

EVALUACIÓN DE DIFERENTES MÉTODOS DE DESARROLLO DE MATRICES PROTEICAS DE SOJA CON ZINC INCORPORADO PARA SU USO EN HORTICULTURA

Jiménez-Rosado, Mercedes*; **Pérez-Puyana, Víctor;** **Cordobés, Felipe;** **Romero, Alberto;** **Guerrero, Antonio**

TEP-229: Tecnología y Diseño de Productos Multicomponentes
Departamento de Ingeniería Química. Escuela Politécnica Superior. Universidad de Sevilla.

*E-mail: mjimenez42@us.es

RESUMEN

En la actualidad existe una gran demanda de productos hortícolas, lo que se traduce en una alta tasa de producción que provoca una excesiva explotación de los suelos, causando en ellos un descenso en el nivel de nutrientes y energía, no pudiéndose obtener rendimientos óptimos en sus cultivos. Una posible solución a estos problemas podría ser el uso de matrices de base proteica que contienen los elementos esenciales que requiere el suelo, siendo, además, una materia prima renovable y biodegradable. El objetivo de este trabajo es la evaluación de diferentes métodos de introducción de un micronutriente seleccionado (zinc, Zn), en matrices de base proteica de soja. Los resultados confirman que se pueden incorporar grandes cantidades de micronutrientes en las matrices, siendo sus propiedades mecánicas, microestructura y nivel de carga dependientes del método usado. En todos los casos, los resultados muestran un gran potencial para el uso de matrices como fuente de suministro de micronutrientes en horticultura.

PALABRAS CLAVE

Matrices proteicas, Soja, Micronutrientes, Zinc, Horticultura.

ABSTRACT

Recently, there is a high demand for horticultural products, which translates into a raised production that causes an excessive exploitation of the soil, leaving them poor in nutrients and energy and to be able to have optimum yield in their crops. A possible solution to these problems could be the use of protein-based matrices, which can contain the essential elements required by the soil, being, in addition, a renewable and biodegradable raw material. The objective of this work is the evaluation of different methods of introducing a selected micronutrient (zinc, Zn) in soy protein-based matrices obtained. The results confirm that a high level of essential micronutrient can be incorporated in the matrices, being its mechanical properties, microstructure and load level dependent on the method used. In all cases, results show a great potential for the use of matrices as a source of supplying micronutrients for horticulture.

KEYWORDS

Protein-based matrices, Soy, Micronutrients, Zinc, Horticulture.

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

La horticultura es definida como la rama de la agricultura dedicada al crecimiento de plantas para el consumo humano, medicina y uso estético [1]. Su interés ha ido creciendo en los últimos años llegando a registrarse una producción en España de 7155 millones de kilos en 2017 [2]. Esta alta demanda ha llevado a la necesidad de crear un sistema de plantación masiva, que tiene asociado la desventaja de la excesiva degradación de los suelos. Esta degradación hace que el suelo sea incapaz de realizar una regeneración efectiva de nutrientes y energía, teniendo estos que ser suministrados por los humanos [3].

Los nutrientes son elementos necesarios para las plantas. Entre ellos, los micronutrientes, aunque se necesitan en pequeñas cantidades, son muy importantes en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Normalmente, estos micronutrientes son incorporados directamente en los sustratos en forma de sales para cubrir carencias de los mismos, aunque esto causa problemas derivados de la baja asimilación por parte de la planta, ya que esta solo asimila lo que necesita en ese preciso momento, siendo el resto arrastrado por el agua del riego o lluvia, lo que lleva a la contaminación de los suelos y aguas subterráneas por exceso de nutrientes [4]. Entre todas las sales incorporadas, las de zinc son las más solubles por lo que son las que más problemas de arrastre por agua causan. Una posible alternativa que podría solucionar este inconveniente es el uso de matrices con base proteica que contengan los micronutrientes necesarios, haciendo que estos se liberen de manera controlada durante la degradación de la matriz o el riego de las plantas, incrementando así la eficacia de asimilación por parte de la misma.

