muestras muestran valores para la tangente de pérdidas que encajan en el intervalo de valores encontrado en bibliografía, exceptuando el sistema moldeado a la temperatura más baja (60°C), que muestra un carácter menos elástico (es decir, un pico de  $\tan \delta$  ligeramente superior). Además, a medida que  $T_{\text{molde}}$  se hace mayor, también puede observarse un desplazamiento en el valor máximo de la tangente de pérdida hacia temperaturas más altas. Este comportamiento no sólo puede ser considerado como una consecuencia de un aumento en el grado de entrecruzamiento, sino también como una disminución en el contenido de humedad, estando todo ello inducido por el aumento de la temperatura de moldeo. Existen referencias que indican una reducción en  $T_{\alpha 2}$  con el aumento de contenido de humedad por Zhang *et ál.*<sup>3</sup> para las láminas de SPI/GL obtenidas mediante extrusión, o también por Kalichevsky *et ál.*<sup>30</sup> para la proteína de gluten. Estos autores encontraron un incremento de 5°C en la temperatura correspondiente al pico de  $\tan \delta$  por una pérdida de 1% en el contenido de humedad.

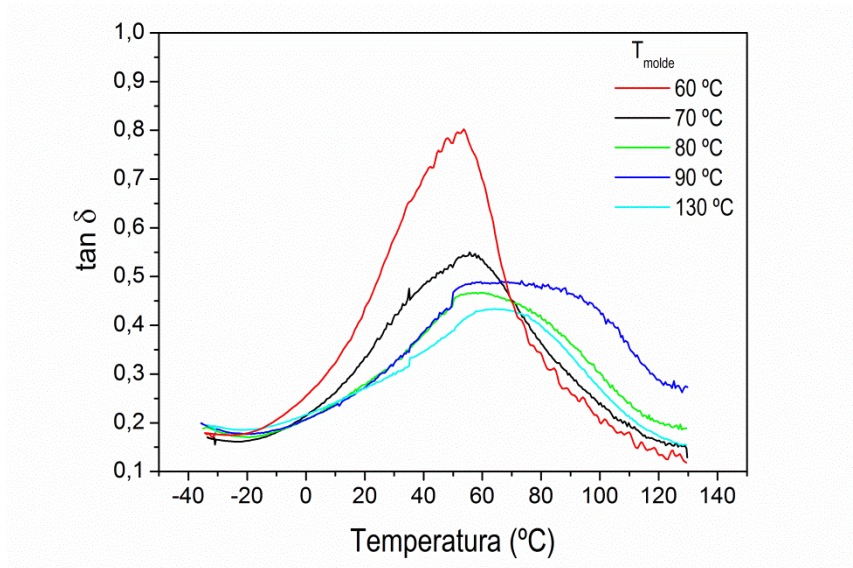


Figura 5.7. Evolucion de  $\tan \delta$  con la temperatura para probetas de SPI/GL 50/50 procesadas por moldeo de inyección a diferentes temperaturas de molde (60, 70, 80, 90 y 130 °C), con una temperatura de inyección de 40°C, y una presión de inyección de 500 bar.

### 5.3.2. Propiedades mecánicas de tracción

La Figura 5.7. y 5.8. muestran los resultados obtenidos para medidas de resistencia de tracción uniaxial en bioplásticos SPI/GL. Así, la figura 5.7. ilustra los resultados de las curvas esfuerzo-deformación obtenidas para las tres temperaturas de la cámara de inyección ( $T_{\text{inyección}}$ ) a las que se procesan los bioplásticos. Todas las curvas, incluyendo las obtenidas a diferentes temperaturas del molde y presiones de inyección (figuras 5.9. y 5.11.), exhiben inicialmente un comportamiento elástico lineal, con una pendiente constante en la curva esfuerzo-deformación, obteniéndose valores diferentes del Módulo de Young (E). Esa primera región elástica es seguida tras superar el límite elástico por una etapa de deformación plástica caracterizada por una disminución continua en la pendiente de la curva esfuerzo-deformación. Todas las curvas,



finalmente, alcanzan un valor máximo para el esfuerzo ( $\sigma_{\max}$ ) y la deformación ( $\epsilon_{\max}$ ), los cuales son inmediatamente seguidos por una disminución drástica del esfuerzo que se corresponde con la fractura de la muestra.

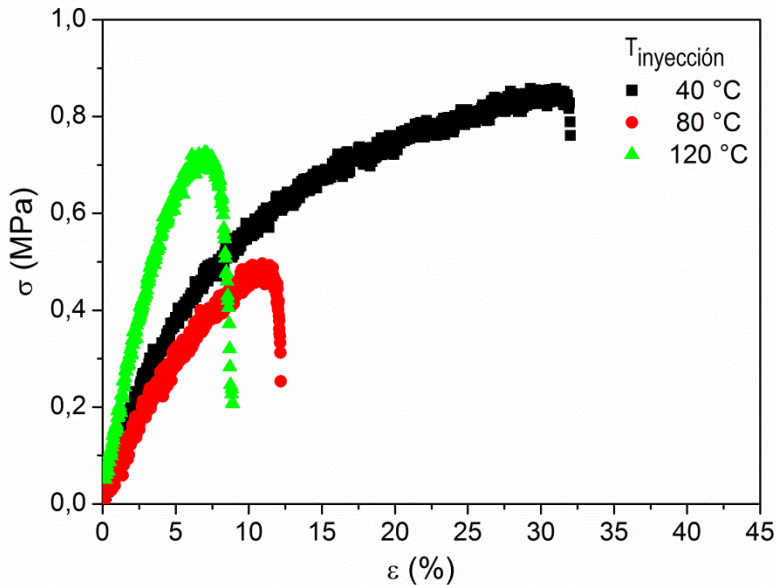


Figura 5.7. Curva del esfuerzo frente a la deformación en medidas de tracción para bioplásticos de SPI/GL a las tres temperaturas de inyección (40, 80 y 120°C).

La figura 5.8. muestra los valores de los tres parámetros mecánicos característicos ( $E$ ,  $\sigma_{\max}$  y  $\epsilon_{\max}$ ) obtenidos a partir de los ensayos de tracción realizados sobre las muestras de bioplástico de SPI/GL, en función de  $T_{\text{inyección}}$ . Parece clara una tendencia hacia un mínimo a temperaturas intermedias (80°C) en los parámetros  $E$  y  $\sigma_{\max}$ . Esta evolución es inversa a la descrita anteriormente para la tangente de pérdidas para las mezclas de SPI/GL. En otras palabras, cuanto mayor

es la tangente de pérdidas mostrada por la mezcla, se obtienen valores inferiores para el módulo de Young y  $\sigma_{\max}$ . Así, el mayor módulo de Young se obtiene claramente a 120°C, lo que puede estar asociado a que un mayor grado de entrecruzamiento tenga lugar en la inyección. Igualmente, también puede estar relacionado con el hecho de que a temperaturas superiores a 80 °C, la región de la transición vítrea se ha desarrollado completamente. También puede observarse cómo  $\epsilon_{\max}$  tiende a disminuir con el aumento de  $T_{\text{inyección}}$ .

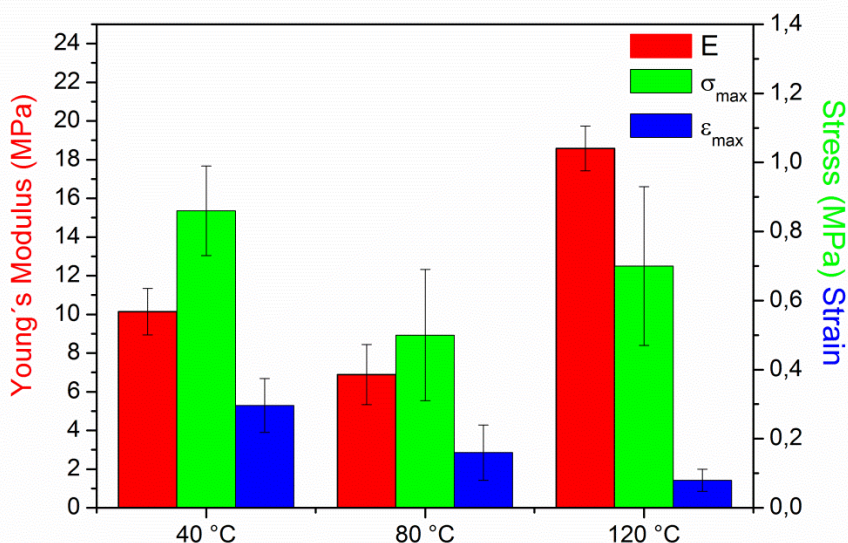


Figura 5.8. Propiedades de tracción para los bioplásticos SPI/GL 50/50 procesados por moldeo de inyección a diferentes temperaturas de cámara (40, 80 y 120°C) con una presión de inyección de 500 bar, y una temperatura de molde de 70°C.

Las figuras 5.9. y 5.10 muestran los valores de esas mismas propiedades mecánicas ( $E$ ,  $\sigma_{\max}$  y  $\epsilon_{\max}$ ) obtenidos en ensayos de tracción realizados sobre muestras de bioplástico de SPI/GL, esta vez en función de la presión de inyección,  $P_{\text{inyección}}$ . Un aumento en  $P_{\text{inyección}}$  de 300 a 900 bar conduce a bioplásticos de SPI/GL con un mayor módulo de Young. Este efecto coincide con el aumento observado para

---

el módulo elástico en los ensayos dinámicos de flexión (figura 5.4), siendo moderado en este caso.

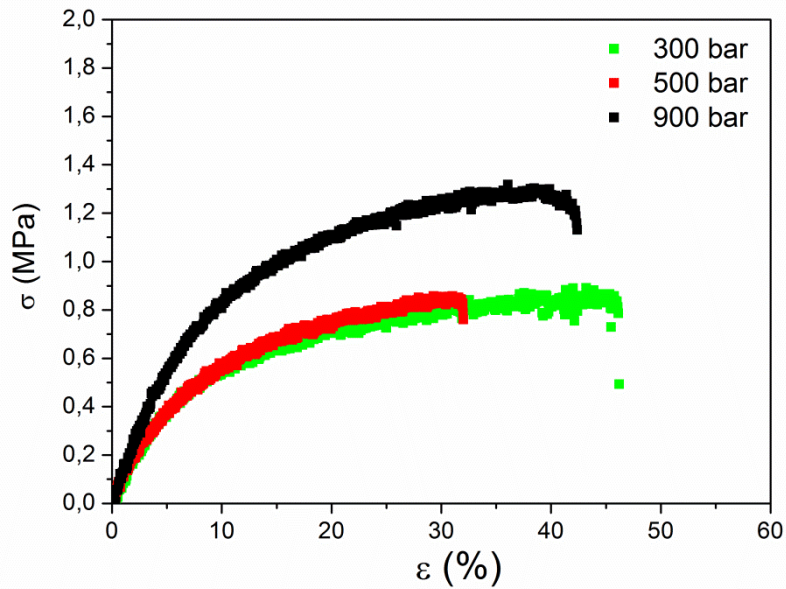


Figura 5.9. Curva de esfuerzo frente a deformación en medidas de tracción para los bioplásticos de SPI/GL a temperatura de cámara de inyección de 40°C, temperatura de molde de 70°C, a las tres presiones de inyección (300, 500 y 900 bar).

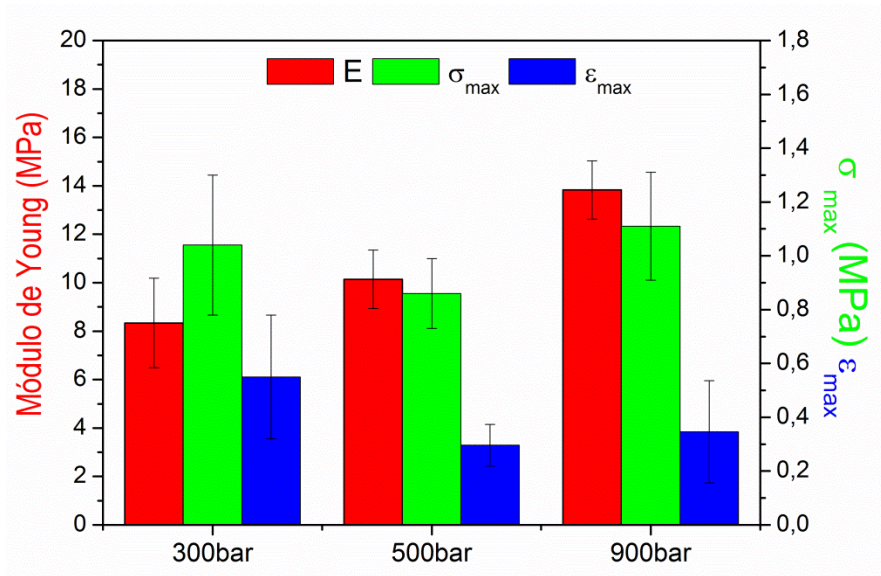


Figura 5.10. Propiedades de tensión para los bioplásticos SPI/GL 50/50 procesados por moldeo de inyección a una temperatura de cámara de 40°C y una temperatura de molde de 70°C, a diferentes presiones de inyección 300, 500 y 900 bar.

No se han encontrado diferencias significativas para el resto de parámetros al mostrarse además una baja reproducibilidad en los mismos. En cualquier caso, estos resultados concuerdan con la idea de que una presión más alta conduce a un mayor grado de orientación de las proteínas. Si observamos las fotografías realizadas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) de las muestras procesadas a 500 y 900 bar (figura 5.13.A y 5.13.C), es posible observar cómo la muestra procesada a mayor presión muestra un aspecto más homogéneo.

Las figuras 5.11. y 5.12. muestran los valores de  $E$ ,  $\sigma_{\max}$  y  $\epsilon_{\max}$  para muestras de bioplásticos de SPI/GL en función de la temperatura del molde,  $T_{\text{molde}}$ .

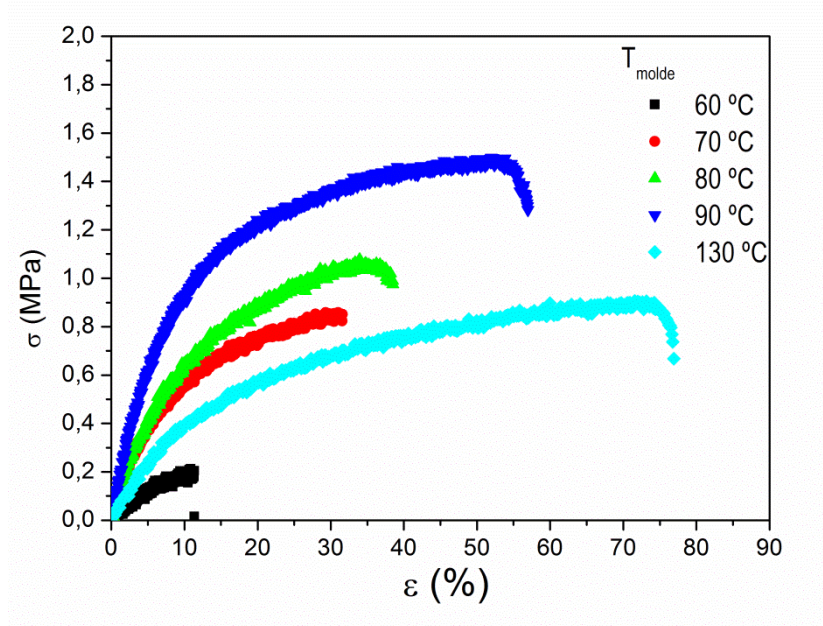


Figura 5.11. Curva esfuerzo frente a deformación en medidas de tracción para los bioplásticos de SPI/GL procesados a diferentes  $T_{\text{molde}}$  (60, 70, 80, 90 y 130°C).

