

Desarrollo de materiales superabsorbentes a partir de plasma porcino. Influencia de la formulación

E. Álvarez-Castillo*, C. Bengoechea y A. Guerrero

Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Sevilla,
Escuela Politécnica Superior. Calle Virgen de África, 7, 41011 Sevilla (España)

Effect of concentration on plasma protein-based superabsorbent materials

*Desenvolupament de materials superabsorbents a partir de plasma porcí.
Influència de la formulació*

RECEIVED: 8 NOVEMBER 2018; REVISED: 11 DECEMBER 2018; ACCEPTED: 12 DECEMBER 2018

SUMMARY

Porcine blood is a by-product of the meat industry, and it could be considered as a potential raw material in the formulation of biodegradable materials with great water absorption capacity, due to its rich composition in hydrophilic aminoacids. With the aim to evaluate this potential, Porcine Plasma protein (PP) has been mixed with glycerine (GL) as plasticizer, obtaining through injection moulding bioplastic samples eventually assessed. In order to maximize its water uptake capacity, the concentration effect on PP in blend was evaluated (50, 55 and 60 %). All materials obtained, independently of the PP quantity, showed superabsorbent properties, when they were moulded at 60 °C, using an injection and holding pressure of 500 bar for 150 s. These materials were able to hold around 2000 % its own weight, exceeding the threshold generally established for the absorbent capacity (i.e. 1000 %) of superabsorbent materials. The absence of acrylic ingredients together with the revalorization of an organic by-product would promote the production of this kind of materials as an economic and biodegradable alternative to those superabsorbent products traditionally used.

Keywords: bioplastic; crosslinking; plasma; water uptake

RESUMEN

La fracción plasmática de la sangre porcina obtenida como subproducto en la industria cárnica puede ser considerada una potencial materia prima en la formulación de materiales biodegradables con elevada capacidad absorbente, ya que en su composición presenta una gran cantidad de aminoácidos hidrofílicos. Con objeto de evaluar dicho potencial, se ha mez-

clado convenientemente un concentrado de proteína de plasma porcino (PP, Apropork) con glicerina (GL) como plastificante, obteniéndose posteriormente mediante inyección diferentes materiales bioplásticos. Para maximizar su capacidad absorbente, se ha estudiado el efecto de la concentración de PP en la mezcla (50, 55 y 60 %). Todos los materiales procesados a partir de las mezclas PP/GL en este estudio presentaron capacidades superabsorbentes, con capacidades de absorción de agua superiores a 1.000 %. Así, valores alrededor de 2.000 %, se alcanzaron en las muestras, independientemente del contenido en PP, cuando fueron moldeadas a una temperatura de 60 °C, con un tiempo de inyección de 150 s y utilizando una presión de 500 bar. La ausencia de derivados acrílicos en su formulación, así como la revalorización que resultaría del subproducto orgánico seleccionado, favorecería el desarrollo de este tipo de materiales como una alternativa económica y biodegradable a los productos superabsorbentes tradicionalmente utilizados.

Palabras clave: absorción de agua; bioplástico; entrecruzamiento; plasma

RESUM

La fracció plasmàtica de la sang porcina obtinguda com a subproducte en la indústria càrnica pot ser considerada una potencial matèria primera en la formulació de materials biodegradables amb elevada capacitat absorbent, ja que en la seva composició presenta una gran quantitat d'aminoàcids hidrofílics. A fi d'avaluar aquest potencial, s'ha barrejat conve-

*Corresponding author: malvarez43@us.es

nientment un concentrat de proteïna de plasma porcí (PP, Apropork) amb glicerina (GL) com a plastificant, obtenint-posteriorment mitjançant injecció diferents materials bioplàstics. Per maximitzar la seva capacitat absorbent, s'ha estudiat l'efecte de la concentració de PP a la barreja (50, 55 i 60%). Tots els materials processats a partir de les mesclades PP / GL en aquest estudi van presentar capacitats superabsorbents, amb capacitats d'absorció d'aigua superiors a 1.000%. Així, valors al voltant de 2.000%, es va aconseguir en les mostres, independentment del contingut en PP, quan van ser modelades a una temperatura de 60 °C, amb un temps d'injecció de 150 s i utilitzant una pressió de 500 bar. L'absència de derivats acrílics en la formulació, així com la revaloració que resultaria del subproducte orgànic seleccionat, afavoriria el desenvolupament d'aquest tipus de materials com una alternativa econòmica i biodegradable als productes superabsorbents tradicionalment utilitzats.

Paraules clau: Absorció d'aigua; bioplàstic; entrecreuament; plasma

INTRODUCCIÓN

Los bioplásticos han ido adquiriendo una mayor importancia durante los últimos años, debido a la mayor conciencia medioambiental existente en la sociedad, como consecuencia de la gran cantidad de vertidos de polímeros no biodegradables que se han acumulado en los ecosistemas, generando un problema medioambiental de gran alcance^{1,2}. Los bioplásticos obtenidos a partir de fuentes naturales³, conocidos como bioplásticos de segunda generación, son considerados una importante alternativa a los plásticos tradicionales obtenidos a partir de derivados del petróleo⁴. Así, ya se utilizan ampliamente diferentes plásticos obtenidos a partir de fuentes naturales (almidón, celulosa, proteínas ...). Estos reemplazan a los convencionales en diferentes aplicaciones, aunque sus propiedades mecánicas puedan presentar ciertas limitaciones. En este sentido, diferentes estudios han señalado cómo su uso aplicaciones como embalaje⁵⁻⁷ u horticultura⁸ resultaría viable.