Además, el uso de estos materiales podría brindar grandes ventajas debido a su nula toxicidad y alta biodegradabilidad [5], así como el aporte extra de nutrientes tras su degradación [6]. Por otro lado, estos materiales tienen la habilidad de retener agua incrementando la eficiencia del ciclo del agua.

Dentro de este contexto, el objetivo global del presente trabajo es el desarrollo de diferentes métodos de incorporación de un micronutriente (Zn) en matrices proteicas de soja. En este sentido, se evaluará la cantidad de zinc incorporado en la matriz, así como su distribución, y las propiedades mecánicas y morfológicas de las diferentes matrices obtenidas.

METODOLOGÍA

Materiales

Como base proteica se utilizó el aislado proteico de soja (SPI), con un porcentaje mínimo en proteína del 91% en peso, un 6% en peso de cenizas y un 3% en peso de humedad, el cual fue suministrado por Protein Technologies International (SUPRO 500E, Bélgica). La glicerina (Gly) se usó de plastificante y el zinc se incorporó a la matriz mediante sales de sulfato de zinc ($\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, MN), todos estos suministrados por Panreac Química Ldt. (España).

Preparación de masas con base proteica de soja

Esta etapa se utiliza para conseguir masas homogéneas de SPI y Gly (en relación 1:1), con o sin la adición de $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (MP). El proceso de mezclado de este estudio se llevó a cabo en un reómetro discontinuo de mezclado Haake PolyLab QC (ThermoHaake, Alemania) a temperatura ambiente (25 ± 5 °C) y 50 rpm durante 10 min, en condiciones adiabáticas.

Preparación de bioplásticos con base proteica de soja

Las masas obtenidas después del mezclado fueron procesadas mediante un moldeo por inyección (MI), a escala de laboratorio, usando una Inyectora MiniJet Piston Injection Moulding System II (ThermoHaake, Alemania). Así se obtuvieron bioplásticos con base proteica de soja. Los parámetros definidos para dicha inyección fueron: temperatura del cilindro (40 °C), temperatura del molde (70 o 90 °C), presión de inyección (550 bar aprox. durante 20 s) y presión de post-inyección (200 bar durante 300 s), dependiendo de las masas obtenidas.

Después del moldeo por inyección, los bioplásticos se sometieron a un tratamiento dehidrotérmico (DHT), que consiste en una etapa de calentamiento llevada a cabo en un horno convencional a 50 °C durante 24 h obteniendo bioplásticos secos (BPS). Esta etapa implica cierto grado de fortalecimiento de la red que ayuda a mantener la integridad de las matrices en la posterior etapa de inmersión.

Preparación de matrices con base proteica de soja

Con la finalidad de preparar las matrices con base proteica de soja, primero, se llevó a cabo una etapa de inmersión del bioplástico BPS en un recipiente cerrado durante 24 h. En esta etapa, prácticamente toda la glicerina se liberó al agua (AGM) como en estudios previos [7]. Además, algo de proteína y/o micronutriente también

pudo liberarse. Finalmente, las matrices proteicas hinchadas (MPH) después de la inmersión se sometieron a un tratamiento de liofilización, consistente en una primera etapa de congelación de la matriz durante 2 h a -40 °C y una etapa de liofilizado en un equipo liofilizador LyoQuest (Teslar, España) a -80 °C y vacío durante 24 h con el objetivo de eliminar toda el agua por sublimación y obtener así las matrices proteicas secas (MPS).

Caracterización de las matrices proteicas de soja con zinc

En primer lugar, se realizaron medidas de espectroscopía de emisión atómica plasmática acoplada inductivamente (ICP-AES) con la finalidad de determinar el contenido de zinc de las matrices finales, usando un ICP SpectroBlue TI (Spectro, Alemania). Las matrices secas (MPS) se sometieron a un tratamiento previo de digestión por microondas con la ayuda de ácidos (HNO_3 y H_2O_2 en proporción 7:1), y, seguidamente, la muestra pasó a una antorcha de plasma a una temperatura alrededor de los 6000 K, midiendo las longitudes de onda características de los átomos e iones de la muestra.