Generalmente, aunque se obtienen valores más altos de los parámetros de resistencia a la tracción ( $\sigma_{\text{max}}$ ,  $\epsilon_{\text{max}}$  y  $E$ ) cuando  $T_{\text{molde}}$  se hace más alta, se puede observar como no existen diferencias significativas entre las muestras moldeadas a 70 y 80°C. Es posible observar un cambio en el comportamiento de  $\sigma_{\text{max}}$  y  $E$ , al disminuir significativamente al subir  $T_{\text{molde}}$  de 90 a 130°C. Al mismo tiempo, un incremento notable tiene lugar para  $\epsilon_{\text{max}}$ . Así, la máxima deformación de elongación encontrada a la temperatura del molde de 130°C, que llega a ser seis veces superior al valor obtenido a 60°C, se obtiene a expensas de una reducción en la resistencia a la tracción. Pateau *et al.*<sup>32</sup> también obtuvo los valores más altos para  $\epsilon_{\text{max}}$  al aumentar la temperatura de moldeado de 80 a 140°C para bioplásticos de aislados de soja procesados a través de moldeado por

compresión, aunque también encontraron un aumento en  $\sigma_{\max}$ . Una evolución similar a la observada en este estudio para  $\sigma_{\max}$  con el aumento de temperatura de molde en muestras de proteína de soja fue obtenido por Mo *et ál.*<sup>16</sup>, que también informó de un máximo en  $\epsilon_{\max}$ . En cualquier caso, la posterior disminución encontrada para ambos parámetros tuvo lugar a temperaturas de moldeo más altas (> 140°C) que las utilizadas en este estudio.

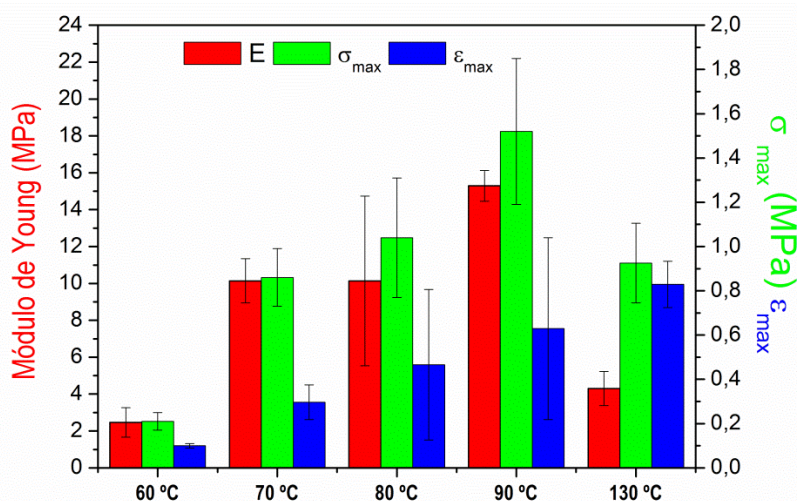


Figura 5.12. Propiedades mecánicas para los bioplásticos SPI/GL 50/50 procesados por moldeo de inyección a una  $T_{\text{inyección}}$  de 40°C, a una  $P_{\text{inyección}}$  de 500 bar y a diferentes  $T_{\text{molde}}$  (60,70,80,90 y 130 °C).

La mejora en las propiedades mecánicas se puede explicar por el hecho de que temperaturas altas de moldeo permiten una mayor movilidad de las cadenas del polímero, lo que eventualmente puede mejorar las propiedades de flujo del material, aumentando la alineación y la interacción de las cadenas<sup>31,32</sup>. Sin embargo, el cambio en la tendencia al incrementar  $T_{\text{molde}}$  desde 90 a 130°C, sugiere un cambio hacia un comportamiento elastomérico caracterizado por un cierto grado de entrecruzamiento que, esencialmente, favorece la elongación.

---

Además, el cambio en el comportamiento anteriormente mencionado para temperaturas superiores a 90°C coincide también con una modificación en la apariencia visual de las muestras de SPI/GL. De esta forma, las probetas son de color vainilla cuando son moldeadas a una  $T_{\text{molde}}$  de 60 a 90°C, pasando a ser de un color marrón oscuro translúcido cuando se moldean a 130°C. Una evolución similar en la apariencia visual fue detectada por Mo *et ál.*<sup>16</sup> y Cunningham *et ál.*<sup>33</sup>

### 5.3.3. Capacidad de absorción de agua

En los últimos años ha habido un aumento en el número de estudios relacionados con la capacidad de absorción de agua de sistemas de biopolímeros, especialmente debido a sus posibles aplicaciones en el campo de las industrias biomédica, farmacéutica, ambiental e ingeniería agrícola<sup>34-38</sup>.

La tabla 5.6 muestra los valores de capacidad de absorción de agua obtenidos para las muestras de SPI/GL 24 h después de su inmersión en agua destilada, determinándose de acuerdo con el procedimiento descrito en la sección experimental, en función de los tres parámetros de procesamiento considerados:  $T_{\text{molde}}$ ,  $P_{\text{inyección}}$  y  $T_{\text{molde}}$ . En cualquier caso, hay que destacar cómo todas las muestras de bioplásticos muestran altos valores de absorción de agua (por encima de 200%), lo cual es consistente con los resultados publicados por otros autores<sup>16,28</sup>. El carácter altamente hidrofílico de la proteína de soja parece proporcionar a estos materiales basados en soja una alta capacidad para absorber agua en su estructura, lo que hace que estas formulaciones sean un punto de partida interesante para el desarrollo de potenciales materiales

superabsorbentes, especialmente en comparación con otras proteínas vegetales como el gluten de trigo<sup>23</sup> o la proteína de guisante<sup>39</sup>.

		<b>Capacidad de absorción de agua (%)</b>	<b>Pérdida de material soluble (%)</b>
<b>T<sub>inyección</sub></b>	<b>40°C</b>	688 ± 32	55 ± 0,1
	<b>80°C</b>	620 ± 7	56,5 ± 0,3
	<b>120°C</b>	386 ± 3	55 ± 0,25
<b>P<sub>inyección</sub></b>	<b>300 bar</b>	553 ± 60.5	51 ± 0,3
	<b>500 bar</b>	688 ± 32	55 ± 0,1
	<b>900 bar</b>	546 ± 32.4	52 ± 0,3
<b>T<sub>molde</sub></b>	<b>60°C</b>	711 ± 21	54,8 ± 1,4
	<b>70°C</b>	688 ± 32	55 ± 0,1
	<b>80°C</b>	586 ± 25	55 ± 1,35
	<b>90°C</b>	563,5 ± 44	53,1 ± 1
	<b>130°C</b>	213 ± 13	49 ± 0,12

Tabla 5.6. Valores de capacidad de absorción de agua obtenidos para las muestras de SPI/GL 24 h después de su inmersión en agua en las diferentes condiciones de moldeo por inyección

Un aumento en  $T_{inyección}$  conlleva una disminución en la capacidad de absorción de agua, lo que sólo es significativo cuando la temperatura es superior a 80°C (por ejemplo, 120°C). A estas temperaturas más altas, la capacidad de absorción de agua puede reducirse a la mitad del valor obtenido a 40°C.

Al observar las fotografías obtenidas por SEM de las muestras procesadas a diferentes valores de  $T_{inyección}$  (figura 5.13), la



---

microestructura encontrada es completamente diferente, mostrándose una estructura más alineada en la muestra inyectada a 120°C (figura 5.13D) cuando se compara con la muestra inyectada a 40°C ( figura 5.13A).

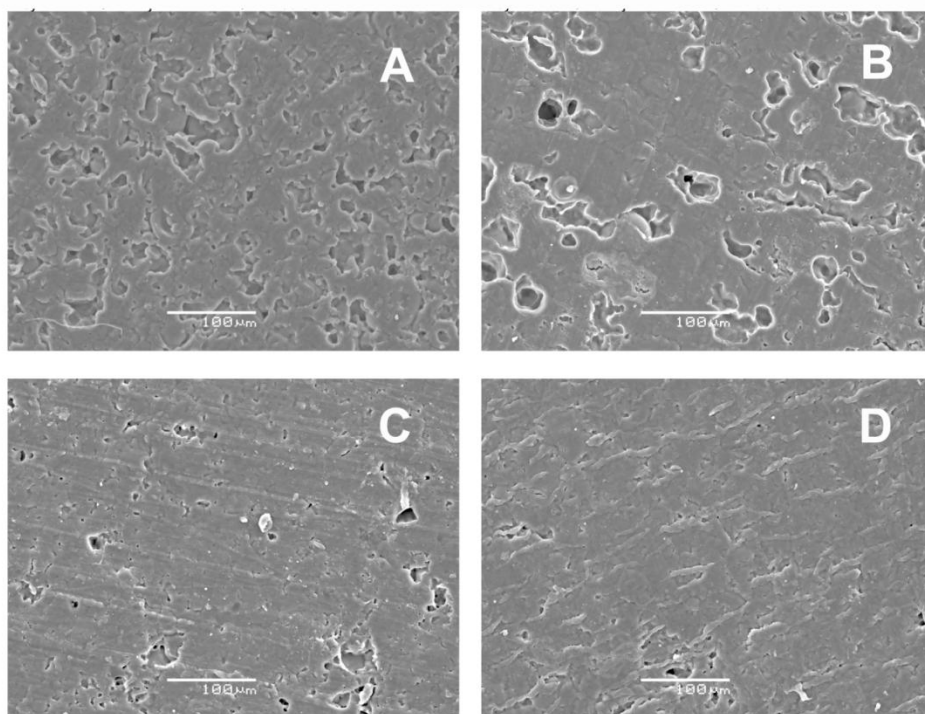


Figura 5.13. Fotografías SEM para los bioplásticos SPI/GL 50/50 procesados a diferentes condiciones seleccionadas (temperatura de inyección/ presión de inyección / temperatura de molde): 40/500/70; 40/500/90; 40/900/70; 120/500/70.

Parece que el papel de glicerina también es muy dependiente de la  $T_{\text{inyección}}$ . Así, la segregación de fases es más evidente a 40°C, donde la fase rica en glicerina se dispersa aleatoriamente como material de relleno en toda la matriz de proteína. Por el contrario, un mucho menor grado de segregación tiene lugar a 120°C, estando limitada en este caso a algunas regiones estrechas de tipo filamentoso. Como resultado, a

---

esta temperatura parece dominar el comportamiento de plastificante típico de la glicerina, al encontrarse distribuida dentro de la matriz proteica. Este comportamiento diferente es confirmado por las diferencias encontradas también entre las apariencias visuales de ambas muestras. A 40°C, las probetas muestran un color crema con un aspecto bastante opaco, que se va modificando del color crema a ámbar, adquiriendo una ligera transparencia, al utilizar 120°C como  $T_{\text{inyección}}$ . Esto es indicativo de un mayor carácter amorfo relacionado con una mejora de la eficiencia de la plastificación comentada.

Con respecto al efecto de  $P_{\text{inyección}}$ , la capacidad de absorción de agua muestra los valores máximos en muestras procesadas a 500 bar. Ésta es también la presión a la que la pérdida de material soluble se hace más alta. Puede notarse que un aumento en la presión desde 300 bar (ya sea a 500 o 900 bar) conduce a un aumento en la pérdida de material soluble, incluso superando el contenido de glicerina (aprox. 50%). En otras palabras, el aumento de la presión favorece la pérdida de algo de proteína junto con la glicerina, en particular el aumento de 300 a 500 bar. Como se mencionó en la sección 5.3.1, un aumento en la presión también implica un aumento en la densidad de la muestra. Como resultado de ambos efectos, la cantidad de proteína que queda después de la inmersión en agua durante 24 h se hace mínima para la muestra procesada a 500 bar. Por lo tanto, se puede suponer que se trata de la muestra que tiene la más alta fracción de huecos después de 24 h de inmersión, lo que explica su mayor capacidad de absorción de agua. La disminución en la capacidad de absorción de agua de 500 a 900 bar puede ser también considerada como una consecuencia de un mayor grado de empaquetamiento de la matriz proteica, lo que es consistente con el aumento en la elasticidad (tanto en  $E'$  como en el módulo de

Young) y con la evolución observada en las micrografías SEM, y en las imágenes de su apariencia física (figura 5.13.A y 5.13.C).

La temperatura del molde es la variable de proceso que ejerce el mayor efecto sobre la capacidad de absorción de agua, cuando se mantiene tanto la temperatura de la cámara de inyección como la presión de inyección constantes en los valores donde la capacidad de absorción de agua fue mayor (40 °C y 500 bar, respectivamente). Como puede observarse en la figura 5.14, un aumento notable en la capacidad de absorción de agua se obtiene por la disminución de  $T_{\text{molde}}$ . Esta evolución se ajusta a una relación lineal de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$W = a - b \cdot T_m \quad (1)$$

donde  $W$  es el porcentaje de absorción de agua y  $T_m$  es la temperatura del molde.

Un comportamiento cuantitativamente similar, aunque mostrando valores ligeramente inferiores, se han encontrado cuando se han utilizado valores superiores de  $T_{\text{inyección}}$  (80°C) tal y como se observan la siguiente tabla.

$T_{\text{inyección}} - T_{\text{molde}}$		<b>Capacidad absorción de agua (%)</b>
	80-70°C	620 ± 7
	80-80°C	523 ± 19
	80-100°C	428 ± 14
	80-120°C	243 ± 21
	80-140°C	218 ± 5

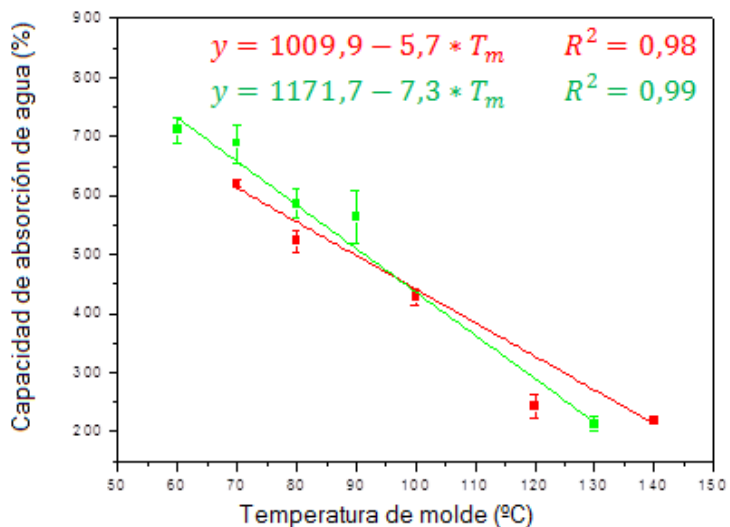


Figura 5.14. Regresión lineal de la capacidad de absorción de agua frente a la temperatura de molde para los bioplásticos de SPI/GL 50/50, en color verde temperaturas de molde 60, 70, 80, 90 y 130°C a 40°C de temperatura de inyección y 500bar de presión de inyección, y en color rojo temperaturas de molde 70, 80, 100, 120 y 140°C a 80°C de temperatura de inyección y 500bar de presión de inyección

Estos resultados sugieren que un aumento progresivo en la temperatura del molde promueve el entrecruzamiento de las cadenas proteicas, conduciendo a reforzamiento de la red proteica, lo que eventualmente podría resultar en una estructura muy compacta. Paetau *et ál.*<sup>32</sup>, informó un efecto similar para bioplásticos de proteína de soja/agua. Zárate *et ál.*<sup>23</sup> también observó una evolución parecida al estudiar el efecto de la temperatura del molde en bioplásticos de gluten. Sin embargo, en ambos casos la capacidad de absorción de agua obtenida era muy inferior a la encontrada en el presente estudio. En la tabla 5.6 también muestra cómo la pérdida de material soluble coincide con la cantidad

---

de glicerina conforme la temperatura del molde es más alta. Esto apoya la evolución mencionada antes sobre el entrecruzamiento de las proteínas favorecido por el aumento en la temperatura del molde, que incluso llega a impedir por completo la extracción de proteína a través de la inmersión de la probeta en agua. Estos resultados también resultan consistentes con el aumento de la elasticidad tanto por flexión como por tracción inducido por el aumento en la temperatura del molde.