Asimismo, resultaría interesante el uso de bioplásticos biodegradables en el campo de los materiales superabsorbentes (SAM's)^{9,10}, en el que se utilizan ampliamente los derivados acrílicos. Un material puede ser clasificado como SAM cuando puede absorber una cantidad de agua igual o superior a 10 veces su propio peso (1.000 %), sin que ello provoque una pérdida de integridad en la muestra, a causa de un exceso de solubilización de materia o hinchamiento. No todas las proteínas o polisacáridos pueden ser utilizados con éxito en el desarrollo de materiales con elevada capacidad absorbente. Así, se han realizado varios estudios en este sentido con gluten, gelatina, celulosa, quitosano, alginato o colágeno¹¹⁻¹. En el caso de la proteína de soja, se ha asociado su capacidad superabsorbente¹⁶ a su composición aminoacídica, relativamente rica en ami-

noácidos polares e hidrofílicos como lo son el ácido aspártico (12.40 g/100 g) y glutámico (19,6 g/100 g). Además, la presencia significativa de residuos de lisina en su composición ha resultado útil para funcionalizar la proteína con grupos carboxílicos polares, lo que se tradujo en un aumento de su capacidad absorbente, alcanzando aproximadamente un 3.600 %⁹. El plasma porcino (PP) posee un contenido en residuos de aspártico y glutámico de 6,97 y 10,04/100 g, respectivamente, lo que lo convierte en un potencial ingrediente en la obtención de bioplásticos superabsorbentes, apenas encontrándose en la literatura estudios al respecto. Sin embargo, sí se ha estudiado en algunos casos su aplicación en el ámbito del embalaje, gracias a sus condiciones de baja permeabilidad^{17,18}.

PP es un importante coproducto de la industria cárnica, siendo ampliamente utilizado en la industria alimentaria por su alto porcentaje en proteínas, buenas propiedades funcionales y aplicabilidad. La fracción proteica del plasma tiene un punto isoeléctrico alrededor de 4,8¹⁹, consistiendo en 50-60 % de albúminas con un peso molecular ~ 69 kDa, responsable de la formación de geles por calor inducido^{19,20}; 40-50 % de globulinas; y, finalmente, cantidades menores de fibrinógeno. Esta proteína es usada de forma recurrente en la industria alimentaria, como gelificante en surimis²¹ 9, 10, 11 and 12, propiciando la retención de agua en hamburguesas²² o ayudando a la solubilización de las proteínas musculares en embutidos²³. Además también es utilizada en la industria farmacéutica²⁴, como emulgente, gelificante o agente espumante.

Uno de los métodos más utilizados en la obtención de bioplásticos es el moldeo por inyección, en el que comúnmente se distinguen tres etapas: mezclado, inyección y compactación. Las condiciones de temperatura tanto en el cilindro, donde se reblandece la mezcla previo a su inyección, como en el molde, donde se conforma el material, se han situado entre los parámetros de inyección más importantes, como ya ha sido demostrado en estudios previos²⁵⁻²⁷. Debido a esto, debe realizarse una correcta selección de los parámetros de procesado con el objetivo de realzar las características superabsorbentes de los materiales producidos.

El objetivo del presente estudio ha sido, por tanto, el desarrollo de materiales superabsorbentes (SAM) a partir de una proteína procedente de plasma porcino, obtenidos a través de la optimización tanto de la formulación como del proceso de inyección y sus condiciones de procesado. Es por ello que se han estudiado distintas relaciones proteína/plastificante y temperaturas de moldeo. Previo a su inyección, las diferentes mezclas proteína/plastificante se caracterizaron por ensayos dinámicos con barrido de temperatura. A continuación, se determinaron las propiedades termomecánicas y de absorción de agua de los bioplásticos obtenidos por inyección de las diferentes mezclas.

EXPERIMENTAL

Materiales

La proteína de plasma de origen porcino utilizada en el presente estudio (AproPork, Essentia Proteins, EE.UU.) fue suministrada desinteresadamente por PROANDA S.A (España). El contenido proteico que presenta el concentrado utilizado fue estimado por triplicado, multiplicando por 6,25 (constante de Kjeldahl para derivados cárnicos²⁸) el porcentaje de nitrógeno determinado con un analizador LECO CHNS-932 (Leco Corporation, EE.UU.), encontrándose alrededor de un 74 % p/p, siendo el contenido en cenizas del 9 %. La glicerina utilizada (GL) fue pura, grado farma (Panreac Química S.A, España).

Preparación de muestra

En primer lugar, se mezclaron los componentes en una proporción PP/GL (p/p) específica (50/50, 55/45, 60/40) mediante un reómetro mezclador Haake Poylab QC (ThermoHaake, Karlsruhe, Alemania). La cámara de mezclado tiene una geometría bicilíndrica en cuyo interior, dos rotores tipo delta giran en sentido contrarrotatorio. La etapa de mezclado se realizó a 50 rpm a temperatura ambiente durante 5 min, según un protocolo similar al seguido en estudios previos^{27,2}

Una vez se obtuvieron mezclas homogéneas, éstas se inyectaron en un molde con las dimensiones requeridas (1x10x60 mm). El equipo utilizado para dicho proceso fue una inyectora a escala de laboratorio, tipo pistón: Minijet Piston Injection Moulding System (ThermoHaake, Karlsruhe, Alemania). Primero, se introdujeron en una cámara cilíndrica a una determinada temperatura (T_{cil} : 40 °C), para seguidamente forzar su paso con un pistón hacia el interior de las cavidades del molde, a través de una boquilla a una determinada presión de inyección (P_{iny} : 500 bar). Se controla la temperatura a la que se encuentra el molde (T_{mold} : 60, 80, 100 o 120 °C), manteniéndose la muestra en el mismo durante un determinado tiempo (t_{comp} : 150 s) a presión de compactación constante (P_{comp} : 500 bar).

Propiedades reológicas

Masas

Las masas procedentes de la etapa de mezclado se caracterizaron mediante ensayos dinámicos de barrido de temperatura en un reómetro RSA3 (TA Instruments, EE.UU.) utilizando una geometría cilíndrica plato-plato de 8 mm de diámetro en modo compresión.

