



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Almidón termoplástico para el diseño
de aplicaciones medioambientalmente
sostenibles

Daniel Domene López



Tesis **Doctorales**

UNIVERSIDAD de ALICANTE

Unitat de Digitalització UA

Unidad de Digitalización UA



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Almidón termoplástico para el diseño de aplicaciones medioambientalmente sostenibles

Universitat d'Alacant
Daniel Domene López
Universidad de Alicante

Tesis doctoral

Alicante, octubre 2020



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA

ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR

**ALMIDÓN TERMOPLÁSTICO PARA EL DISEÑO DE
APLICACIONES MEDIOAMBIENTALMENTE
SOSTENIBLES**

AUTOR:

Daniel Domene López

Tesis presentada para aspirar al grado de

DOCTOR POR LA UNIVERSIDAD DE ALICANTE

PROGRAMA DE DOCTORADO EN INGENIERÍA QUÍMICA

DIRECTORES:

Dr. Ignacio Martín Gullón

Dr. Juan Carlos García Quesada

D. Ignacio Martín Gullón y D. Juan Carlos García Quesada, ambos Catedráticos del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Alicante

HACEMOS CONSTAR QUE:

D. Daniel Domene López, Graduado y Máster en Ingeniería Química, ha realizado en el Instituto Universitario de Ingeniería de los Procesos Químicos, así como en el Departamento de Ingeniería Química, de la Universidad de Alicante, bajo nuestra dirección, el trabajo que lleva por título

**“ALMIDÓN TERMOPLÁSTICO PARA EL DISEÑO DE APLICACIONES
MEDIOAMBIENTALMENTE SOSTENIBLES”**

constituyendo su memoria para aspirar al grado de Doctor, reuniendo, a su juicio, las condiciones necesarias para ser presentada y defendida ante el tribunal correspondiente.

Y para que así conste a los efectos oportunos, en cumplimiento de la legislación vigente, firmamos el presente documento en Alicante, a 30 de septiembre de 2020.

D. Ignacio Martín Gullón

D. Juan Carlos García Quesada

Para Papá, Mamá y Alejandro

“¿Conoces el cuento de La Sirenita? Si lo tuviéramos que contar hoy, hablaríamos de una sirenita nadando en un mar de plástico”

Exordio inspirado en las ilustraciones de Baptiste Drausin

“Cuando hay lo que hay, hay lo que hay”

Mago Moore

Universitat d'Alacant

“Gran parte de las dificultades por las que atraviesa el mundo se deben a que los ignorantes están completamente seguros y los inteligentes llenos de dudas”

Bertrand Russel

Agradecimientos

“Es de bien nacido ser agradecido”

El primero de mis agradecimientos lo dirijo al lector de este documento por haber decidido dedicar su tiempo a escudriñar este trabajo. Una de mis mayores pretensiones ha sido la de elaborar un texto inteligible y sencillo, que pudiera ser fácilmente comprendido por el nesciente al mismo tiempo que le resultara atractivo al docto. Por ello, a ti te dirijo mi agradecimiento sincero por haber sido un foco inconsciente de inspiración. Pero agradecer, tal como indica la Real Academia Española, es el sentimiento que nos obliga a corresponder el favor que alguien nos ha hecho. Bajo esta premisa, muchas son las personas a las que tendría que corresponder en estas líneas por acompañarme, apoyarme, aconsejarme, por ser propositivas y colaborar conmigo durante todos estos años, por lo que si alguna de ellas no es nombrada explícitamente a continuación le pido disculpas, pues no habrá sido un acto consciente, aclarando que mi gratitud supera la escritura en papel, por lo que le pido que se sienta igualmente incluida en estos agradecimientos.

Todavía hoy recuerdo que en tercero de grado decidí jugar con un poco de ácido nítrico y unas minas de lápiz con el objetivo de obtener grafeno (que por aquella época aparecía continuamente en los medios) ¿El resultado de aquel experimento? un polvo negro y la convicción de que había descubierto algo merecedor de un galardón similar al de Geim y Novosiólov. En aquel instante pensé en mi profesor de tecnología de materiales, el que nos había hablado sobre este material, por lo que no dudé en visitar su despacho. Tras una corta conversación, mi profesor concluyó que aquello que yo le llevaba guardado en un tubo de ensayo no era algo más que un grafito sin mayor interés, pero sus siguientes palabras marcaron en gran medida mi destino: *“Daniel, no tienes ni idea de como fabricar grafeno ¿te gustaría aprender?”* Así comenzó mi relación con la ciencia y la investigación. Este profesor es Ignacio Martín. Con él he tenido la oportunidad de explorar y descubrir, retándome cada día a seguir aprendiendo. Con los años, Nacho se ha convertido en un referente para mí, llegando a ser un gran amigo con el que todavía me quedan muchas anécdotas por vivir pues, como él bien sabe, el final de esta etapa académica solo marca el comienzo de una nueva aventura empresarial que seguro nos traerá muchas alegrías.