De forma adicional, se ha estudiado cómo varía la capacidad de absorción de agua de una probeta de referencia ( $T_{\text{inyección}}: 40^{\circ}\text{C}$ ;  $P_{\text{inyección}}: 500 \text{ bar}$ ;  $T_{\text{molde}}: 70^{\circ}\text{C}$ ) inmersa en una disolución ácida (pH 3,5) y en una disolución básica (pH 10) durante 24 h. Para ello, se utilizaron disoluciones reguladoras de pH de ácido acético/acetato ( $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COO}^-$ ) y de etilamina ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{NH}_2/\text{CH}_3\text{CH}_2\text{NH}_3^+$ ), respectivamente. La probeta inmersa a pH 10 tiene una capacidad de absorción de agua igual a 842%. Esta capacidad de absorción se reduce en gran medida cuando la probeta es inmersa a un pH ácido (3,5), donde absorbe únicamente 196%. Anteriormente, se indicó que la probeta inmersa en agua destilada tenía una capacidad intermedia (688%), con lo que parece claro que un aumento de pH favorece el proceso de absorción de agua. Esto puede estar relacionado con el punto isoeléctrico (pI) de la proteína de soja. Tal y como se observa en la curva de solubilidad representada en la figura 5.15, dicho pI se encuentra en torno a 4,5, lo cual coincide con lo encontrado en bibliografía<sup>40</sup>.

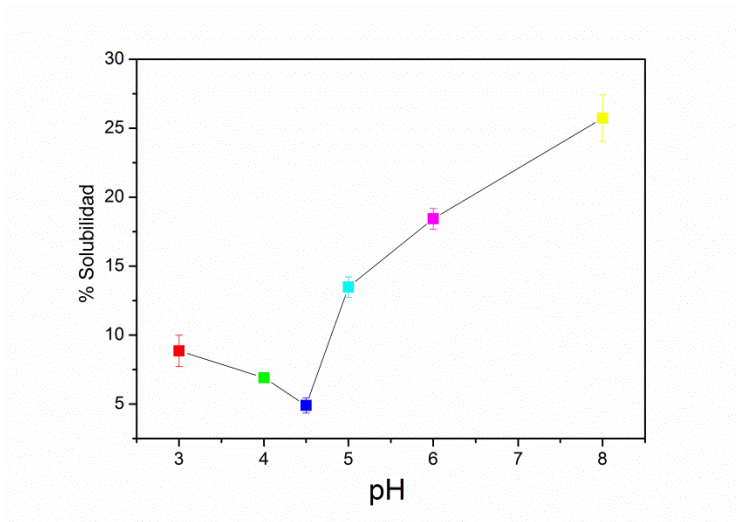


Figura 5.15. Curva de solubilidad del asilado proteico de soja a diferentes pH

Conforme aumenta el pH por encima del pI, la proteína tiene cada vez una mayor carga neta negativa. Por tanto, aminoácidos como el aspártico y glutámico, de pI 2,8 y 3,2, respectivamente<sup>41</sup>, que son asociados a la alta capacidad absorbente de la proteína de soja, tendrían una mayor tendencia a asociarse con el agua.

---

## 5.4. Conclusiones:

La ventana de condiciones de procesamiento disponible para mezclas SPI/GL 50/50 es bastante amplia, tal y como se puede deducir de la rampa de temperatura obtenida en los ensayos de flexión dinámica. Así, temperaturas tan bajas como 40 °C y tan altas como 130°C pudieron ser consideradas para la temperatura de la cámara de inyección y para la temperatura del molde, respectivamente.

Las propiedades de flexión de los bioplásticos de SPI/GL moldeados por inyección no son tan sensibles a los cambios en las condiciones de procesamiento estudiadas como las propiedades mecánicas obtenidas por tracción o la capacidad de absorción de agua. De esta forma, todos los bioplásticos con base de soja muestran un comportamiento termoplástico, con una transición vítrea alrededor de los 50-75°C que parece corresponder a dominios ricos en proteína.

Además, el procesamiento de bioplásticos a mayores temperaturas o presiones resulta en mayores valores para el módulo de Young, lo que se ha relacionado con un mayor grado de entrecruzamiento. El aumento de temperatura del molde de 60 a 130°C conduce también a una mayor extensibilidad en las muestras de bioplásticos cuando se someten a una carga de tracción uniaxial.

Todas las muestras de bioplástico muestran valores notablemente altos de capacidad de absorción de agua, que van desde 200% a 700%. Las bajas temperaturas de inyección (por ejemplo, 40°C), las presiones de inyección medias (por ejemplo, 500 bar) y las bajas temperaturas del molde (por ejemplo, 60°C) conducen generalmente a una capacidad de absorción de agua más alta, puesto que mayores valores de dichos

---

parámetros darían lugar a una estructura con alto grado de empaquetamiento.

Evidentemente, a partir de estos resultados parece que una estructuración más alta en el sistema no sólo favorece la elasticidad del material sino que también reduce considerablemente su capacidad de absorción de agua. Por lo tanto, para la búsqueda de un material con una capacidad de absorción de agua óptima, puede ser interesante utilizar condiciones de procesado más suaves, especialmente el moldeo a temperaturas inferiores a 90°C. En este sentido, se puede concluir que los bioplásticos basados en este aislado proteico de soja pueden ser considerados como materiales prometedores dentro de las aplicaciones absorbentes.



---

## 5.5. Referencias bibliográficas

1. Chen, P., Zhang, L. *Macromol Biosci*, (2005). Effects of Moisture on Glass Transition and Microstructure of Glycerol-Plasticized Soy Protein. *Macromolecular Bioscience*, 5, 237-245.
2. Brooks J.R, Morr, C.V, (1985). Current aspects of soy protein fractionation and nomenclature. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 62 (9) 1347-1354.
3. Zhang J., Mungara P., Jane J. (2001). Mechanical and thermal properties of extruded soy protein sheets. *Polymer* 42(6), 2569-2578
4. Reddy,M.M., Misra, M., Mohanty, A.K.. (2012). Optimization of tensile properties thermoplastic blends from soy and biodegradable polyesters: Taguchi design of experiments approach. *Journal of Materials Science* 47 (6), 2591-2599.
5. Garcia, M. C., Torre, M., Marina, M. L., Laborda, F. (1997). Characterization of soyabean and related products. *Critical reviews in food science and nutrition*. 37(4), 361-391.
6. Kumar R., Choudhary V., Mishra S., Varma I.K., Mattiason B. (2002). Adhesives and plastics based on soy protein products. *Industrial crops and products*. 16 (3), 155-172.
7. Pommet, M., redl, A., Morel, M.H., Guilbert, S., (2003). Study of wheat gluten plasticization with fatty acids. *Polymer* (44) 115-122.
8. Song F., Tang D., Wang X., Wang Y. (2011). Biodegradable Soy Protein Isolate-Based Materials: A Review *Biomacromolecules*, 12 (10), 3369–3380.
9. Irissin-Mangat, J., Gerard, R., Bernard, B., Gontard, N. (2001). New plasticizers for wheat gluten films. *European Polymer Journal*. 37(8), 1533-1541.
10. Matveev, Y., Guinberg, V., Tolstoguzov, V. (2000). The plasticizing effect of water on protein, polysacchandes and their mixtures,

---

Glassy state of biopolymers foods and seeds. *Food Hydrocolloid*, 14, 425-437.

11. Pouplin, M., Redl, A., Gontard, N. (1999). Glass transition of wheat gluten plasticized with water, glycerol or sorbitol. *Journal of agricultural and food chemistry*. 47(2), 538-543.
12. Lieberman, E.R., Gilbert, S. G. (1973). Gas Permeation of Collagen Films as Affected by Cross-Linkage, Moisture, and Plasticizer Content. *Journal of polymer science*. 41 (1), 33–43.
13. Guerrero, P., Retegi, A., Gabilondo, N., De la Caba, K. (2010). Mechanical and thermal properties of soy protein films processed by casting and compression. *Journal of Food Engineering*. 100(1), 145-151.
14. Félix, M., Martínez-Alfonso, J. E., Romero, A., Guerrero, A. (2014). Development of albumen/soy biobased plastic materials processed by injection molding. *Journal of Food Engineering*. 125, 7-16.
15. Adamy, M., Verbeek, C.J.R. (2013). Injection-Molding Performance and Mechanical Properties of Blood Meal-Based Thermoplastics. *Advances in Polymer Technology*. 32(3), 1-9.
16. Mo, X., Sun, X. S., Wang, Y. (1999). Effects of molding temperatures and pressure on properties of soy protein polymers. *Journal of Applied polymer Science*. 73(13), 2595-2602.
17. Huang, M.C., Tai, C.C. (2001). The effective factors in the warpage problem of an injection-molded part with a thin shell feature. *Journal of Materials Processing Technology*. 110 (1), 1–9.
18. Mohanty, A. K., Tummala, P., Liu, W., Misra, M., Mulukutla, P. V., Drzal L. T. (2005). Injection Molded Biocomposites from Soy Protein Based Bioplastic and Short Industrial Hemp Fiber. *Journal of Polymer Environment*. 13 (3), 279-285.

- 
19. Tummala, P., Liu, W., Drzal, L.T., Mohanty, A.K., Misra, M. (2006). Influence of plasticisers on thermal and mechanical properties and morphology of soybased bioplastics. *Industrial and Engineering Chemistry Research*. 45(22), 7491– 7496.
  20. Liu, W., Misra, M., Askeland, P., Drzal, L.T., Mohanty, A.K. (2005). ‘Green’ composites from soy based plastic and pineapple leaf fiber: fabrication and properties evaluation. *Polymer*. 46, 2710–2721.
  21. Van Wazer, J. R., Lyons, J. W., Kim, K. Y. & Colwell, R. E. (1963). Interscience Publishers, New York. Capillary viscotneters. In: *Viscosity and Flow Measure ments: A Laboratory Handbook of Rheology.*, 187-262.
  22. Dealy, J.M. Van Nostrand Reynhold Co., (1982). New York, USA *Rheometers for Molten Plastics: A Practical Guide to Testing and Property Measurement*. 255
  23. Zarate-Ramírez, L.S., Martínez, I., Romero, A., Partal, P., Guerrero, A. (2011). Wheat gluten-based materials plasticised with glicerol and water by thermoplastic mixing and thermomoulding. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 91(4), 625–633.
  24. Fernández-Espada, L., Bengoechea, C., Cordobés, F., Guerrero, A. (2013). Linear Viscoelasticity Characterisation of Egg Albumen/Glycerol Blends With Applications in Material Moulding Processes. *Food and Bioproducts Processing*. 91. 319-326.
  25. Orawan, J., Soottawat, B. & Wonnup, V. *Food Hydrocolloid*. (2006). Effect of phosphate compounds on gel-forming ability of surimi from bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). 20(8), 1153-1163.

- 
26. Jerez, A., Partal, P., Martinez, I., Gallegos, C., Guerrero, A. (2007). Protein-based bioplastics: effect of thermo-mechanical processing. *Rheologica Acta* 46 (5), 711-720
  27. Ogale, A.A., Cunningham, P., Dawson, P.L., Acton, J.C. (2000). Viscoelastic, thermal, and Microstructural Characterization of Soy Protein Isolate Films. *Journal of Food Science*. 65 (4) 672-679.
  28. Chen, P., Zhang, L., Cao, F. (2005). Effects of Moisture on Glass Transitions and Microstructures of Glycerol-Plasticized Soy Protein. *Macromolecular Bioscience*. 5(9), 872-880.
  29. Tian, H., Wu, W., Guo, G., Gaolun, B., Jia, Q., Xiang, A. (2012). Microstructure and properties of glycerol plasticized soy protein plastics containing castor oil. *Journal of Food Engineering*. 109(3), 496–500.
  30. Kalichevsky, M. T., Jaroszkiwicz, E. M., and Blanshard, J. M. V. (1992). Glass transition of gluten. 1: Gluten and gluten-sugar mixtures. *International Journal of Biological Macromolecules*. 14(5), 257-266.
  31. Pateau, I., Chen, C.Z., Jane, J. (1994). Biodegradable plastic made from soybean products. 1. Effect of preparation and processing on mechanical properties and water absorption. *Industrial and Engineering Chemistry research*. 33 (7), 1821– 1827.
  32. McCrum, NG., Buckley, CP., Bucknell, CB. (1997). *Principles of Polymer Engineering*, 2nd ed. New York: Oxford University Press, 7. ISBN: 0198565267.
  33. Cunningham, P., Ogale, A. A., Dawson, P. L., Acton, J. C. (2000). Tensile Properties of Soy Protein Isolate Films Produced by a Thermal Compaction Technique. *Journal of Food Science*. 65(4) 668-671.

- 
34. Buchholz, F. L., Graham, A. T. (1998). *Modern Superabsorbent Polymer Technology*, Edited by, Wiley-VCH, New York. ISBN: 978-0471194118.
  35. Castro, G.R., Panilaitis, B., Kaplan, D.L. (2008). Technol. Emulsan, a tailorable biopolymer for controlled release. *Bioresource*. 99 (11), 4566–4571.
  36. Gómez-Martínez, D., Partal, P., Martínez, I., Gallegos, C. (2013). Gluten-based bioplastics with modified controlled-release and hydrophilic properties. *Industrial Crops and Products*. 43 (1), 704–710.
  37. Yang, L., Yang, Y., Chen, Z., Guo C., Li, S. (2014). Influence of super absorbent polymer on soil water retention, seed germination and plant survivals for rocky slopes eco-engineering. *Ecological Engineering* , 62, 27–32.
  38. Li, X., He, J., Hughes, J., Liu, Y., Zheng, Y. (2014). Effects of super-absorbent polymers on a soil–wheat (*Triticum aestivum* L.) system in the field. *Applied Soil Ecology*. 73, 58-63.
  39. Tömösközi, S., Lásztity, R., Haraszi, R., Baticz, O. (2001). Isolation and study of the functional properties of pea proteins. *Nahrung Food* 45(6), 399-401.
  40. Malhotra, A., Coupland, J. N. (2004). The effect of surfactants on the solubility, zeta potential, and viscosity of soy protein isolates. *Food Hydrocolloids*. 18 (1), 101-108.
  41. Verbeek C.J.R., Van den Berg, L. E. (2009). Recent Developments in Thermo-Mechanical Processing of Proteinous Bioplastics. *Recent Patents on Materials Science*. 2, 171-189.