Bioplásticos

La caracterización reológica de los bioplásticos obtenidos tras el proceso de inyección con diferentes condiciones de procesamiento se realizó a través de rampas de temperatura en un reómetro híbrido DHR-3 (TA Instruments, EE.UU.), usando una geometría rectangular en modo torsión.

En ambos casos, las rampas de temperatura se llevaron a cabo desde 25 (masas) o -30 °C (plásti-

cos) hasta 140 °C a una velocidad de calentamiento de 5 °C/min y a una frecuencia constante de 1 Hz. Además, se realizaron barridos de frecuencia a los bioplásticos desde 0,02 a 2 Hz a una temperatura constante de 20 °C. Todos los ensayos fueron realizados dentro del intervalo viscoelástico lineal.

Propiedades mecánicas

Los ensayos de tracción hasta rotura fueron realizados en la máquina Universal de ensayo Electromechanical Testing System (MTS, EE.UU.) a temperatura ambiente y con una velocidad de elongación de 5 mm/min. Los ensayos se repitieron al menos 6 veces para cada muestra con el objetivo de obtener resultados más representativos de los distintos parámetros, disminuyendo así el error experimental.

Absorción de agua

La capacidad de absorción de agua fue estimada acorde a los métodos descritos anteriormente por otros autores³⁰. Este ensayo consistió en tres etapas consecutivas: en primer lugar, las muestras fueron introducidas en una estufa a 50 °C hasta conseguir un peso constante (peso seco inicial), tras lo cual las muestras fueron sumergidas en agua desionizada durante un periodo de 24 horas (peso húmedo) para posteriormente ser introducidas las muestras hinchadas de nuevo en el horno a 50 °C hasta conseguir su peso constante (peso seco final). Capacidad absorbente y pérdida de material soluble (PMS) se determinaron a través de las siguientes ecuaciones:

$$\text{Capacidad de absorción (\%)} = \frac{\text{peso húmedo} - \text{peso seco final}}{\text{peso seco final}} \cdot 100 \quad (1)$$

$$\text{PMS (\%)} = \frac{\text{peso seco inicial} - \text{peso seco final}}{\text{peso seco inicial}} \cdot 100 \quad (2)$$

Microscopía

La microscopía de barrido electrónico se utilizó para evaluar la microestructura de las muestras de bioplásticos hinchadas seleccionadas. Para ello, pequeños fragmentos de muestras liofilizadas (2-3 mm) fueron recubiertas con oro y analizadas utilizando un microscopio ZEISS EVO (EE.UU.). Los ensayos se realizaron a un voltaje de 10 kV y un haz de corriente de 11-12 pA, y una distancia de enfoque de 6 mm, obteniendo las micrografías con una magnificación de 33x.

Se ha estimado la porosidad de las muestras mediante el análisis de las micrografías obtenidas con el software de dominio público ImageJ, desarrollado por el NIH (National Institutes of Health, EE.UU.).

Análisis estadístico

Todas las medidas se realizaron al menos por triplicado. Las incertidumbres se representaron para todos los parámetros calculados como desviaciones estándar, utilizándose el sistema ANOVA para establecer si las diferencias fueron o no significativas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Influencia de la relación proteína/plastificante

Masas

Los bioplásticos objetos de estudio de este trabajo fueron producidos a partir de dos componentes: proteína de plasma porcino (PP), y glicerina (GL), utilizada como plastificante. Una vez que se hubo seleccionado la proteína base para los materiales biodegradables que se persiguen, se quiso determinar la composición más idónea para los mismos, para lo que se estudiaron muestras con distintas cantidades de PP: 50, 55 y 60 % (p/p), siendo el resto glicerina. El reómetro mezclador en el que se homogenizaron las mezclas ha facilitado los perfiles de temperatura y torque que se produjeron en el interior de la cámara a lo largo del proceso de homogenización. En estos perfiles se observó que no existe una importante diferencia entre las distintas proporciones proteína/glicerina para los resultados obtenidos en esta etapa, presentando, todos, una respuesta similar (datos no mostrados): inicialmente, aparecía un impulso inicial en el torque que posteriormente disminuía de forma asintótica hasta alcanzar un valor aproximadamente constante o plateau. Con respecto a la temperatura, no se percibió ninguna evolución notable, registrándose tan solo un leve aumento (2-3 °C).

Las mezclas homogéneas obtenidas tras la etapa de mezclado fueron sometidas a ensayos dinámicos de barridos de temperatura en modo compresión con el objetivo de estudiar la dependencia de sus propiedades viscoelásticas con la temperatura. Puede observarse en la Figura 1 como, independientemente de la concentración de plasma porcino, el módulo de almacenamiento (E') fue siempre mayor que el módulo de pérdidas (E''), por lo que a las muestras se les atribuye un carácter predominantemente elástico, implicando una tangente de pérdidas ($\tan \delta = E''/E'$) menor a la unidad para todo el intervalo de temperaturas considerado en el ensayo. Para las tres muestras estudiadas, se observó un comportamiento similar, distinguiéndose tres regiones³¹: (i) una primera región vítrea en la que el módulo elástico se mantuvo aproximadamente constante hasta que la temperatura alcanzó un valor de 40 °C; (ii) a partir de dicha temperatura, tuvo lugar una disminución drástica de E' , de hasta dos órdenes de magnitud (~ 98 %), hasta que se alcanzó una temperatura en torno a 62-65 °C. Dicho descenso se ha asociado a una zona de transición vítrea. No parece haber diferencias importantes en la temperatura a la que se alcanza el mínimo en E' con el contenido en plastificante; (iii) una tercera región aparece tras dicho descenso, en la que se produjo un importante incremento en los valores de E' . Este suceso, que evidencia un fuerte endurecimiento de la mezcla inducido por el calor, se ha encontrado de manera análoga en la gelificación de soluciones acuosas de proteínas de albúmina de huevo en torno a los 60 °C^{32,33}. En esos casos, dicho aumento ha sido explicado en base a mecanismos de desnaturalización y agregación de proteínas. Dicha agregación puede estar provocada por interacciones hidrofóbicas o entrecruzamiento por formación de puentes de disulfuro, que terminan for-

mando una estructura tridimensional^{34,35}. De la misma forma, se observaron comportamientos similares al de las regiones (i) y (ii) para mezclas de albúmina y glicerina en ensayos oscilatorios de baja amplitud³¹.