Por otro lado, también se realizaron medidas reológicas en modo de compresión, usando un analizador dinámico-mecánico RSA3 (TA Instrument, EE.UU.) con una geometría plato-plato de 8 mm de diámetro. Se realizaron, en primer lugar, barridos de deformación entre 0,002 y 2% a una frecuencia constante de 1 Hz para determinar el intervalo viscoelástico lineal. A continuación, se llevaron a cabo barridos de frecuencia desde 0,02 a 2 Hz y a una deformación dentro del intervalo viscoelástico lineal antes estudiado. Así, se comparó el módulo elástico y la tangente de pérdidas a 1 Hz (E'_1 y $\tan(\delta_1)$, respectivamente) para realizar una adecuada comparación de los sistemas.

Por último, la distribución de la concentración de zinc para las matrices MPS estudiadas se analizó mediante análisis dispersivos de energía de rayos X (EDAX), usando un microscopio electrónico de barrido JEOL 6460LV (EE.UU.). El objetivo de estas medidas es la detección del zinc tanto en la superficie como en el interior de la matriz. Los análisis se realizaron por duplicado en diferentes áreas de la matriz, que se recubrió de oro/paladio y se aumentó 100 veces.

Análisis estadísticos

Se realizó al menos tres medidas de casa muestra. El análisis estadístico se obtuvo mediante un test de comparación de medias (test de t de Student) y realizando un análisis de varianza (ANOVA, $p < 0,05$) mediante el paquete estadístico SPSS

18. Además, se calcularon las desviaciones estándar de algunos parámetros seleccionados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Métodos de preparación de matrices proteicas de soja con zinc incorporado

Los distintos procesos usados para incorporar la sal de zinc a las matrices proteicas de SPI están delineados en el diagrama de la Figura 1.

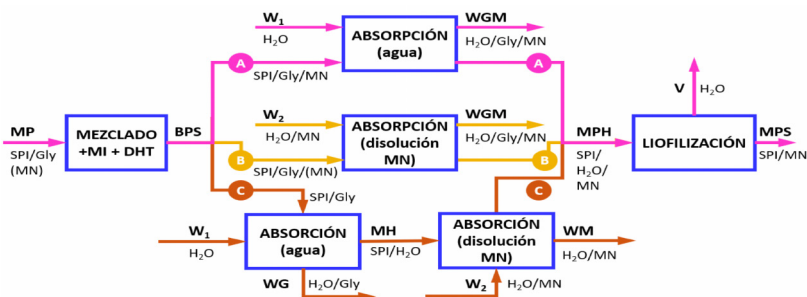


Figura 1. Diagrama de los diferentes procesos de obtención de matrices proteicas de soja con zinc incorporado. SPI: aislado proteico de soja. Gly: glicerina. MN: sal que contiene el micronutriente ($ZnSO_4 \cdot H_2O$ en el mezclado y $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ en la absorción).

En el método A, se mezcló junto con SPI y Gly (1:1) un 10% en peso de $ZnSO_4 \cdot H_2O$ (MP), seguidamente la masa se inyectó usando una temperatura de molde de $90\text{ }^\circ\text{C}$, al considerarse la temperatura óptima de trabajo para esta masa evaluados en estudios previos [7]. A continuación, el bioplástico pasó por un tratamiento dehidrotérmico, una inmersión en agua y una etapa de liofilización obteniendo así las matrices MPS con zinc incorporado.

En el método B-1, se mezcló solamente SPI y Gly (1:1), inyectándose a una temperatura de molde de $70\text{ }^\circ\text{C}$ y sometiéndose seguidamente a un tratamiento dehidrotérmico. A continuación, el bioplástico BPS se sumergió en una disolución de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ obteniendo la matriz hinchada que luego se seca mediante un proceso de liofilización.

Otro de los métodos usados se denomina B-2, este método consiste en una combinación de los métodos A y B-1, incorporando el zinc tanto en la etapa de mezclado como en la de inmersión.