---

**INFLUENCIA DE LA ADICIÓN DE BICARBONATO  
SÓDICO EN BIOPLÁSTICOS DE PROTEÍNA DE SOJA  
PROCESADOS MEDIANTE MOLDEO POR INYECCIÓN**

¡Error! Marcador no definido.





---

## RESUMEN

En el presente capítulo se ha estudiado el efecto que produce la adición de un agente químico como el bicarbonato sódico en las propiedades termomecánicas, de tracción y capacidad de absorción de agua de materiales bioplásticos de proteína de soja y glicerina, en proporción 1:1. La efervescencia producida durante la descomposición del bicarbonato puede originar un entramado de poros en la matriz proteica durante el procesado que podría mejorar la capacidad absorbente de una matriz hidrofílica de proteína de soja. Así pues, los resultados del presente estudio muestran cómo la presencia de bicarbonato sódico en la formulación produce materiales con mayor extensibilidad, esto es, mayor deformación a la fractura, y al mismo tiempo, con menores valores para el módulo de Young. El valor del máximo de esfuerzo en ensayos de tracción no parece verse muy afectado por la presencia del agente efervescente. Por otra parte, cuando se estudia el efecto sobre la capacidad de absorción de agua, se obtiene un máximo valor (946%) para una concentración de bicarbonato sódico igual a 2,5% (p/p). Este valor cercano al 1000% convierte a estos materiales en punto de partida para el desarrollo de materiales superabsorbentes.

El objetivo de este capítulo ha sido evaluar el efecto de un agente efervescente como el bicarbonato sódico en las propiedades termomecánicas, de tracción y capacidad de absorción de agua de materiales bioplásticos de proteína de soja.

---

## 6.1. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1.1. Materiales

Materias primas		Proveedor
Proteína	Soja (SPI)	Proanda, S.L.
Plastificante	Glicerina (GL)	Panreac Química, S.A.
Agente efervescente	Bicarbonato Sódico	Panreac Química, S.A.
	Carbonato Sódico	Panreac Química, S.A.

Tabla 6.1. Diferentes materias primas utilizadas

### 6.1.2. Preparación de muestras

Mezclador	Velocidad	Tiempo	Condiciones	Sistemas (p/p)
Mezclador Thermo Haake	50 r.p.m.	10 min	Adiabáticas	SPI/GL 50/50

Tabla 6.2. Condiciones de mezclado de los sistemas en el mezclador Thermo Haake.

En este estudio se ha seleccionado el aislado de proteína de soja con glicerina como plastificante en proporción 50/50 en peso, con diferentes

concentraciones en peso de los agentes efervescentes. En la tabla 6.3. puede observarse los diferentes sistemas estudiados.

<b>Sistemas</b>	<b>Agente efervescente</b>	<b>% en peso</b>
SPI/GL 50/50	Sin agente	0
	Bicarbonato Sódico	1
		2,5
		5
		7,5
		10
	Carbonato Sódico	1
		5
		10

Tabla 6.3. Cuadro resumen del sistema a las diferentes concentraciones de agente efervescente.

### 6.1.3. Tipos de ensayos

Equipo	Sensor	Sistema
Q5000, TA Instruments	Platino	Masas y Bioplásticos
RSA3, TA instruments,	Placa-placa 8mm	Masas
RSA3, TA instruments,	Dual Cantilever	Bioplásticos rectangular
Electromechanical -10 kN Standar		Bioplásticos tipo mancuernas
		Bioplástico circular
microscopio electrónico XL-30 de barrido Philips		Bioplástico
Pore Master, Quantachrome Instruments		Bioplástico

---

<b>Ensayos</b>
Análisis termogravimétrico (TGA)
Análisis termogravimétrico por compresión
Análisis termogravimétrico por flexión
Propiedades de tracción
Capacidad de absorción de agua
Microscopía electrónica de barrido (SEM)
Porosimetría por inyección de mercurio

## **6.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **6.2.1. Caracterización de mezclas SPI/GL/Bicarbonato**

#### **6.2.1.1. Evolución del par de torsión**

La figura 6.1. muestra la evolución del par de torsión en función del tiempo para diferentes mezclas SPI/GL a las que se le ha adicionado diferentes cantidades de un agente efervescente, el bicarbonato sódico (1, 5, 10% (p/p)).

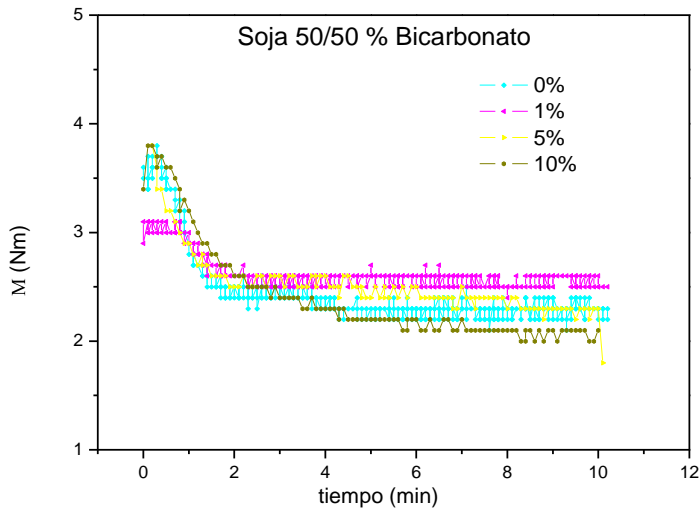


Figura 6.1. Par de torsión de la mezcladora frente al tiempo de mezclado para diferentes concentraciones de bicarbonato.

Estos resultados muestran como en ningún caso la presencia del bicarbonato induce ningún cambio apreciable en el perfil del par torsión, evolucionando rápidamente hacia un valor de par torsión constante, en cualquier caso de valores relativamente bajos (2-3 N·m). Este comportamiento de carácter fluido es típico de mezclas moderadamente viscosas. Otros autores han obtenido una evolución similar utilizando una composición proteína-plastificante idéntica a la del presente estudio<sup>1</sup>.

Además, es posible estimar la energía mecánica específica (EMS) empleada durante el mezclado, tal y como la definen Redl, Morel et al.<sup>2</sup>:

$$EMS = \frac{\omega}{m} \int_0^{t_{mix}} M t dt \quad \text{ec.6.1}$$

---

donde  $\omega$  (en rad/s) es la velocidad de mezclado,  $m$  (en g) es la masa de la muestra,  $M(t)$  (en Nm) es el par de torsión o torque, y  $t_{\text{mix}}$  (en s) es el tiempo de mezclado. Como cabe esperar, no existen diferencias importantes entre los diferentes valores obtenidos para las diferentes mezclas, presentando todas ellas un valor de EMS alrededor de  $133 \pm 10$  kJ/kg.

El bicarbonato sódico, por tanto, no parece afectar directamente al proceso de mezclado de la mezcla proteína-plastificante como hacen otros aditivos (L-cisteína, aldehídos,...)<sup>3</sup>.

### **6.2.1.2. Análisis Termogravimétrico (TGA)**

En las figuras 6.2. y 6.3. aparecen los resultados del TGA para los ingredientes utilizados en la formulación de los materiales bioplásticos estudiados en este capítulo de la Tesis: aislado proteico de soja (SPI), glicerina (GL); y bicarbonato sódico,  $\text{NaHCO}_3$ . El bicarbonato sódico se ha introducido puesto que su descomposición mediante una reacción de efervescencia lo convierte en una especie formadora de poros. De hecho, en diversos trabajos se ha relacionado su presencia con la formación de un entramado poroso en diversos materiales<sup>4,5</sup>.

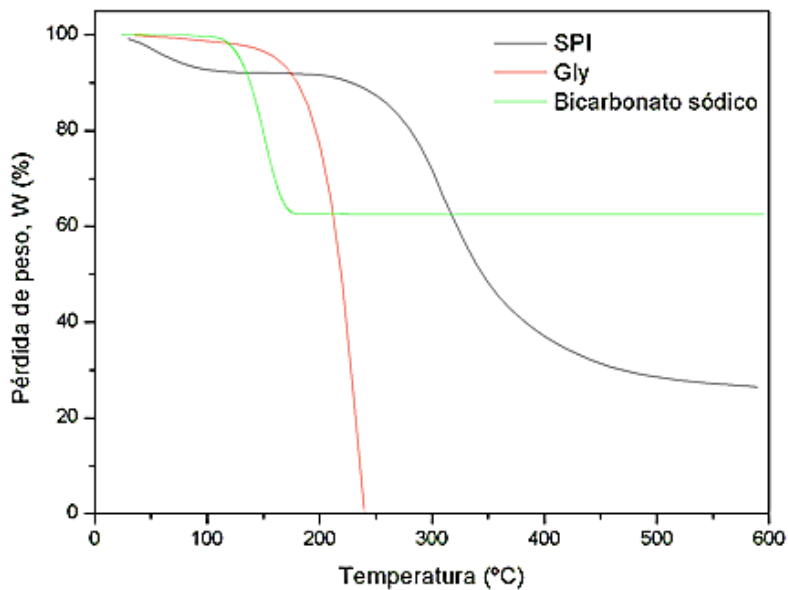


Figura 6.2. Evolución de la pérdida de peso con la temperatura (10°C/min) para el aislado proteico de soja (SPI), la glicerina (GL) y el bicarbonato sódico.

Se puede observar cómo aunque la glicerina comienza a sufrir una pérdida de peso alrededor de 120°C, asociada a una pequeña cantidad de agua presente, es a temperaturas superiores cuando ocurre un descenso de peso más pronunciado. Como consecuencia de esa pérdida importante de peso, relacionada directamente con la evaporación del glicerina, es posible observar un pico en la figura 6.3. a una temperatura de 234°C. Otros autores ya obtuvieron un perfil similar de TGA para la glicerina<sup>6, 7</sup>, existiendo una alta dependencia de la temperatura a la que aparece este pico y el contenido en agua de la glicerina.

El aislado proteico de soja muestra un primer pico a temperaturas menores de 100°C (alrededor de 48,5°C) debido a pérdida de humedad. La degradación proteica comienza a unos 220°C, observándose un doble pico, asociado



---

previamente con las dos subunidades de la proteína: uno, a 308°C (correspondiente a la 7S); y otro, a 325°C (relacionado con la 11S)<sup>8,9</sup>.

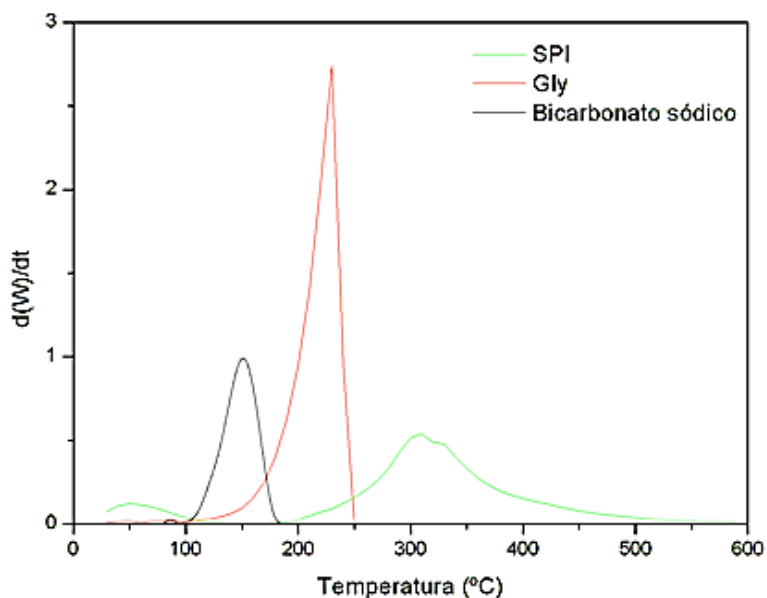


Figura 6.3. Derivada respecto al tiempo de la evolución de la pérdida de peso con la temperatura (10°C/min) para el aislado proteico de soja (SPI), la glicerina (GL) y el bicarbonato sódico.

Por último, se observa cómo el peso del bicarbonato sódico se mantiene constante hasta una temperatura de unos 75°C, cuando empieza a descender de forma abrupta hasta los 180°C, temperatura en torno a la cual el peso el bicarbonato sódico comienza a mantenerse constante (62,6% del peso inicial). En la derivada de la curva con respecto al tiempo se observa un máximo a 150°C, temperatura de descomposición del bicarbonato. En cualquier caso, no hay que olvidar la dependencia de la temperatura de descomposición del bicarbonato con la composición de la atmósfera que lo rodea, concretamente las presiones parciales de dióxido de carbono y agua<sup>10</sup>, lo cual resulta evidente

---

cuando se considera la reacción química a través de la cual ocurre la descomposición. De cualquier forma, otros autores<sup>11-13</sup> han obtenido temperaturas de descomposición para el bicarbonato sódico similares a la del presente estudio, también en atmósfera de nitrógeno.

Otro factor a tener en cuenta es la cinética de descomposición del bicarbonato sódico, puesto que el grado de descomposición en las condiciones de procesado repercutirá directamente en su poder para formar poros en la matriz bioplástica. En este sentido, cabe indicar que varios autores han encontrado una cinética de primer orden con una energía de activación en torno a 20-25 kcal/mol, indicando que la misma es independiente de la velocidad de calentamiento<sup>13, 14</sup>. No obstante, y en el marco específico en el que se engloba el presente estudio, son muchos los factores que condicionan la descomposición del bicarbonato ya no cuando se encuentra de forma aislada, sino en las condiciones de interés, esto es, distribuido homogéneamente en una matriz bioplástica de proteína y plastificante, para ser sometido posteriormente a distintas condiciones de procesado por moldeo por inyección, que incluyen altas presiones (e.g. 500 bar) y temperaturas de moderadas (e.g. 70°C) a altas (e.g. 130°C).

En las figuras 6.4. y 6.5. se representan los resultados de TGA de masas proteína/plastificante en relación 1:1 que contienen diferentes concentraciones de bicarbonato sódico: 1, 5 y 10% (p/p) junto con el de la mezcla sin adición de bicarbonato.