De los resultados que se recogen en la Figura 1, se puede deducir que el reforzamiento de la estructura que se lleva a cabo en la tercera región tiene lugar a través de dos etapas, tras las que aparecen sendas regiones plateau: durante la primera de ellas (I), entre 60 y 80 °C aproximadamente, tuvo lugar el incremento más importante en el módulo elástico, para finalmente permanecer constante originando un plateau gomoso; posteriormente, entre 95 y 105 °C, tuvo lugar una segunda etapa (II) en la que el incremento fue más moderado. Estas dos etapas que aparecen durante el reforzamiento en la región (iii) son más fácilmente distinguibles cuanto mayor es la cantidad de proteína en la muestra (55 y 60 %). Estudios previos realizados por Jerez et al.³¹ sobre sistemas con albúmina de huevo también observaron estas dos regiones en intervalos similares de temperatura. Es posible que el reforzamiento de la estructura que se lleva a cabo sea debido a la agregación de las distintas fracciones proteicas que lo componen (globulinas y albúminas). De hecho, las albúminas se desnaturalizan entre 60 y 82 °C³⁶, lo que correspondería a la primera etapa de reforzamiento; mientras que la fracción de globulinas es más estable y no encuentra su pico de desnaturalización hasta temperaturas superiores a 100 °C³⁷, lo que puede asociarse a la segunda etapa de reforzamiento. Por otra parte, en la Figura 1 también se puede visualizar la evolución del módulo viscoso (o de pérdidas), observándose la existencia de las tres regiones anteriormente comentadas para E' . Los valores de E'' fueron siempre más bajos que los de E' para todo el intervalo de temperaturas estudiado, aunque se fueron aproximando a las temperaturas a las que E' alcanzó sus valores mínimos (60-80 °C), dando lugar a los valores más altos de $\tan \delta$ (~ 0,54), aunque siempre por debajo de la unidad, por lo que su carácter fue siempre predominantemente elástico. En la tercera región (iii) se puede observar una diferencia en el comportamiento de E'' respecto al de E' , ya que el módulo de pérdidas no aumenta su valor como ocurría con el módulo de almacenamiento, sino que disminuye paulatinamente. Esta disminución de E'' , unida al aumento de E' , hace que $\tan \delta$ presente cada vez menores valores, lo que indicaría un mayor carácter sólido conforme aumenta la temperatura.

El comportamiento viscoelástico para todas las muestras es similar, sin que la cantidad de proteína tenga realmente influencia significativa en las propiedades de las masas. Los eventos descritos deben estar asociados a diferentes transiciones térmicas de las distintas fracciones proteicas. Así, muestras de albúmina de huevo/glicerina han presentado una transición vítrea alrededor de 54 °C³¹, lo cual se asemeja a los resultados mostrados en el presente estudio, mientras que la desnaturalización producida a los 80 °C se ha relacionado con las fracciones de globulinas y albúminas en estudios sobre plasma bovino²⁴.

Aunque estas muestras se comportan de forma muy similar ante la acción de la temperatura, su comportamiento es muy diferente a aquel observado para mezclas obtenidas de igual forma pero re-

emplazando la proteína plasmática por un aislado proteico de soja, las cuales ningún endurecimiento en el módulo de almacenamiento tras el reblandecimiento para la soja²⁷

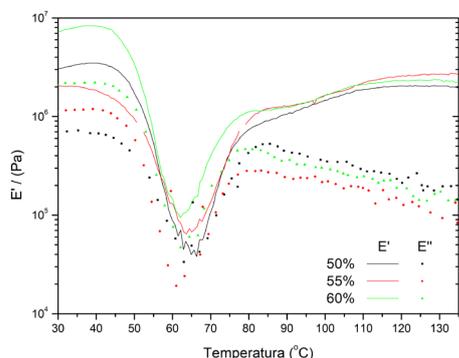


Figura 1. Evolución del módulo de almacenamiento (E') y de pérdidas (E'') frente a la temperatura para masas basadas en mezclas de proteína de plasma porcino (PP) y glicerina (GL), con diferentes cantidades de PP (50, 55, 60 %). Las mezclas se obtuvieron tras mezclar los ingredientes durante 5 min a 50 rpm a temperatura ambiente.

Bioplásticos

Las masas obtenidas en la primera etapa de mezclado a diferentes relaciones PP/GL fueron moldeadas por inyección a unas condiciones de proceso específicas (T_{cil} : 40 °C; T_{mould} : 60 °C y P_{iny} : 500 bar). Los bioplásticos resultantes se caracterizaron mediante ensayos de barridos de temperatura dinámicos en modo torsión (Figura 2). En primer lugar, se puede observar que todos los espectros fueron cualitativamente parecidos, indistintamente de cual sea la composición de la probeta, mostrando un carácter predominantemente elástico, al poseer en todos los casos un módulo de almacenamiento (G') mayor al de pérdidas (G''), resultando en una tangente de pérdidas menor que uno (~0.29-0.41). Los módulos viscoelásticos descendieron conforme la composición de glicerina era mayor en los bioplásticos, lo que puede ser explicado por la acción de la glicerina como plastificante. Además, tan δ resulta menor cuando el porcentaje de proteína en la muestra incrementa, lo que evidencia un mayor endurecimiento en el sistema con mayor contenido de PP. En cuanto al efecto del calentamiento, se observó una disminución de los módulos y un aumento de la tangente de pérdidas al aumentar la temperatura hasta 65-80 °C, a partir de cuando comenzó un endurecimiento de la estructura reflejado por un aumento de G' . El máximo resultante en tan δ se ha asociado a la temperatura de transición vítrea (T_g)^{38,39}, temperatura representativa de la transición del material desde el estado vítreo hasta el estado gomoso. El estudio de la T_g es de gran importancia para la industria, ya que el comportamiento mecánico de los materiales depende de la relación entre dicha temperatura y la temperatura de servicio. Puede observarse que la T_g disminuyó conforme se aumentó la proporción de plastificante, lo que provoca un mayor volumen libre entre