Durante todos mis años en la universidad siempre me he sentido atraído por la representación estudiantil, lo que me llevó a conocer al que, por aquel entonces, era el subdirector del grado, el profesor Juan Carlos García, JC, como le llamo con cariño. Él también ha sido un referente para mí todo este tiempo. Desde bien pronto coincidimos en multitud de comisiones y reuniones, en las que siempre atendió nuestras súplicas con el filtro de la comprensión, algo que le agradeceré

siempre. Con JC siempre se hacía todo más fácil, además de tener siempre un buen consejo o una buena anécdota que contar, convirtiéndose rápidamente en un gran amigo. JC me ha inspirado, ha agitado mi zona de confort poniéndome a prueba cada vez que visitaba el laboratorio (todavía hoy lo hace), siendo una explosión de ideas y un torbellino de creatividad. Siempre bromeo con él diciéndole que nunca se equivoca, y es que sus locas predicciones dan en la diana la mayoría de las veces, cosa por lo que solo puedo admirarlo.

El caprichoso destino quiso que JC y Nacho comenzaran a trabajar en equipo, abriendo una nueva línea de investigación en el grupo, en la que ambos me invitaron a participar, convirtiéndose de esta manera en mis directores de tesis. Darles las gracias por la oportunidad no reflejaría toda la gratitud que siento hacia ellos, por lo que he de sumarle un agradecimiento por acompañarme estos años, otro por los momentos que hemos vivido, dos más por su apoyo y arenga y así podría seguir sumando, por lo que solo me queda decirles, mil gracias.

A Mercedes quiero hacerle una mención especial, pues con ella he tenido la suerte de colaborar en los últimos dos años, esperando que sean muchos más, y la que para mí ha sido mi tercera directora, convirtiéndose desde el primer día en un contrapeso a mis ideas, ayudando en muchas ocasiones a focalizar las preguntas necesarias para continuar con la investigación. No puedo más que admirarle, por su perseverancia, su actitud incansable y su demostrada fortaleza. Le deseo el mejor de los éxitos en su nueva etapa con el pequeño Alfonso y agradezco todo el tiempo que me ha dedicado. Muchas gracias Mercedes.

Ya en el grupo de investigación, rápidamente comencé a colaborar con Rubén, que posteriormente se convertiría en un buen colega y al que le tengo un gran aprecio. Al poco tiempo viajó a Kentucky a realizar su tesis en el CAER y el caprichoso destino nos volvió a unir en la CARBON 2019 en Lexington, dónde presenté un trabajo en el que habíamos trabajado juntos tiempo atrás. A Rubén siempre le agradeceré su trato cercano y sus buenos consejos, además de ser una de las personas que más admiro pues, como se dice por aquí, es un fuera de serie. Al mismo tiempo, en aquella época conocí a Gloria, pronto amiga y siempre disponible para escuchar atenta, con la que pasé horas interminables en el laboratorio y que siempre estaba preparada para lanzarme un “*no te disperses y deja de marear*” con su acento *granaino* que era incapaz de ocultar cuando yo le proponía una idea alocada. También en el grupo de investigación conocí a Lumi, quien a mis ojos siempre ha sido una mujer luchadora y admirable, sin duda una persona talentosa en la que me gustaría reflejarme, y con la que comparto muchos valores, siempre agradecido Lumi. Aprovecho aquí para agradecer también a los demás miembros de su equipo en Applynano, con las que tengo una colaboración estrecha, Noelia, Blanca y María Dolores, por su disponibilidad y cercanía.