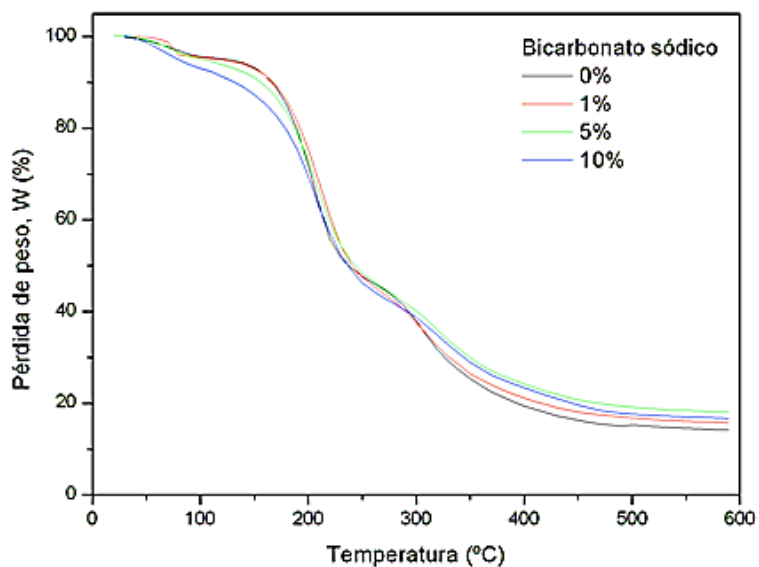


Figura 6.4. Evolución de la pérdida de peso con la temperatura (10°C/min) para mezclas SPI/GL (1:1) con diferentes contenidos en bicarbonato sódico: 0, 1, 5, 10% (p/p)

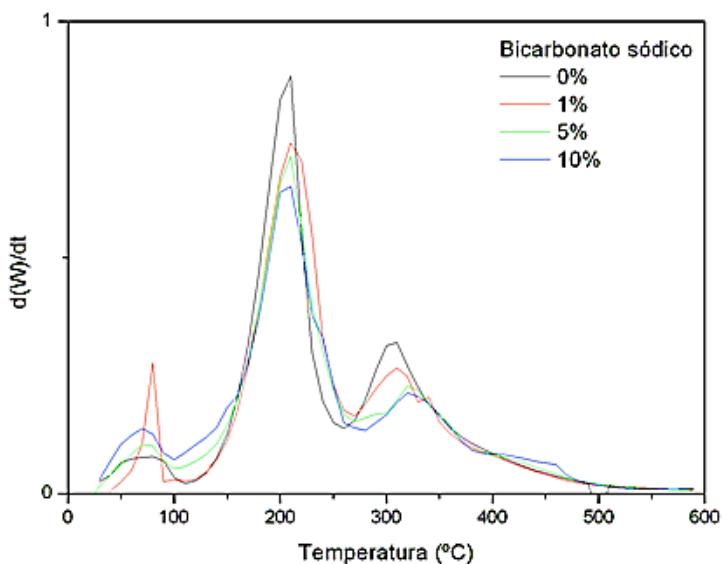


Figura 6.5. Derivada respecto al tiempo de la evolución de la pérdida de peso con la temperatura (10°C/min) para mezclas SPI/GL (1:1) con diferentes contenidos en bicarbonato sódico: 0, 1, 5, 10% (p/p).

---

Cuando se observa el sistema que sólo contiene el aislado proteico de soja y la glicerina, claramente se distingue la presencia de tres picos en la derivada de la pérdida de peso con la temperatura (Figura 6.5.): el primero de ellos, a baja temperatura, con un máximo entorno a 75°C, parece estar relacionado con la presencia de humedad en la mezcla. Originalmente, SPI tiene un contenido en humedad alrededor del 6%, mientras que la glicerina, de acuerdo al punto de ebullición encontrado, contiene un 2% de agua. Ese contenido en agua global en torno al 8%, sería el responsable de la presencia del primer pico, que ya se observaba en la figura 6.3. para el SPI; a continuación, un pico con un claro máximo a los 210°C se correspondería con la presencia de glicerina en la mezcla; por último, la degradación de la proteína de soja ocurre a temperaturas superiores, con un pico alrededor de los 305°C. Otros autores previamente han asociado una pérdida de peso entre 150 y 335°C con la degradación de la glicerina, y una segunda pérdida de peso en el intervalo de temperaturas 335-500°C con la degradación de la proteína de soja<sup>15</sup>. Además, cabe decir que la muestra de SPI/GL tiene una mayor pérdida de peso que la muestra de SPI, lo cual se ha asociado previamente a la alta presión de vapor de la glicerina<sup>16</sup>.

La presencia de bicarbonato sódico en la mezcla no altera de forma significativa la posición de estos tres picos, que siguen apareciendo en un intervalo de temperaturas similar para las diferentes composiciones, pero sí se manifiesta en la intensidad de los mismos. Así, a mayor contenido de bicarbonato sódico, menores son las intensidades de los picos correspondientes a la GL o al SPI, debido a la menor concentración total en estos componentes. También es posible observar cómo una mayor presencia de bicarbonato produce una mayor separación entre esos dos picos, lo cual podría ser indicativo de una ligera segregación favorecida por la presencia de bicarbonato sódico. En cualquier caso, cabría esperar que la presencia de bicarbonato sódico se reflejara entorno a 150°C, temperatura de

---

descomposición del mismo. Efectivamente, en la figura 6.5., se observa la presencia de un hombro en el pico correspondiente al plastificante, cuya intensidad se hace mayor cuanto mayor es la concentración de bicarbonato sódico.

Debe indicarse que los resultados obtenidos por la técnica de TGA no pueden ser utilizados como valores absolutos en el procesado a altas presiones, puesto que las condiciones en el procesado de materiales bioplásticos a alta presión pueden ser bastante diferentes<sup>16</sup>. Sin embargo, el análisis termogravimétrico indica que las mezclas de SPI/GL exhiben una degradación térmica sustancial a temperaturas superiores a 150°C aproximadamente, por lo que sería recomendable que la temperatura de procesado elegida fuera inferior.

### **6.2.1.3. Análisis termomecánico (DMTA) por compresión**

Para evaluar el comportamiento termomecánico de las mezclas SPI/GL con diferentes concentraciones de bicarbonato sódico (0, 1, 5, 10% (p/p)) se ha realizado un ensayo de compresión con oscilación dinámica de 1 Hz desde 20°C hasta 130°C. La evolución de los módulos de flexión elástico y viscoso,  $E'$  y  $E''$  respectivamente, así como de la tangente de pérdidas,  $\tan\delta$ , con la temperatura aparecen en las figuras 6.6. y 6.7. respectivamente.

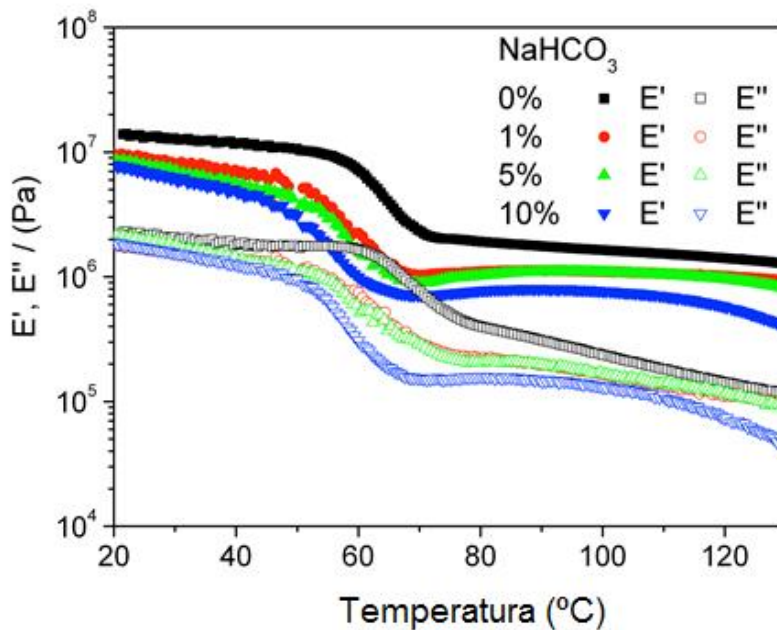


Figura 6.6. Evolución de los módulos elástico y viscoso,  $E'$  y  $E''$ , respectivamente, con la temperatura para mezclas SPI/GL (1:1) con diferentes contenidos en bicarbonato sódico: 0, 1, 5, 10% (p/p)

Cualitativamente, se observa la misma evolución de los parámetros viscoelásticos con la temperatura independientemente de la concentración de bicarbonato: la mezcla SPI/GL pasa de un estado vítreo a un estado gomoso caracterizado por el descenso tanto de  $E'$  como de  $E''$  desde un *plateau* a otro y por un máximo en  $\tan\delta$ .

Cuantitativamente, es conveniente indicar cómo un mayor contenido en bicarbonato sódico produce un descenso en los valores de  $E'$  y  $E''$ . No sólo eso, sino que una mayor presencia de bicarbonato sódico en la formulación de partida produce un desplazamiento en la temperatura a la que se produce la transición vítreo hacia menores valores. Así pues, el máximo de  $\tan\delta$  pasa de localizarse entorno a los  $68^{\circ}\text{C}$  para la muestra sin bicarbonato a situarse alrededor de  $57^{\circ}\text{C}$  para la muestra con un 10% (p/p) de bicarbonato. Estos

---

resultados podrían hacer pensar que la presencia de bicarbonato sódico tiene cierto poder plastificante, bien porque su descomposición conlleve la aparición de moléculas de agua dispersas en la mezcla, o bien porque el entramado de poros que forma en el seno de la mezcla SPI/GL facilita la acción plastificante de la glicerina.

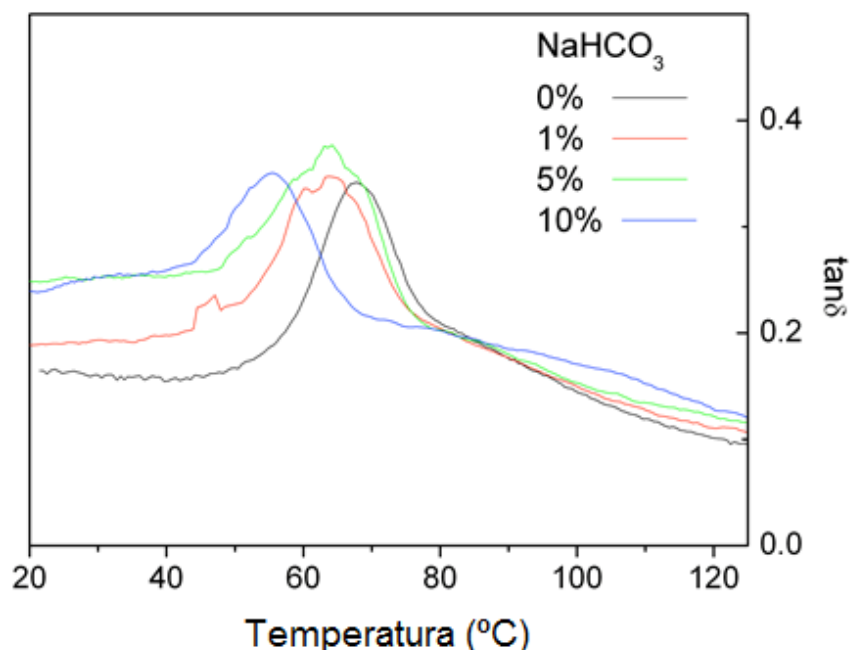


Figura 6.7. Evolución de la tangente de pérdidas para mezclas SPI/GL (1:1) con diferentes contenidos en bicarbonato sódico: 0, 1, 5, 10% (p/p)

De cara a la definición de las variables de procesado por moldeo por inyección de las mezclas, parece que sería conveniente que éstas se encontraran en estado gomoso, puesto que así se facilitaría el flujo desde la cámara de inyección hasta el correspondiente molde. En base a estos resultados podría seleccionarse una temperatura de inyección igual a la temperatura de transición vítrea o superior. No obstante, también interesa minimizar la descomposición térmica previa del bicarbonato sódico a su paso

---

al molde, que es donde deberían formarse los poros. Es por esto, y considerando, además, la mayor importancia que tiene la temperatura de molde sobre las propiedades del material resultante con respecto a las otras dos variables de procesado, tal y como se vio en el capítulo anterior, que se ha seleccionado una temperatura de cilindro moderada, igual a 40°C.

## **6.2.2. Caracterización de bioplásticos SPI/GL/Bicarbonato obtenidos por moldeo por inyección**

### **6.2.2.1. Efecto de las condiciones de procesado: Temperatura de molde**

En este apartado, antes de evaluar la influencia de la adición de diferentes cantidades de bicarbonato sódico sobre las propiedades de los materiales bioplásticos resultantes, se va a estudiar la influencia de la temperatura de molde sobre las propiedades mecánicas y de absorción de agua de las mismas. Se determinó anteriormente que la temperatura de moldeo por inyección era la variable de procesado con mayor influencia sobre las características finales del material obtenido. Para determinar el valor óptimo de la misma con la finalidad de obtener materiales con alta capacidad de absorción de agua, se han procesado mezclas SPI/GL (1:1) con 1% (p/p) de bicarbonato sódico en su formulación procesados a diferentes temperaturas de molde: 60, 70, 80, 90 y 130°C. Dichos parámetros se comparan con los obtenidos para las muestras que no contienen bicarbonato sódico en su composición. En todos los casos se



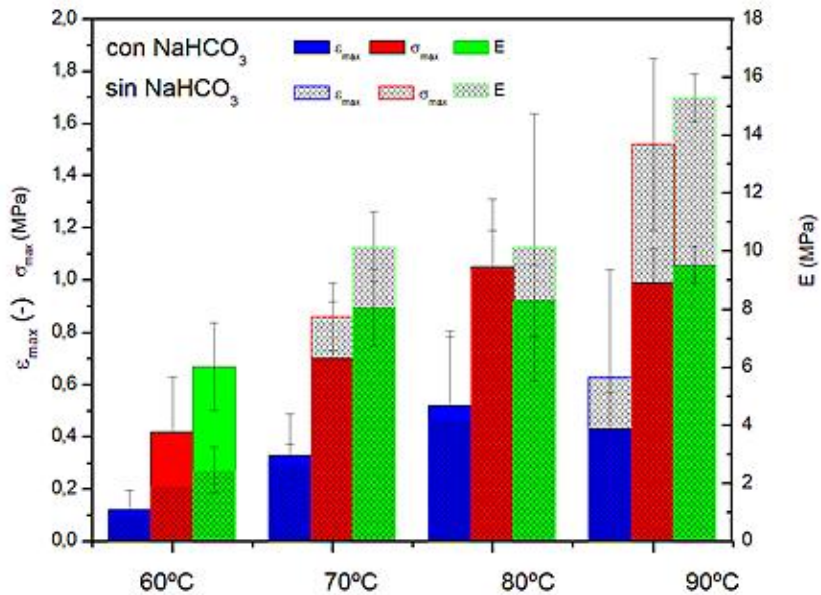
---

ha utilizado una temperatura de cilindro de 40°C, una presión de inyección de 500 bar durante 20 segundos y una presión post-inyección de 200 bar durante 300 segundos.

### 6.2.2.1.1. Propiedades de tracción

Anteriormente, se observó cómo una mayor temperatura de procesamiento resultaba en una disminución de la capacidad de absorción de agua del material bioplástico. En la figura 6.8. aparecen representados los principales parámetros obtenidos a partir del ensayo de tracción ( $E$ ,  $\sigma_{\max}$ ,  $\epsilon_f$ ) para los materiales bioplásticos. Se observa cómo un aumento de temperatura de molde produce similares cambios en los parámetros de tracción en presencia o en ausencia de bicarbonato. En general, un aumento de temperatura de molde produce materiales bioplásticos SPI/GL con mayor extensibilidad, módulo de Young y esfuerzo máximo. No obstante, cuando el bicarbonato está presente, la evolución es mucho más suave, no siendo en algunos casos significativas las diferencias. En este sentido, las muestras procesadas a una temperatura de molde de 80 o 90°C muestran un comportamiento similar.