las cadenas poliméricas, facilitando así su movilidad. Por otra parte, el aumento observado en G' a temperaturas superiores se puede explicar en base a la alta densidad de la fase proteica, la cual favorece una mayor interacción entre cadenas y, por tanto, favorece la gelificación una vez que cierta temperatura es sobrepasada. En el caso del plasma sanguíneo, se ha indicado una temperatura de gelificación en torno a los 75 °C⁴⁰. Además, puede observarse que la respuesta viscoelástica de los bioplásticos es consistente con el comportamiento anteriormente comentado para las masas (región iii): el aumento observado en los módulos viscoelásticos a partir de 60-80 °C refleja un importante potencial de endurecimiento del sistema. Esto puede asociarse al hecho de que las muestras se inyectaron a temperaturas bastante inferiores (60 °C) a las temperaturas a las que se alcanzaba el segundo plateau en la región (iii) (120-140 °C). Algo similar se puede encontrar en la bibliografía para bioplásticos obtenidos a partir de albúminas de huevo y glicerina procesados por compresión³¹, para los que se indicaba una temperatura de transición vítrea alrededor de 70 °C y una zona de endurecimiento a temperaturas mayores de la temperatura de moldeo.

El índice de endurecimiento al que se hace referencia se ha definido con la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de endurecimiento} = \frac{G'_{140} - G'_{min}}{G'_{min}} \quad (3)$$

Donde G'_{140} y G'_{min} corresponde a los valores de los módulos de almacenamiento de los bioplásticos a 140 °C y en el punto en el que éste es mínimo, respectivamente. No existe una evolución notable en este factor cuando la composición de plasma se incrementa en las muestras, situándose siempre en valores en torno a $7,8 \pm 2,3$. Este endurecimiento sufrido en las muestras al aumentar la temperatura, puede deberse al fenómeno de gelificación de las proteínas comentado anteriormente para mezclas PP-GL. Es importante señalar que cierto endurecimiento térmico ya ha podido ocurrir en la etapa de compactación en el molde a 60 °C, aunque la mayor parte de la gelificación de la proteína tenga lugar durante la rampa de temperatura al superar la temperatura de moldeo.

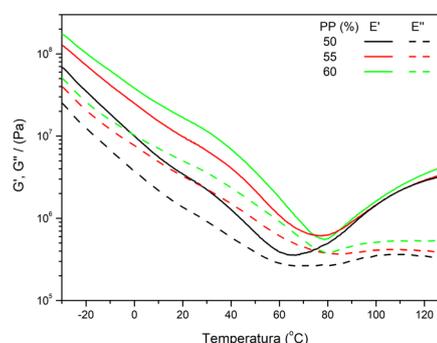


Figura 2. Evolución del módulo de almacenamiento (E') y de pérdidas (E'') frente a la temperatura para bioplásticos basados en mezclas de proteína de plasma porcino (PP) y glicerina (GL), con diferentes cantidades de PP (50, 55, 60 %). Los bioplásticos se obtuvieron tras moldear las masas por inyección a 60 °C.

Tabla 1. Capacidad de absorción de agua y pérdida de material soluble de bioplásticos basados en diferentes mezclas de proteína de plasma porcino (PP) y glicerina (GL), procesados por moldeo por inyección a 60 °C. Diferentes letras en una columna indica diferencias significativas ($p < 0.05$).

PP	Absorción de agua (%)	Pérdida de material soluble (%)
50	2117 ± 209 ^a	56,9 ± 1,8 ^a
55	1841 ± 94 ^a	55,6 ± 0,7 ^a
60	1945 ± 74 ^a	51,1 ± 2,3 ^b

La tabla 1 muestra propiedades mecánicas características (módulo de Young, E; esfuerzo máximo, s_{max} ; deformación máxima, e_{max}) obtenidas mediante ensayos de tracción realizados a los bioplásticos con diferentes proporciones PP-GL. El módulo de Young, al igual que el esfuerzo máximo, aumenta con el contenido en proteína del bioplástico. No existe, por otro lado, ninguna tendencia notable en los valores de la deformación máxima. Estos resultados pueden relacionarse con aquellos ya comentados de las rampas de temperatura mediante ensayos dinámicos (Figura 2), en los que E' y E'' aumentaban conforme lo hacía la relación PP/GL. Anteriormente, otros autores han obtenido resultados similares, indicando cómo la glicerina podía disminuir las interacciones entre las cadenas poliméricas, favoreciendo su movilidad y resultando unas elongaciones mayores para esfuerzos menores en los ensayos de tracción^{6,35,41-43}.

Tabla 2. Propiedades mecánicas de bioplásticos basados en diferentes mezclas de proteína de plasma porcino (PP) y glicerina (GL), procesados por moldeo por inyección a 60 °C: módulo de Young (E), esfuerzo máximo (s_{max}), deformación máxima (e_{max}). Diferentes letras en una columna indica diferencias significativas ($p < 0.05$).