Por último, se probó un método alternativo (método C), en el que el zinc se incorporó mediante una inmersión en una disolución saturada de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, pero

incorporando una etapa previa de inmersión en agua. El objetivo de esta etapa previa es que la matriz se hinche antes de la incorporación de zinc, con la finalidad de que pueda incorporar más micronutriente en su interior.

La cantidad de zinc incorporada en cada matriz MPS, medido mediante ensayos de ICP-AES, se muestra en la Tabla 1. Se puede observar como el método A es el que menos zinc incorpora, debido posiblemente a que la mayor parte del zinc se pierde en la inmersión con agua ya que se incorpora en forma de sal muy soluble. El método B-1 y B-2 tienen porcentajes de incorporación parecidos, donde el método B-2 registra un poco más de zinc debido a la doble incorporación (mezclado e inmersión). Por último, el método C es el que más zinc incorpora debido, posiblemente, a la incorporación de la etapa previa de inmersión con agua, que abre los poros de la matriz permitiendo que haya más espacio libre para la incorporación del zinc.

Table 1. Concentración en peso de Zn^{2+} obtenidos en los análisis de ICP-AES y EDAX de las matrices proteicas secas (MPS) obtenidas por los diferentes métodos de incorporación de zinc.

Matrices MPS	ICP-AES	EDAX	
	% Zn^{2+}	% Zn^{2+} Superficie	% Zn^{2+} Interior
Método A	1,8	5,0 ± 0,1 ^a	4,2 ± 0,6 ^b
Método B-1	10,5	27,2 ± 2,6 ^{ce}	19,6 ± 3,5 ^d
Método B-2	12,6	27,5 ± 0,5 ^c	24,0 ± 0,7 ^e
Método C	18,4	30,2 ± 0,2 ^f	32,2 ± 2,3 ^f

Caracterización de las matrices proteicas de soja con zinc

La Figura 2 muestra los valores del módulo elástico y la tangente de pérdidas a 1 Hz (E'_1 y $\tan(\delta_1)$, respectivamente) obtenidos a partir de los barridos de frecuencia. Se puede observar como las matrices obtenidas por una inmersión directa en una disolución saturada de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ (B-1 y B-2) exhiben valores similares de E'_1 , los cuales son mayores que los valores de E'_1 obtenidos para las matrices que tuvieron una etapa de inmersión en agua (A y C), los cuales también son similares entre sí. Este comportamiento puede atribuirse al grado de hinchamiento presentado por las matrices cuando se introducen en la inmersión con agua (A y C), ya que al ser significativamente mayor hace que el espacio libre de la matriz también lo sea. Este efecto no se produce en las matrices introducidas en la inmersión con sal (B-1 y B-2), mostrando así estas últimas una estructura más rígida. En cuanto a los valores de $\tan(\delta_1)$, son todos menores a 0,2, lo que demuestra que, independientemente del grado de hinchamiento de la matriz, estas presentan un remarcable carácter sólido. Además, los valores de $\tan(\delta_1)$ no presentan diferencias significativas entre ellos, demostrando que la relación entre E' y E'' no se ve afectada por el cambio de procesado.

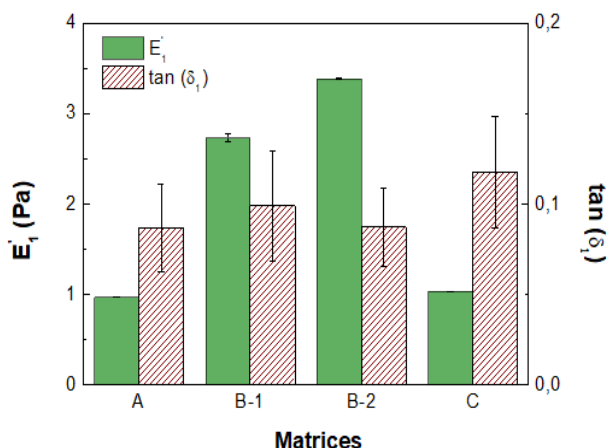


Figura 2. Módulo elástico (E'_1) y tangente de pérdidas ($\tan(\delta)_1$) obtenidos a 1 Hz a partir de los barridos de frecuencia realizados las matrices proteicas secas (MPS) procesadas por los diferentes métodos.