Si se comparan las muestras que contienen 1% de bicarbonato con aquellas que sólo contienen proteína de soja y glicerina, se observa cómo generalmente hay una disminución de  $E$  y  $\sigma_{\max}$  cuando el bicarbonato está presente. La disminución de estas propiedades mecánicas estaría asociada a la presencia de mayor cantidad de poros creados por la descomposición del bicarbonato sódico durante el procesamiento.



Figuras 6.8. Parámetros de tracción de bioplásticos SPI/GL (1:1) procesados a diferentes temperaturas de molde, con (1% p/p) y sin bicarbonato sódico.

### 6.2.2.1.2. Capacidad de absorción de agua

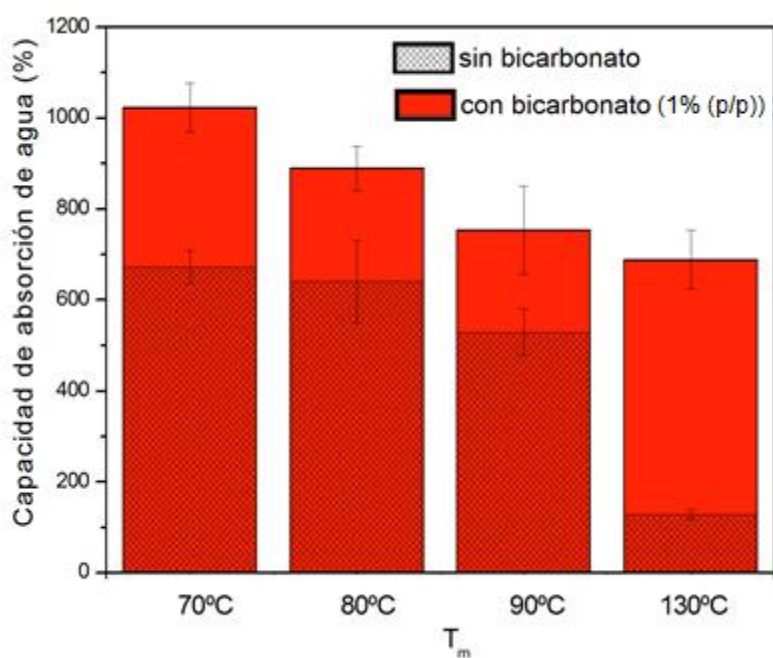
En la figura 6.9. aparecen los valores de capacidad de absorción de agua para las diferentes temperaturas de molde (60, 70, 80, 90 y 130°C) con (1%) y sin bicarbonato sódico. Se observa cómo un aumento de temperatura de molde en moldeado por inyección desde los 70°C a los 130°C produce una disminución en la capacidad de absorción de agua tanto en presencia de bicarbonato como en ausencia de éste. Como se comentó anteriormente, un aumento en la temperatura de molde favorece un entrecruzamiento de la proteína de forma progresiva, que conduce a una estructura con alto grado de empaquetamiento, que parece inhibir la capacidad de absorción de agua.

Además, se aprecia cómo en todos los casos y para la concentración de bicarbonato tomada como referencia (1%) la capacidad de absorción de agua aumenta con la presencia de bicarbonato. El bicarbonato sódico es un agente químico utilizado habitualmente como agente espumante en la producción de materiales espumosos, al favorecer la creación de un entramado de poros interconectados. La presencia de esos poros parece favorecer, en vista de los resultados obtenidos, la absorción de agua. Esto queda patente cuando se observan los valores para el índice de hinchamiento de las probetas. A partir de las medidas de los volúmenes iniciales y finales de las probetas antes y después del periodo de inmersión en agua,  $V_0$  y  $V_{final}$  respectivamente, es posible estimar dicho índice para el material bioplástico como la relación entre ambos valores  $V_{final}/V_0$ . La tendencia seguida por este parámetro coincide con la comentada anteriormente para la capacidad de absorción de agua, como cabría esperar. Un aumento de temperatura de molde durante el moldeo por inyección favorece el entrecruzamiento en la matriz proteica, reduciéndose el grado de hinchamiento de la probeta causado por la absorción de agua. Además, para todas las temperaturas de moldeo la presencia de bicarbonato sódico produce un mayor grado de hinchamiento.

Sistema	Índice de hinchamiento	
	0% Bicarbonato	1% Bicarbonato
40/70	6,9 ± 0,50	9,4 ± 0,35
40/80	6,5 ± 0,02	8,2 ± 1,71
40/90	6,9 ± 0,51	8,1 ± 1,20
40/130	3,5 ± 0,12	5,9 ± 0,05

Tabla 6.5. Índice de hinchamiento de los bioplásticos con T<sup>a</sup> cilindro a 40°C, sin y con 1% (p/p) de Bicarbonato sódico.

Cuando se observan los datos de pérdida de material soluble y se compara con los obtenidos en ausencia de bicarbonato, se observa que permanece prácticamente constante para las diferentes temperaturas de molde, correspondiéndose con la cantidad de glicerina de la formulación (<50%). En ausencia de bicarbonato, en el capítulo anterior se observó cómo la pérdida de material soluble iba aumentando con la temperatura de molde. El aumento de superficie específica debido a la formación de poros por el bicarbonato podría ser el factor que favoreciera la pérdida de material soluble al introducir la muestra en agua.



Figuras 6.9. Capacidad de absorción de agua de bioplásticos SPI/GL (1:1) procesados a diferentes temperaturas de molde, sin y con bicarbonato sódico (1% p/p).

## 6.2.2.2. Efecto de la concentración de bicarbonato sódico

### 6.2.2.2.1. Análisis termomecánico (DMTA) por flexión

En la figura 6.10. aparece la evolución de  $E'$ ,  $E''$  y  $\tan\delta$  con la temperatura para materiales bioplásticos procesados por moldeo por inyección a una temperatura de cilindro de  $40^{\circ}\text{C}$ , una presión de inyección de 500 bar durante 20 segundos, una presión de post-inyección de 200 bar durante 300 segundos y un temperatura de molde de  $70^{\circ}\text{C}$ . En todos los casos se mantuvo la proporción 1:1 para la mezcla SPI/GL, adicionando diferentes cantidades de bicarbonato sódico.

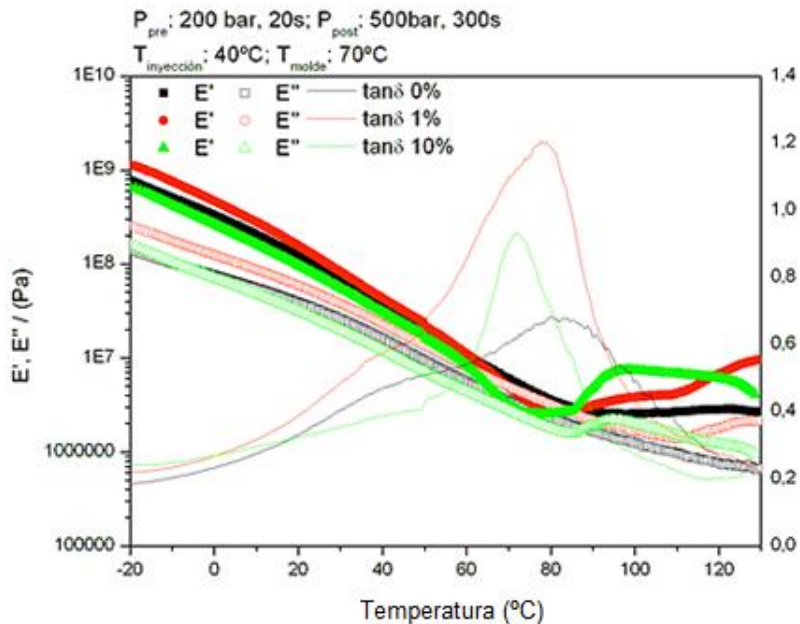


Figura 6.10. Evolución de los módulos elástico y viscoso,  $E'$  y  $E''$ , respectivamente, con la temperatura para bioplásticos SPI/GL (1:1) con diferentes contenidos en bicarbonato sódico: 0, 1, 10 (p/p).

---

La descomposición térmica del bicarbonato sódico, con la emisión de dióxido de carbono, dificulta la obtención de datos apropiados con la realización de ensayos que impliquen altas temperaturas en el analizador termomecánico (DMTA), puesto que la sensibilidad del equipo hace que los resultados obtenidos a partir cierta temperatura no sean fiables. De este modo, se observa en la figura cómo a partir de 60-70°C, las muestras que contienen bicarbonato presentan una evolución difícil de explicar, con valores de  $E'$  cercanos a  $E''$ , llegando en algún caso a alcanzar  $E'$  valores inferiores a  $E''$  (datos no mostrados), lo cual carecería de sentido físico con el tipo de materiales con el que se trabaja.

Con el objeto de corroborar que la caída en los valores de  $E'$  se asocia a la descomposición del bicarbonato sódico, se mantuvo una muestra de bioplástico con un 10% de bicarbonato sódico en una atmósfera saturada de agua, con una humedad relativa del 100%. La presencia de agua favorece la descomposición de bicarbonato sódico en dióxido de carbono y agua, con lo cual ya no existiría ese obstáculo para una medición correcta de una rampa de temperatura por flexión. Así, tal y como se observa en la figura 6.11., la muestra que se ha sometido a una atmósfera de humedad relativa 100%, no presenta el comportamiento anómalo observado anteriormente. Esto apoya la suposición de que los errores en las rampas de temperatura de las muestras bioplásticas están asociados a la descomposición del bicarbonato durante la medida. De hecho, un mayor contenido en bicarbonato hace que esa caída en los valores del módulo elástico tenga lugar a temperaturas más bajas.

No obstante, se aprecia cómo a temperaturas relativamente bajas, en las que no hay grandes riesgos de descomposición del bicarbonato, no hay grandes diferencias entre las muestras consideradas. Aún así, si consideramos la evolución con la concentración de bicarbonato de los valores de los parámetros viscoelásticos  $E'$  y  $E''$  a 1 Hz a una temperatura de 25°C (figura

6.12.), se observa primero un aumento en  $E'$  y  $E''$  cuando hay 1% de bicarbonato, seguido de un descenso progresivo en las mismas propiedades conforme el bicarbonato sódico va aumentando hasta el 10%. La tangente de pérdidas por el contrario va aumentando conforme aumenta la presencia de bicarbonato sódico. Estos resultados hay que interpretarlos con cierta precaución debido a las dificultades encontradas con este tipo de ensayo.

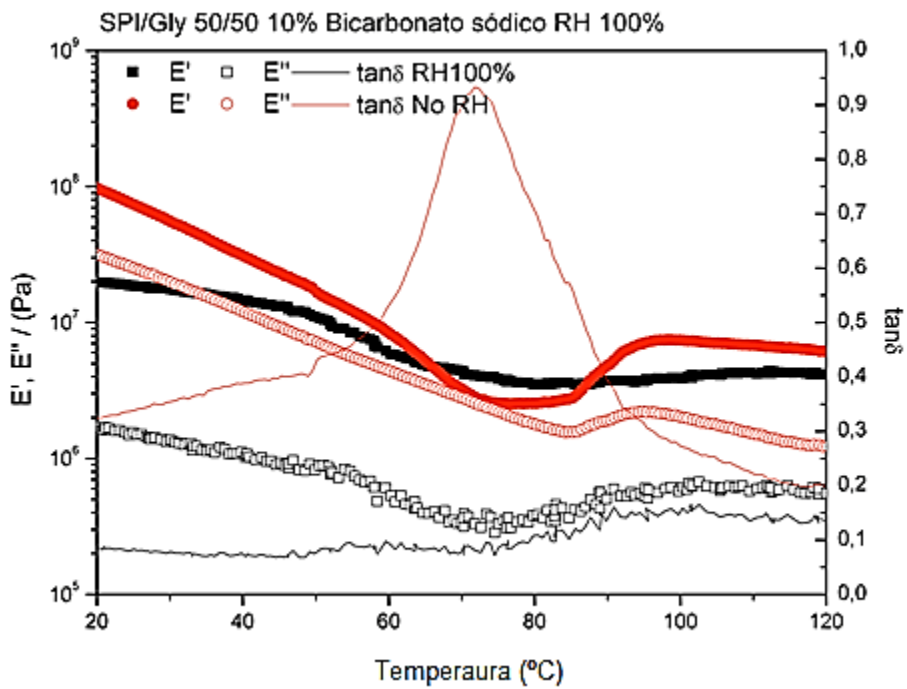


Figura 6.11. Evolución de los módulos elástico y viscoso,  $E'$  y  $E''$ , respectivamente, con la temperatura para bioplásticos SPI/GL (1:1) con un 10% (p/p) bicarbonato sódico antes y después de someterlo a una atmósfera saturada con agua (Humedad relativa 100%).

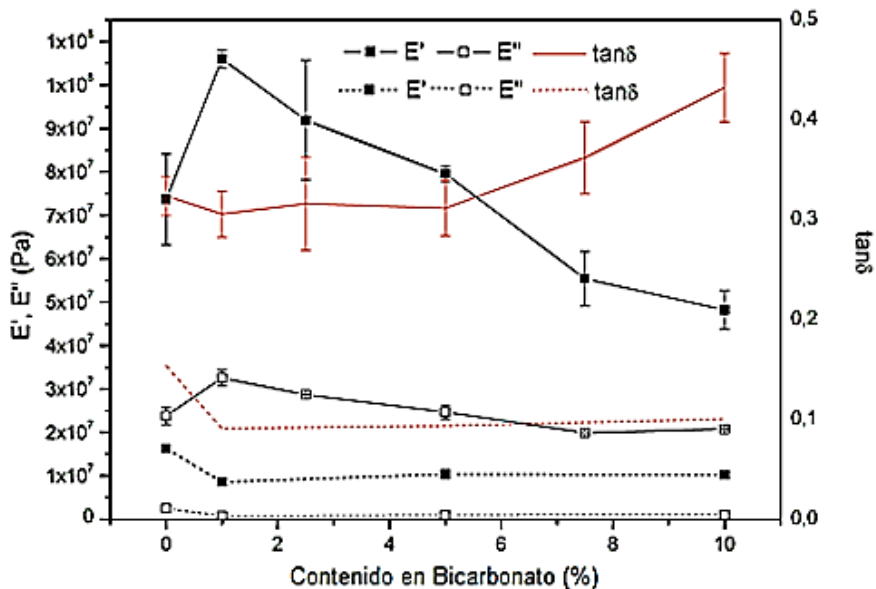


Figura 6.12. Evolución de los módulos elástico y viscoso,  $E'$  y  $E''$ , respectivamente, con el contenido en bicarbonato sódico para bioplásticos SPI/GL (1:1) antes (línea continua) y después (línea discontinua) de someterlo a una atmósfera saturada con agua (Humedad relativa 100%)

### 6.2.2.2.2. Propiedades de tracción

En la figura 6.13. se observan los resultados de los ensayos de tracción realizados sobre probetas de bioplásticos de soja y glicerina con diferentes concentraciones de bicarbonato sódico. En todos los casos se observa la misma evolución: un comportamiento elástico inicial con una pendiente esfuerzo-deformación constante que permite la obtención del módulo de Young. Este comportamiento lineal va seguido de una etapa de deformación plástica con un descenso continuo en la pendiente esfuerzo-deformación después del límite elástico. Finalmente, todas las curvas alcanzan un máximo



a un valor de esfuerzo  $\sigma_{\max}$ , inmediatamente seguido de un abrupto descenso, que se corresponde con la fractura de la muestra a una deformación  $\epsilon_f$ .