PP (%)	E (MPa)	s_{max} (MPa)	e_{max} (-)
50	2,41 ± 0,82 ^a	0,14 ± 0,09 ^a	0,20 ± 0,03 ^a
55	8,22 ± 1,00 ^b	0,44 ± 0,05 ^b	0,43 ± 0,06 ^b
60	12,17 ± 1,99 ^c	0,52 ± 0,07 ^b	0,28 ± 0,08 ^a

En lo que se refiere a capacidad de absorción de agua, no se observaron diferencias significativas cuando se modificó la proporción de proteína frente a la de glicerina en las probetas, tal y como se recoge en la Tabla 2. No obstante, es interesante observar cómo los bioplásticos obtenidos a partir de proteína de plasma porcino, independientemente de la cantidad de proteína contenida en la muestra, poseen capacidades absorbentes superiores al 1.000 %, por lo que pueden ser catalogados como materiales superabsorbentes⁴⁴. Por otra parte, al estudiar los valores de pérdida de material soluble se observan dos cosas claramente: (i) toda la glicerina se pierde en la muestra tras la inmersión en agua, debido a su carácter hidrofílico. Este hecho, que hace que la pérdida de material soluble sea siempre superior al contenido en plastificante, es coherente con resultados previos obtenidos para bioplásticos basados en mezclas proteína-glicerina^{10,45,46}. Además, la comparación de un análisis termogravi-

métrico (TGA) antes y después de la inmersión en agua permitió comprobar la desaparición del pico correspondiente a la glicerina tras la inmersión (datos no mostrados); (ii) por otra parte, es evidente como una cantidad importante de PP es solubilizada con la glicerina durante la inmersión (en torno al 17 ± 3 %). A pesar de esta disolución, las muestras conservan su integridad haciendo posible su fácil manipulación, sin desintegrarse durante la misma.

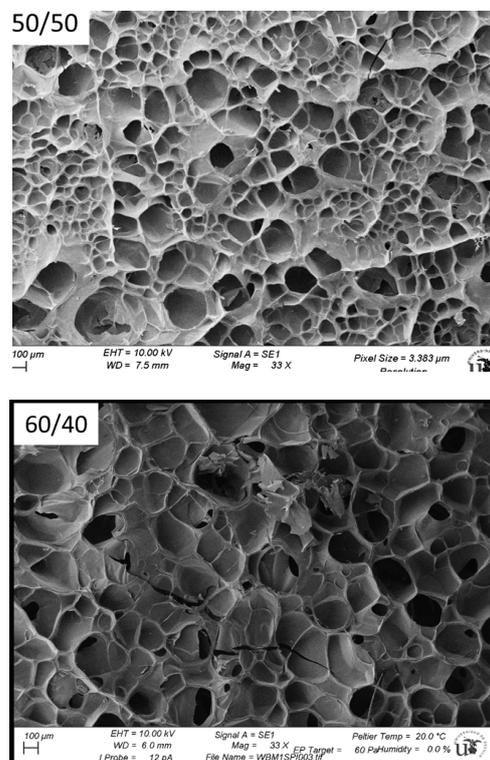


Figura 3. Microscopía de barrido electrónico SEM de matrices porosas obtenidas a partir de bioplásticos de proteína de plasma porcino (PP) y glicerina (GL) (PP: 50 % y 60 %) moldeados por inyección a 60 °C. Las matrices se obtienen tras inmersión en agua y posterior liofilización.

En la Figura 3 se pueden observar las micrografías realizadas a matrices obtenidas tras la liofilización de los bioplásticos hinchados tras una etapa de inmersión en agua durante 24 h (PP: 50 y 60 %). Ambas muestras mostraron una estructura similar, pudiéndose alcanzar poros superiores a 100 μm . Estos poros de gran tamaño serían producidos debido a la alta capacidad de hinchamiento mostrada por los bioplásticos, en los que la glicerina fue reemplazada por agua durante la inmersión. Esa agua posteriormente fue sublimada durante el proceso de liofilización, originando los poros mostrados en las micrografías, las cuales son análogas a las de otros hidrogeles hidropoliméricos con grandes capacidades de absorción de agua^{9,47,48}. Asimismo, cabe señalar que la muestra que contiene más plastificante (50/50) posee un mayor número de poros de menor diámetro. Así, esta muestra presentó una porosidad media estimada a partir de las micrografías de $66,1 \pm 3,9$ %, menor que la estimada para la muestra con menos plastificante (60/40), con valor de $76,3 \pm 4,1$ %.

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos se puede concluir que las mezclas PP/GL sufrieron un endurecimiento cuando la temperatura sobrepasó los 65 °C, lo cual fue explicado en base a la gelificación y agregación de la proteína que hace que sus módulos viscoelásticos aumenten. Cuando se observa el efecto de la concentración de proteína de plasma porcino sobre las propiedades termomecánicas de los bioplásticos, se observó como un mayor contenido en plastificante en las muestras hizo decrecer los valores de la temperatura de transición. Como consecuencia, la muestras con mayor contenido en proteína presentaron mayores valores para el módulo de Young y esfuerzo máximo de tracción previo a la rotura.

La relación de plasma porcino frente a la glicerina no tiene gran influencia en términos de absorción de agua, al no observarse ninguna evolución aparente en el intervalo 50/50 a 60/40. No obstante, todos los materiales obtenidos a partir de la proteína plasmática moldeados por inyección a 60 °C presentan características superabsorbentes, absorbiendo $20,0 \pm 1,4$ veces su peso seco. Por otra parte, la pérdida de material soluble es considerable a estas temperaturas, solubilizándose parte de la proteína incluida en la formulación original, aunque ello no repercute en la manejabilidad de las muestras.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte de un Proyecto de investigación financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad y el programa FEDER (Ref. CTQ2015-71164-P). Los autores agradecen el apoyo financiero recibido. Además, a los autores les gustaría agradecer al servicio de microscopía del CITIUS (Universidad de Sevilla) por dar acceso y asistencia técnica a la técnica de SEM.