En cuanto a la distribución del zinc en las diferentes matrices, esta se puede observar en la Tabla 1. Se puede observar que, en la matriz obtenida por el método A, el zinc se distribuye homogéneamente a través de la matriz debido a que este se introduce en la etapa de mezclado homogeneizándose con el resto de las materias primas. En la matriz obtenida por el método B-1, el porcentaje de zinc que entra en el interior de la matriz es mucho menor que el que se queda en la superficie. Este resultado, puede ser debido a un posible recubrimiento del zinc, el cual no permite la introducción del mismo en el interior de la matriz. En el caso de la matriz procesada por el método B-2, se observa el mismo efecto, sin embargo, de manera menos pronunciada, posiblemente por la incorporación de zinc que se realizó también en el mezclado. Finalmente, la matriz obtenida por el método C, es la que presenta más zinc, siendo homogénea su distribución tanto en la superficie como en el interior. Este resultado puede ser debido a un incremento del tamaño de poro en la inmersión con agua previa, que ayuda a que el zinc se incorpore dentro de la matriz, previniendo la formación del recubrimiento.

CONCLUSIONES

Las matrices proteicas de soja pueden considerarse materiales naturales y renovables con gran atractivo para la incorporación y posterior liberación de micronutrientes que son esenciales para el desarrollo y salud de las plantas, evitando los típicos excesos de los fertilizantes convencionales. Se han obtenido resultados prometedores de carga de micronutriente en las matrices con base proteica de soja, con propiedades mecánicas adecuadas para su posterior tratamiento industrial y comercialización.

Así, se ha incorporado a la matriz una cantidad importante de un micronutriente esencial para la planta (Zn). No obstante, se plantean, en el futuro, estudios sobre la liberación controlada de este micronutriente a las plantas, así como la asimilación por las mismas, de manera que permita evaluar la funcionalidad de estas matrices con micronutriente incorporado.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte de un proyecto financiado por MINECO/FEDER, EU (CTQ2015-71164-P). Los autores agradecen su financiación. A su vez, los autores agradecen la beca predoctoral FPU17/01718 de Mercedes Jiménez y la beca predoctoral del VPPI-US de Víctor Pérez. Los autores también agradecen el acceso y la asistencia del servicio de microscopía y microanálisis del CITIUS (Universidad de Sevilla).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] The Agricultural Act (2014). Sección 10010, *Public Law 113-79*. EE.UU.
- [2] FEDEX (2018). Seguimiento mensual del consumo hortifrutícola 2017 en hogares. Recuperado de: <http://www.fepex.es/datos-del-sector/consumo-frutas-hortalizas> (08/11/2018).
- [3] Hazell, P. y Wood, S. (2008). Drivers of change in global agriculture. *Philosophical Transaction of Royal Society of London: Biological Sciences*, 363, pp. 495-515.
- [4] Muscanescu, A. (2013). Organic versus conventional: advantages and disadvantages of organic farming. *Economic Engineering in Agriculture and Rural Development*, 13, pp. 253-256.
- [5] Guo, G., Zhang, C., Du, Z., Zou, W., Tian, H., Xiang, A. y Li, H. (2015). Structure and property of biodegradable soy protein isolate/PBAT blends. *Industrial Crops and Products*, 74, pp. 731-736.
- [6] Saenghirunwattana, P., Noomhorm, A., y Rungsardthong, V. (2014). Mechanical properties of soy protein based "green" composites reinforced with surface modified cornhusk fiber. *Industrial Crops and Products*. 60, pp. 144-150.
- [7] Jiménez-Rosado, M., Pérez-Puyana, V., Cordobés, F., y Romero, A. (2018). A development of soy protein-based matrices containing zinc as micronutrient for horticulture. *Industrial Crops and Products*. 121, pp. 345-351.