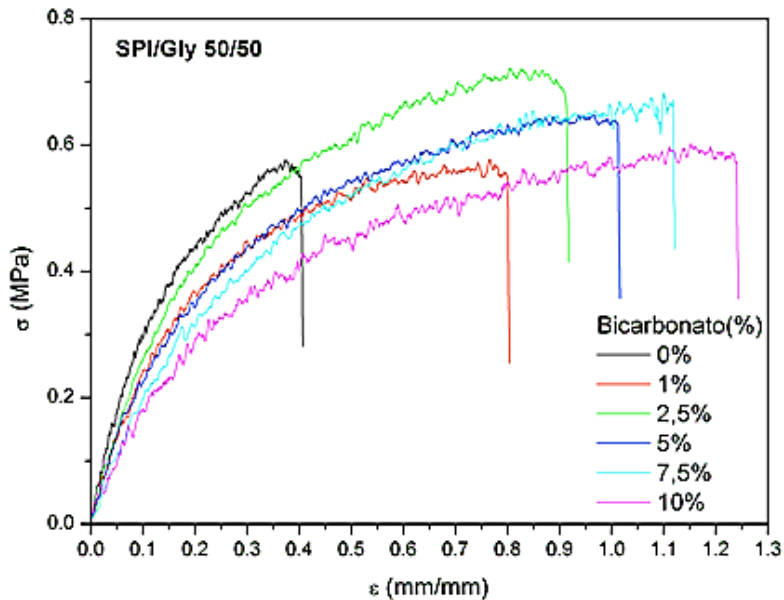


Figura 6.13. Esfuerzo frente a deformación para bioplásticos SPI/GL (1:1) con diferentes contenidos en bicarbonato sódico: 0; 1; 2,5; 5; 7,5; 10% (p/p).

En la figura 6.14. se recogen los diferentes propiedades mecánicas que se ha comentado que se pueden obtener a partir del ensayo de tracción. A partir de estos resultados es claro que una mayor presencia de bicarbonato sódico en la formulación del bioplástico permite la obtención de materiales más deformables y menos rígidos. Así, y a pesar de la alta dispersión obtenida en los resultados con este tipo de ensayos, un progresivo aumento de bicarbonato sódico desde 1% a 10% (p/p) hace que aumente progresivamente la deformación a la fractura de la muestra desde  $0,4 \pm 0,1$  para la muestra sin bicarbonato hasta  $1,2 \pm 0,2$  para la muestra con 10% de bicarbonato sódico. Por el contrario, el módulo de Young disminuye de forma significativa

cuando el bicarbonato sódico está presente en el sistema, aunque de forma general no parece haber diferencias para las diferentes concentraciones de bicarbonato, estando todas entorno a un valor medio de 2,5 MPa, frente al valor de 5 obtenido en ausencia de bicarbonato sódico.

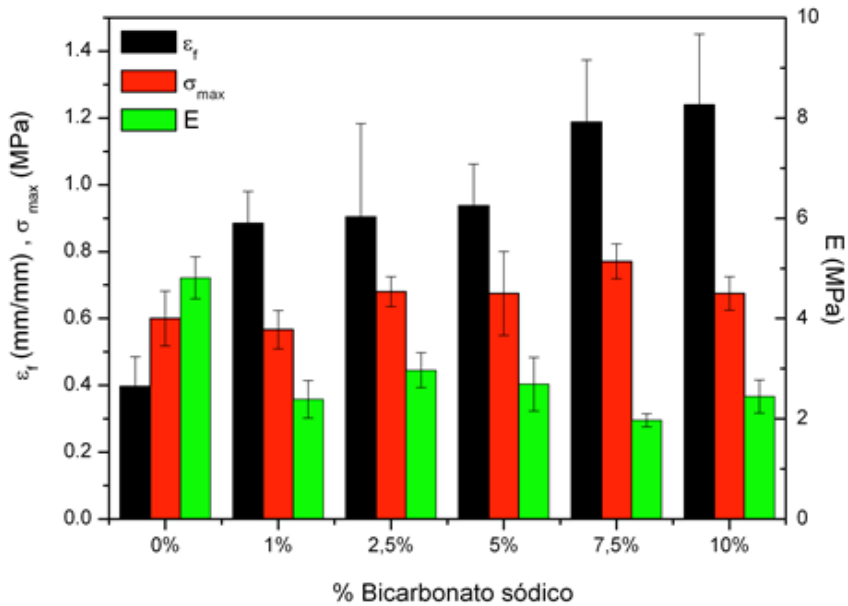


Figura 6.14. Parámetros de tracción para bioplásticos SPI/GL (1:1) con diferentes contenidos en bicarbonato sódico: 0; 1; 2,5; 5; 7,5; 10% (p/p): esfuerzo máximo ( $\sigma_{max}$ ), deformación en la fractura ( $\epsilon_f$ ) y módulo de Young (E).

### 6.2.2.2.3. Capacidad de absorción de agua

En la figura 6.15. se observan la evolución de la capacidad de absorción de agua con la concentración de bicarbonato sódico. En primer lugar, se observa

---

que el material bioplástico sin bicarbonato ya presenta una elevada capacidad de absorción de agua, cercana al 700%, justificado en base a el alto grado de hidrofília que tiene el aislado proteico de soja. La elevada afinidad de la proteína de soja por el agua se ha vinculado a la presencia de aminoácidos polares en su estructura, como el ácido aspártico o el ácido glutámico<sup>17</sup>.

La adición de bicarbonato a una concentración comprendida entre 1 y 5% (p/p) produce un aumento significativo en su capacidad de absorción de agua. Para un contenido de bicarbonato del 7,5% (p/p) no se consigue prácticamente ninguna mejora en la absorción de agua del material bioplástico, llegando incluso a valores menores cuando se aumenta la concentración de bicarbonato sódico al 10% (p/p).

La justificación de esta evolución no es fácil, aunque podría estar relacionada con la porosidad creada por la descomposición del bicarbonato sódico. En la Tabla 2 se muestran los diferentes índices de hinchamiento para las distintas concentraciones de bicarbonato, observándose que las muestras con mayor capacidad de absorción muestran un índice de hinchamiento bastante superior. Así, la muestra con 2,5% de bicarbonato obtienen un valor igual a  $9,9 \pm 0,4$ , bastante superior al obtenido con la muestra sin bicarbonato ( $6,9 \pm 0,05$ ). Los diferentes valores de este índice aparecen recogidos en la tabla 2, observándose una tendencia similar a la recogida en la Figura 6.15. para la capacidad de absorción de agua.

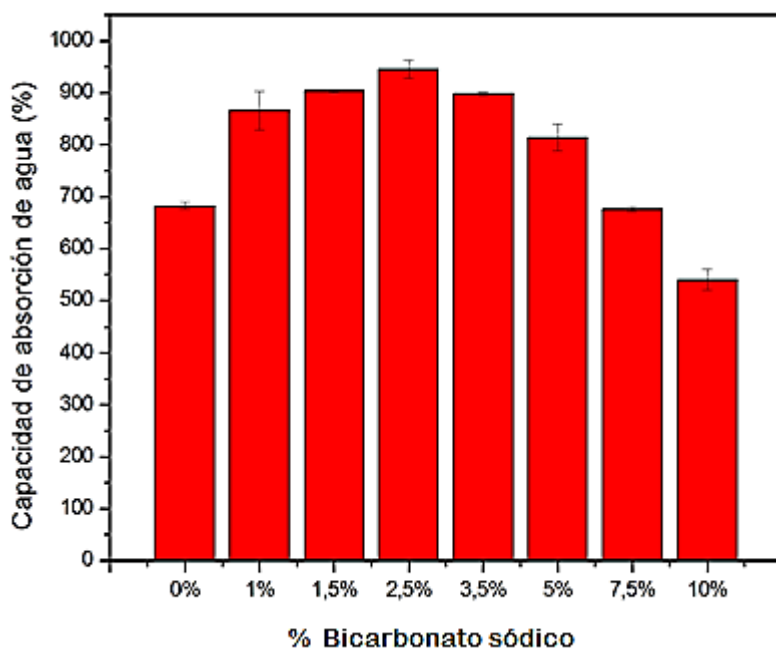


Figura 6.15. Capacidad de absorción de agua para bioplásticos SPI/GL (1:1) con diferentes contenidos en bicarbonato sódico: 0; 1; 1,5; 2,5; 3,5; 5; 7,5; 10% (p/p)

% (p/p) de Bicarbonato	Índice de hinchamiento
0	6,9 ± 0,50
1	9,4 ± 0,35
2,5	9,9 ± 0,37
5	9,5 ± 0,69
7,5	8,5 ± 0,72
10	7,3 ± 0,21

Tabla 6.6. Índice de hinchamiento de los bioplásticos con T<sup>a</sup> cilindro a 40°C y T<sup>a</sup> de moldeo a 70°C con diferentes contenidos en bicarbonato sódico: 0; 1; 2,5; 5; 7,5; 10% (p/p).

---

En cuanto a la pérdida de material soluble, todas presentan valores algo superiores al 50%, con lo que cabe suponer que algo de proteína se solubiliza también, lo cual no es raro teniendo en cuenta lo moderado de las condiciones de procesado seleccionadas. Es de resaltar cómo la muestra con un 10% de bicarbonato sódico llega a alcanzar un valor de pérdida de material soluble del 63%, siendo además esta muestra la de menor capacidad de absorción de agua.

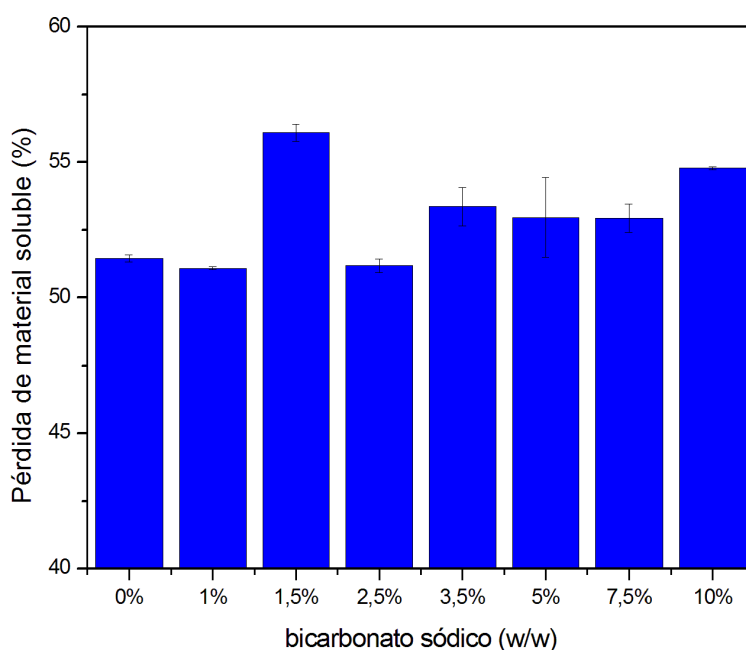


Figura 6.16. Pérdida de material soluble para bioplásticos SPI/GL (1:1) con diferentes contenidos en bicarbonato sódico: 0; 1; 1,5; 2,5; 3,5; 5; 7,5; 10% (p/p).

---

#### 6.2.2.2.4. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

En la figura 6.17. se observa cómo el bicarbonato sódico continua presente en el material después del procesado en el sistema con un 5%, con una forma tubular en algún caso más importante, y en forma de pequeños puntos dispersos por la matriz. Asimismo, es posible observar una mayor cantidad de poros en el sistema con bicarbonato, debido a su poder efervescente.

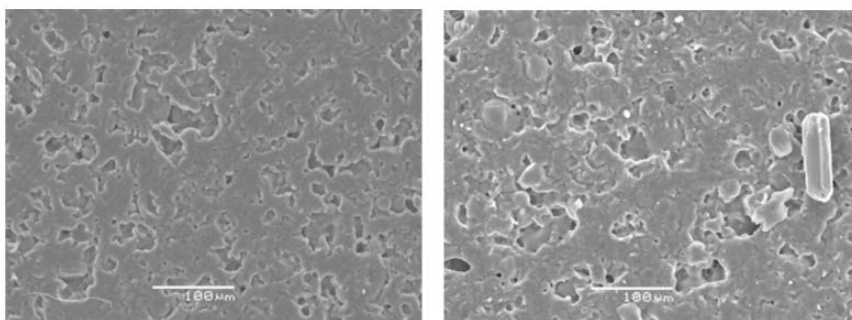


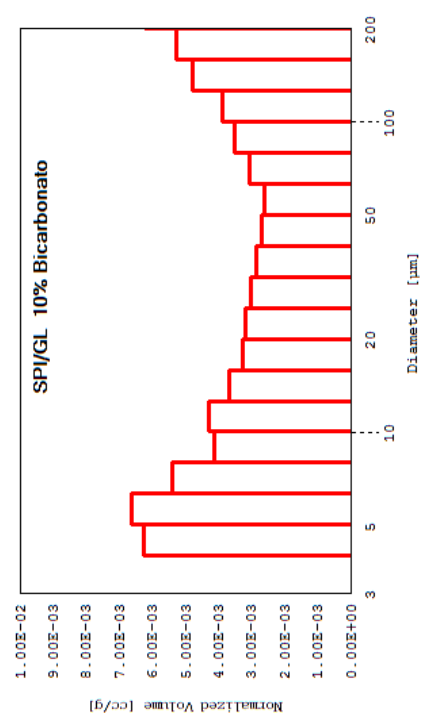
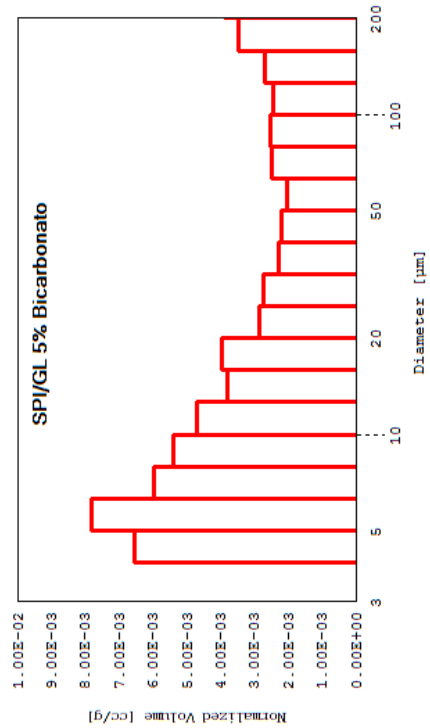
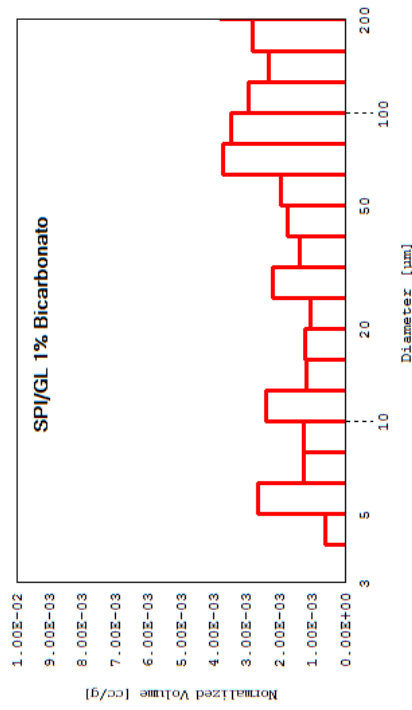
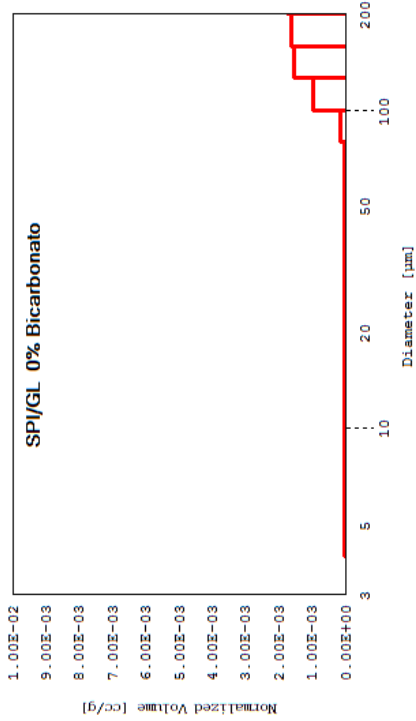
Figura 6.17. Micrografías obtenidas por microscopía de barrido electrónico (SEM) para bioplásticos SPI/GL (1:1) con diferentes contenidos en bicarbonato sódico: 0 (izquierda); 5 % (derecha) (p/p).