BIBLIOGRAFÍA

1. Pathak, S.; Sneha, C.; Mathew, B. B. Bioplastics: Its Timeline Based Scenario & Challenges. *J. Polym. Biopolym. Phys. Chem.* **2014**, *2* (4), 84–90.
2. Varsha, Y.; Savitha, R. Overview on Polyhydroxyalkanoates: A Promising Biopol. *J. Microb. Biochem. Technol.* **2011**, *03* (05), 99–105.
3. Yue, H. B.; Fernandez-Blazquez, J. P.; Shuttleworth, P. S.; Cui, Y. D.; Ellis, G. Thermomechanical relaxation and different water states in cottonseed protein derived bioplastics. *RSC Adv.* **2014**, *4* (61), 32320–32326.
4. Yue, H. B.; Cui, Y. D.; Shuttleworth, P. S.; Clark, J. H. Preparation and characterisation of bioplastics made from cottonseed protein. *Green Chem.* **2012**, *14* (7), 2009–2016.
5. Briassoulis, D.; Giannoulis, A. Evaluation of the functionality of bio-based food packaging films. *Polym. Test.* **2018**, *69*, 39–51.
6. Cuq, B.; Aymard, C.; Cuq, J.-L.; Guilbert, S. Edible Packaging Films Based on Fish Myofibrillar Proteins: Formulation and Functional Properties. *J. Food Sci.* **2018**, *60* (6), 1369–1374.
7. Peelman, N.; Ragaert, P.; De Meulenaer, B.; Adons, D.; Peeters, R.; Cardon, L.; Van Impe, F.; Devlieghere, F. Application of bioplastics for food packaging. *Trends Food Sci. Technol.* **2013**, *32* (2), 128–141.
8. Jiménez-Rosado, M.; Pérez-Puyana, V.; Cordobés, F.; Romero, A.; Guerrero, A. Development of soy protein-based matrices containing zinc as micronutrient for horticulture. *Ind. Crops Prod.* **2018**, *121*, 345–351.
9. Cuadri, A. A.; Bengoechea, C.; Romero, A.; Guerrero, A. A natural-based polymeric hydrogel based on functionalized soy protein. *Eur. Polym. J.* **2016**, *85*.
10. Cuadri, A. A.; Romero, A.; Bengoechea, C.; Guerrero, A. Natural superabsorbent plastic materials based on a functionalized soy protein. *Polym. Test.* **2017**, *58*.
11. Ibrahim, S. M.; El Salmawi, K. M.; Zahran, A. H. Synthesis of crosslinked superabsorbent carboxymethyl cellulose/acrylamide hydrogels through electron-beam irradiation. *J. Appl. Polym. Sci.* **2007**, *104* (3), 2003–2008.
12. Krishna, B.; Dhiraj, B.; Veena, K.; Veena, C. Interpenetrating polymer networks based on poly(acrylic acid) and gelatin. I: Swelling and thermal behavior. *J. Appl. Polym. Sci.* **2011**, *82* (1), 217–227.
13. Moura, M. J.; Gil, M. H.; Figueiredo, M. M. Delivery of cisplatin from thermosensitive co-cross-linked chitosan hydrogels. *Eur. Polym. J.* **2013**, *49* (9), 2504–2510.
14. Ali, A.; Ahmed, S. Recent Advances in Edible Polymer Based Hydrogels as a Sustainable Alternative to Conventional Polymers. *J. Agric. Food Chem.* **2018**, *66*, acs.jafc.8b01052.
15. Hitoshi, K.; Shin, K. Cellulosic absorbents for water synthesized by grafting of hydrophilic vinyl monomers on carboxymethyl cellulose. *J. Appl. Polym. Sci.* **1998**, *64* (11), 2259–2263.
16. Álvarez, M Estefanía, J. del Toro, Alejandro, Aguilar García, José Manuel, Guerrero Conejo, Antonio, Bengoechea Ruiz, C. Producción de materiales superabsorbentes basados en proteína de soja mediante optimización del procesado térmico. *Afinidad Rev. Quim. Teor. y Apl.* **2018**, *76* (585).
17. Nuthong, P.; Benjakul, S.; Prodpran, T. Characterization of porcine plasma protein-based films as affected by pretreatment and cross-linking agents. *Int. J. Biol. Macromol.* **2009**, *44* (2), 143–148.
18. Nuthong, P.; Benjakul, S.; Prodpran, T. Effect of phenolic compounds on the properties of porcine plasma protein-based film. *Food Hydrocoll.* **2009**, *23* (3), 736–741.
19. Saguer, E.; Alvarez, P.; Ismail, A. A. Heat-induced denaturation/aggregation of porcine plasma and