#### 6.2.2.2.5. Porosimetría por inyección de mercurio

Se han seleccionado una serie de probetas de bioplástico SPI/GL con diferente contenido en bicarbonato (0, 1, 5, 10%) para su estudio por porosimetría por inyección de mercurio. Esta técnica permite la detección de poros entre 500 y  $3,5 \mu\text{m}^{18}$ , pudiéndose obtener distribuciones de tamaños de los mismos.

---

En la figura 6.18 aparecen representadas la distribución de tamaños de poros en forma de histograma para las muestras seleccionadas. A partir de estos resultados, resulta claro cómo la presencia de bicarbonato produce en el material bioplástico la formación de un entramado de poros de menor tamaño, debido al carácter efervescente del bicarbonato dentro de la matriz proteica. Cuando no hay bicarbonato, la presencia de poros es bastante reducida, quedando limitada a pocos poros con tamaño superior a 100  $\mu\text{m}$ . En cambio cuando el bicarbonato está presente en la matriz polimérica, aparecen poros de mucho menor tamaño (desde  $\sim 4 \mu$ ). El número de poros se hace mayor conforme aumenta la cantidad de bicarbonato sódico, especialmente cuando se pasa de 1% a 5%, no encontrándose grandes diferencias entre 5 y 10%. En base a la evolución observada en la capacidad de absorción de agua, parece ser que un mayor número de poros no garantiza una mayor absorción de agua, puesto que la salida de ésta también podría verse favorecida.





---

### 6.2.2.3. Influencia de la adición de carbonato sódico

#### 6.2.2.3.1. Propiedades dinámicas

En la figura 6.18. se representan los barridos de frecuencia a 25°C dentro del IVL, para bioplásticos SPI/GL (1:1) que contienen 1% de, bien carbonato sódico, bien bicarbonato sódico. Ambos sistemas se comparan con el sistema sin agente espumante.

A pesar de las limitaciones que se han comentado previamente sobre la técnica del análisis termomecánico debido a la baja sensibilidad cuando ocurre la descomposición del bicarbonato, es posible realizar una comparación entre los dos sistemas con diferente agente espumante a una temperatura lo suficientemente baja como para prevenir dicha descomposición durante el ensayo. De esa forma, se han realizado barridos de frecuencia en modo de flexión dentro del intervalo viscoelástico lineal a 20°C (Figura 6.18.). Como se observa, no hay diferencias apreciables entre los dos sistemas, mostrando un orden de valores tanto de  $E'$  como de  $E''$  similar.

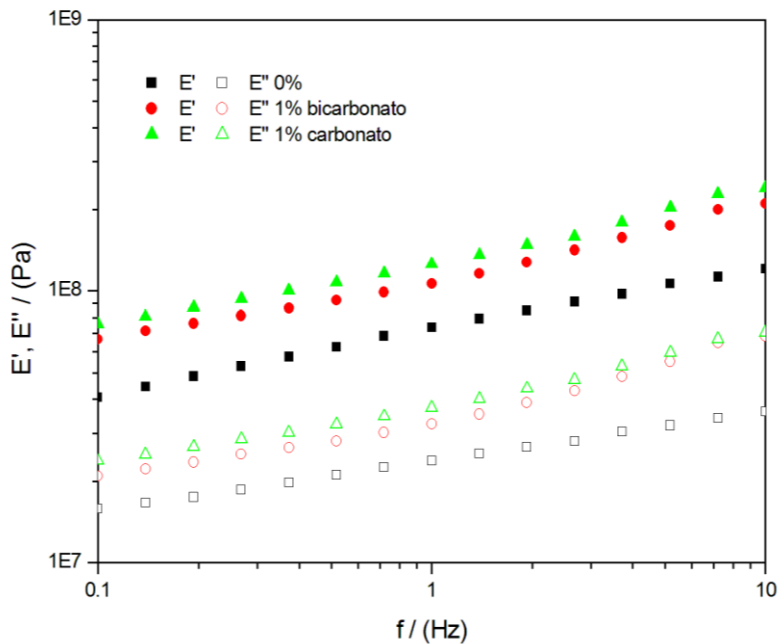


Figura 6.18. Espectro mecánico para bioplásticos SPI/GL (1:1) con 1% en bicarbonato sódico o carbonato sódico. El sistema sin agente espumante se incluye como referencia.

### 6.2.2.3.2. Capacidad de absorción de agua

Por último, se ha contemplado la posibilidad de sustituir el bicarbonato sódico por carbonato sódico para producir un aumento de la capacidad de absorción de agua. Para ello, a una mezcla SPI/GL (1:1) se le ha añadido carbonato sódico a diferentes concentraciones: 1, 5 y 10% (p/p), y se han procesado por moldeo por inyección en condiciones idénticas a las muestras de bicarbonato: una temperatura de cilindro de 40°C, una presión de inyección de 500 bar durante 20 segundos, una presión de post-inyección de 200 bar durante 300 segundos y un temperatura de molde de 70°C.

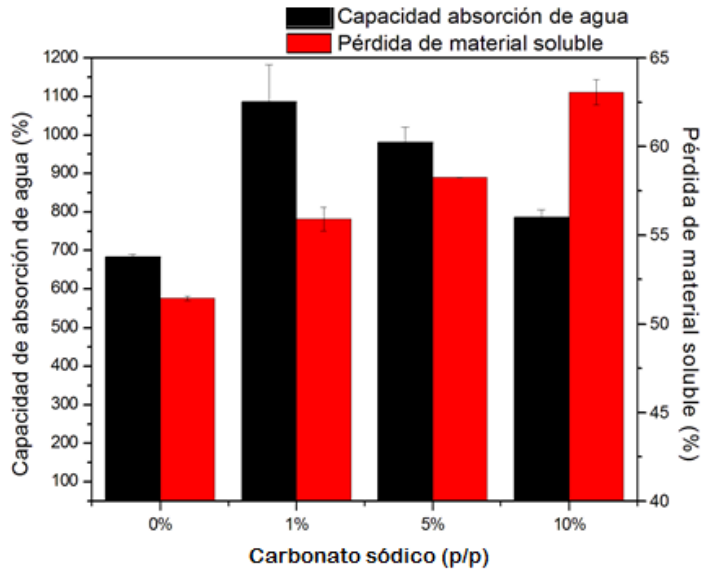


Figura 6.19. Capacidad de absorción de agua y pérdida de material soluble para bioplásticos SPI/GL (1:1) con diferentes contenidos en carbonato sódico: 0; 1; 5; 10% (p/p).

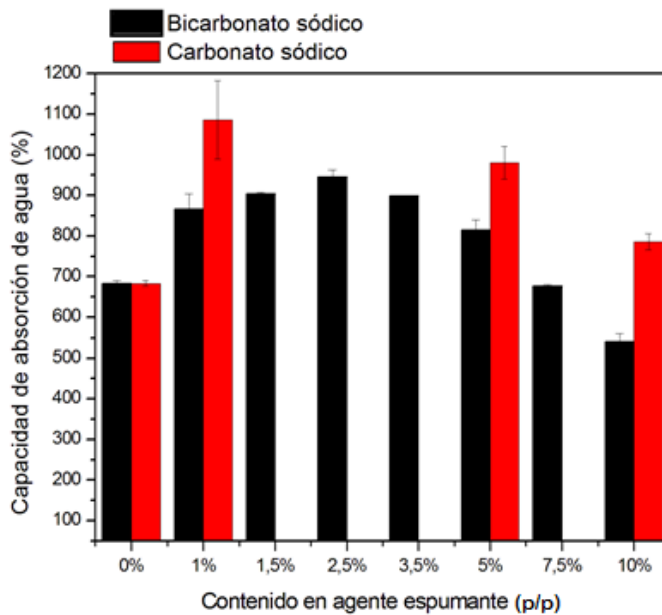


Figura 6.20. Capacidad de absorción de agua para bioplásticos SPI/GL (1:1) con diferentes contenidos en bicarbonato sódico o carbonato sódico.

---

Se observa cómo al igual que ocurría con el bicarbonato sódico, se obtiene un máximo en la capacidad de absorción de agua para composiciones intermedias de carbonato sódico (Figura 6.19.). Más aún, si se comparan los resultados con los obtenidos con bicarbonato sódico, tal y como aparece en la figura 6.20., la presencia de carbonato sódico produce materiales bioplásticos con una mayor capacidad de absorción de agua en todos los casos. El carbonato sódico es un compuesto químico con una mayor estabilidad que el bicarbonato de sodio, habiéndose indicado que no sufre descomposición térmica significativa por debajo de  $800^{\circ}\text{C}$ <sup>19</sup>. Por tanto, en el caso del carbonato, la descomposición no ocurriría durante el procesado por moldeo por inyección, sino que predominantemente tendría lugar durante el ensayo de capacidad de absorción de agua.

Cuando se observa la evolución de la pérdida de material soluble, en el caso de las muestras con carbonato sódico una mayor cantidad de carbonato conlleva una mayor pérdida de material soluble. Esto de nuevo, aunque con una tendencia más clara, parece indicar que o bien la proteína se solubiliza en mayor medida cuanto más cantidad de carbonato sódico se encuentre presente, o bien que el carbonato sódico se ha solubilizado durante el periodo de inmersión en agua de 24 horas. En cualquier caso, observando el sistema con un 10% de carbonato sódico, se observa que el contenido de glicerol y carbonato representaría el 55%. Al tener este sistema una pérdida de material soluble de  $63 \pm 0,7$ , es evidente que algo de proteína (~8%) se ha debido de solubilizar.

---

### 6.3. CONCLUSIONES

Análisis termogravimétricos tanto de los ingredientes como de las mezclas de aislado proteico de soja, glicerina y bicarbonato sódico revelan la necesidad de temperaturas relativamente suaves durante el procesado si se quiere evitar la descomposición de los ingredientes durante el mismo. El bicarbonato sódico es el ingrediente que se descompone más fácilmente, aunque cierta descomposición del mismo es deseable para favorecer la formación de poros en la matriz.

La presencia de bicarbonato sódico en sistemas basados en aislado proteico de soja y glicerina permite la obtención de materiales bioplásticos a través de moldeo por inyección con una mayor capacidad de absorción de agua que en ausencia del mismo, cuando se procesan a una temperatura de cilindro, temperatura de molde y presión de inyección de 40°C, 70°C y 500 bar, respectivamente.

---

## 6.4. REFERENCIAS

1. Felix M, Lucio-Villegas A, Romero A., Guerrero A. (2016) Development of rice protein bio-based plastic materials processed by injection molding. *Industrial Crops and Products*. 79:152-159.
2. Redl A, Morel MH, Bonicel J, Guilbert S., Vergnes B, (1999) Rheological properties of gluten plasticized with glycerol: dependence on temperature, glycerol content and mixing conditions. *Rheologica Acta* 38:311-320.
3. Sun S, Song Y and Zheng Q, Morphologies and properties of thermo-molded biodegradable plastics based on glycerol-plasticized wheat gluten. *Food Hydrocolloids* 21:1005-1013 (2007).
4. Bedel NS, Tezcan M, Ceylan O, Gurdag G and Cicek H, Effects of pore morphology and size on antimicrobial activity of chitosan/poly(ethylene glycol) diacrylate macromer semi-IPN hydrogels. *Journal of Applied Polymer Science*:n/a-n/a (2015).
5. Fauzi MS, Lan DNU, Osman H and Ghani SA, Effect of sodium bicarbonate as blowing agent on production of epoxy shape memory foam using aqueous processing method. *Sains Malaysiana* 44:869-874 (2015).
6. Yunos MZB and Rahman WAWA, Effect of glycerol on performance rice straw/starch based polymer. *Journal of Applied Sciences* 11:2456-2459 (2011).
7. Jones A, Zeller MA and Sharma S, Thermal, mechanical, and moisture absorption properties of egg white protein bioplastics with natural rubber and glycerol. *Progress in Biomaterials* 2:13 (2013).

- 
8. Güettler BE, Soy–Polypropylene Biocomposites for Automotive Applications, Ed. University of Waterloo, Waterloo, Ontario, Canada, p 140 (2009).
  9. Routray M, Rout SN, Mohanty GC and Nayak PL, Preparation and characterization of soy protein isolate films processed by compression and casting. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 5:752-761 (2013).
  10. Keener TC, Frazier GC and Davis WT, THERMAL-DECOMPOSITION OF SODIUM-BICARBONATE. *Chemical Engineering Communications* 33:93-105 (1985).
  11. Charsley EL, Laye PG, Parkes GMB and Rooney JJ, Development and applications of a sample controlled DSC system. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 105:699-703 (2011).
  12. Bakirtzis D, Delichatsios MA, Liodakis S and Ahmed W, Fire retardancy impact of sodium bicarbonate on ligno-cellulosic materials. *Thermochimica Acta* 486:11-19 (2009).
  13. Wu YL and Shih SM, INTRINSIC KINETICS OF THE THERMAL-DECOMPOSITION OF SODIUM-BICARBONATE. *Thermochimica Acta* 223:177-186 (1993).
  14. Subramanian KS, Radhakrishnan TP and Sundaram AK, A thermogravimetric study of the decomposition of sodium bicarbonate. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences - Section A* 73:64-68 (1971).
  15. Tong X, Luo X and Li Y, Development of blend films from soy meal protein and crude glycerol-based waterborne polyurethane. *Industrial Crops and Products* 67:11-17 (2015).
  16. Guerrero P and de la Caba K, Thermal and mechanical properties of soy protein films processed at different pH by compression. *Journal of Food Engineering* 100:261-269 (2010).

- 
17. Verbeek CJR and van den Berg LE, Recent developments in thermo-mechanical processing of proteinous bioplastics. *Recent Patents on Materials Science* 2:171-189 (2009).
  18. Giesche H, Mercury porosimetry: A general (practical) overview. *Particle & Particle Systems Characterization* 23:9-19 (2006).
  19. Motzfeldt K, THE THERMAL DECOMPOSITION OF SODIUM CARBONATE BY THE EFFUSION METHOD. *Journal of Physical Chemistry* 59:139-147 (1955).