- its fractions studied by FTIR spectroscopy. *Food Hydrocoll.* **2012**, *27* (1), 208–219.
20. Dàvila, E.; Parés, D.; Cuvelier, G.; Relkin, P. Heat-induced gelation of porcine blood plasma proteins as affected by pH. *Meat Sci.* **2007**, *76* (2), 216–225.
 21. Lertittikul, W.; Benjakul, S.; Tanaka, M. Characteristics and antioxidative activity of Maillard reaction products from a porcine plasma protein-glucose model system as influenced by pH. *Food Chem.* **2007**, *100* (2), 669–677.
 22. Li, W.; Huang, M.; Wang, P.; Xu, X. Rheological and nuclear magnetic resonance characterization of porcine plasma protein-stabilized gel-like emulsion affected by pH and heating. *LWT - Food Sci. Technol.* **2017**, *75*, 460–465.
 23. Hurtado, S.; Sagner, E.; Toldrà, M.; Parés, D.; Carretero, C. Porcine plasma as polyphosphate and caseinate replacer in frankfurters. *Meat Sci.* **2012**, *90* (3), 624–628.
 24. Hyun, C.-K.; Shin, H.-K. Utilization of bovine blood plasma obtained from a slaughterhouse for economic production of probiotics. *J. Ferment. Bioeng.* **1998**, *86* (1), 34–37.
 25. Adamy, M.; Verbeek, C. J. R. Injection-Molding Performance and Mechanical Properties of Blood Meal-Based Thermoplastics. *Adv. Polym. Technol.* **2013**, *32* (3), n/a-n/a.
 26. Xiaoqun, M.; Susan, S. X.; Youqi, W. Effects of molding temperature and pressure on properties of soy protein polymers. *J. Appl. Polym. Sci.* **1999**, *73* (13), 2595–2602.
 27. Fernández-Espada, L.; Bengoechea, C.; Cordobés, F.; Guerrero, A. Protein/glycerol blends and injection-molded bioplastic matrices: Soybean versus egg albumen. *J. Appl. Polym. Sci.* **2016**, *133* (6).
 28. García, E.; Fernández, I. Determinación de Proteínas de un Alimento por el Método Kjeldahl. Valoración con un Acido Fuerte. *Univ. Politècnica València* **2012**, *6*.
 29. Fernández-Espada, L.; Bengoechea, C.; Cordobés, F.; Guerrero, A. Thermomechanical properties and water uptake capacity of soy protein-based bioplastics processed by injection molding. *J. Appl. Polym. Sci.* **2016**, *133* (24).
 30. Cuadri, A. A. A.; Romero, A.; Bengoechea, C.; Guerrero, A. The Effect of Carboxyl Group Content on Water Uptake Capacity and Tensile Properties of Functionalized Soy Protein-Based Superabsorbent Plastics. *J. Polym. Environ.* **2018**, *1–11*.
 31. Jerez, A.; Partal, P.; Martínez, I.; Gallegos, C.; Guerrero, A. Egg white-based bioplastics developed by thermomechanical processing. *J. Food Eng.* **2007**, *82* (4), 608–617.
 32. Aguilar, J. M.; Jaramillo, A.; Cordobés, F.; Guerrero, A. Influencia del procesado térmico sobre la reología de geles de albumen de huevo. *Afinidad* **2010**, *545*, 28–32.
 33. Weijers, M.; Sagis, L. M. C.; Veerman, C.; Sperber, B.; van der Linden, E. Rheology and structure of ovalbumin gels at low pH and low ionic strength. *Food Hydrocoll.* **2002**, *16* (3), 269–276.
 34. Clark, A. H. Biopolymer gels. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **1996**, *1* (6), 712–717.
 35. Nuthong, P.; Benjakul, S.; Prodpran, T. Effect of some factors and pretreatment on the properties of porcine plasma protein-based films. *LWT - Food Sci. Technol.* **2009**, *42* (9), 1545–1552.
 36. Ferreira, M.; Hofer, C.; Raemy, A. A calorimetric study of egg white proteins. *J. Therm. Anal.* **1997**, *48* (3), 683–690.
 37. Gorinstein, S.; Zemser, M.; Paredes-López, O. Structural Stability of Globulins. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44* (1), 100–105.
 38. Bourny, V.; Perez-Puyana, V.; Felix, M.; Romero, A.; Guerrero, A. Evaluation of the injection moulding conditions in soy/nanoclay based composites. *Eur. Polym. J.* **2017**, *95* (April), 539–546.
 39. Chung, H.-J.; Lim, S.-T. Physical aging of glassy normal and waxy rice starches: effect of aging temperature on glass transition and enthalpy relaxation. *Carbohydr. Polym.* **2003**, *53* (2), 205–211.
 40. O’Riordan, D.; Kinsella, J. E.; Mulvihill, D. M.; Morrissey, P. A. Gelation of plasma proteins. *Food Chem.* **1989**, *33* (3), 203–214.
 41. Lee, R.; Pranata, M.; Ustunol, Z.; Almenar, E. Influence of glycerol and water activity on the properties of compressed egg white-based bioplastics. *J. Food Eng.* **2013**, *118* (1), 132–140.
 42. Gontard, N.; Guilbert, S.; Cuq, J.-L. Water and Glycerol as Plasticizers Affect Mechanical and Water Vapor Barrier Properties of an Edible Wheat Gluten Film. *J. Food Sci.* **2018**, *58* (1), 206–211.
 43. Perez-Puyana, V.; Felix, M.; Romero, A.; Guerrero, A. Effect of the injection moulding processing conditions on the development of pea protein-based bioplastics. *J. Appl. Polym. Sci.* **2016**, *133* (20), n/a-n/a.
 44. Zohuriaan, J.; Kabiri, K. Superabsorbent polymer materials: A review. *Iran. Polym. J.* **2008**, *17* (6), 451–477.
 45. Félix, M.; Romero, A.; Guerrero, A. Development of albumen / soy biobased plastic materials processed by injection molding. *J. Food Eng.* **2014**, *125*, 7–16.
 46. Fernández-Espada, L.; Bengoechea, C.; Cordobés, F.; Guerrero, A. Protein/glycerol blends and injection-molded bioplastic matrices: Soybean versus egg albumen. *J. Appl. Polym. Sci.* **2016**, *133* (6).
 47. Davidenko, N.; Campbell, J. J.; Thian, E. S.; Watson, C. J.; Cameron, R. E. Collagen-hyaluronic acid scaffolds for adipose tissue engineering. *Acta Biomater.* **2010**, *6* (10), 3957–3968.
 48. Potorac, S.; Popa, M.; Maier, V.; Lisa, G.; Verestiuc, L. New hydrogels based on maleilated collagen with potential applications in tissue engineering. *Mater. Sci. Eng. C* **2012**, *32* (2), 236–243.