Para Juani un agradecimiento más que merecido pues, aunque breve fue su estancia con nosotros, sentó alguna de las bases que nos han permitido crecer en nuestra investigación, además de inundar el laboratorio con una alegría enorme. Sin duda una excelente investigadora y una mejor persona. Muchas gracias por todo Juani, espero que la vida nos vuelva a reunir en algún momento.

Al resto de mis compañeros del grupo de investigación también les mando un agradecimiento sincero, el trayecto no hubiera sido igual sin ellos. Gracias Oksana, Andrea, Yuriy, Vero, Aurora y, especialmente, María. También al resto de compañeros del programa de doctorado, Daniel, Juan D., Alba, Natalia, Emilio, Paloma y Juan, el que acuñó con el término “nanocosas” lo que él pensaba que hacíamos en el laboratorio.

Durante todo este tiempo numerosos estudiantes han colaborado con nosotros en las tareas de investigación del grupo, y también quiero reconocerles mi agradecimiento por todos los momentos que hemos vivido dentro y fuera del laboratorio: Aaron, María del Mar, Bernardo, José Luis, Eva, Adelia, Jennifer y Rachael. De todos ellos me llevo su simpatía y compromiso.

Mi amigo Pepe se habrá sorprendido al no ver su nombre en la lista anterior, pues se habrá dado cuenta de mi esmero para nombrarlos en orden cronológico, pero no se ha encontrado entre ellos. Él comenzó como estudiante y acabó como uno de mis grandes amigos, siempre colaborador, disponible para todo, hasta para aprender a patinar. No puedo estar más orgulloso de él por sus avances y proyección, y estoy agradecido de todo lo que hemos aprendido juntos estos años (incluido “*ir en V2*”, referencia que él conoce y que seguro le hace ilusión leer aquí). Gracias Pepe, has sido un gran apoyo y, ahora que comienza tu momento, siempre podrás contar conmigo.

Desde el otro lado del atlántico vino a colaborar con nosotros Matt, con el que por fin conseguimos poner a punto la caracterización con el AFM y que se verá reflejada en una futura publicación. Con él y Pepe he vivido los momentos más desternillantes. Gracias por todo chicos.

También desde el otro lado del atlántico mi buena amiga Eliana, siempre con una sonrisa en su mirada, me enseñó el buen acento colombiano. Muchísimas risas y bailes, su cercanía y amistad, junto con las largas caminatas tras un largo confinamiento de 3 meses, hicieron esta última etapa mucho más fácil. Siempre agradecido Eli (“*Mire usted ¡hijoepucha que mamera!*”).

Sin duda estos años no hubieran sido lo mismo sin mi amiga Zuri. Con ella he trabajado y colaborado, hemos ido de congreso y hasta hemos organizado la conferencia nacional de Python en la Universidad de Alicante, movilizando a una comunidad de más de 900 personas, un gran reto sin duda. Zuri es admirable, descubrió tarde su pasión pero no dudó en perseguirla, mostrando que la valentía no es solo una palabra más en el diccionario, enseñándome una de las lecciones más importantes. Pero nada de lo anterior es más importante que el cariño que nos tenemos y el

apoyo que nos hemos brindado estos años, se puede decir que nuestra amistad ya es sempiterna. Muy orgulloso de ti Zuri, la siguiente tesis es la tuya.

Al resto de compañeros del departamento, los que me han ayudado en algún momento con las tareas de rutina: M^a Luisa, Carmen, Pilar, Ana, José, Manolo A., Manolo R., David, Fran y, muy especialmente, Estefanía, a la que ella sabe que le tengo un aprecio muy especial. También al resto de técnicos que nos han ayudado en la caracterización de los materiales: a mis chicas de microcopia, Cristina, Vero y Alba; Ion y Sara, entre un gran etcétera.

No me olvido del resto de profesores del grupo: Andrés F., con el que acuerdo y desacuerdo a partes iguales; Juan C., al que aprecio especialmente; Julia y Nacho A., con el que siempre se puede contar y al que agradezco tener entre mis amigos. Finalmente, quiero expresar mi agradecimiento a Andrés Montoyo, cuyas enseñanzas las he podido aplicar tanto a mi vida personal como profesional, aprendizajes los suyos que no vienen en los libros de texto.

Uno no vive solo en la Universidad, y los amigos de toda la vida también suponen un apoyo importante en los momentos difíciles, siendo potenciadores de las emociones en los éxitos conseguidos. Mis amigos Antonio y Jorge, los que conozco desde hace más de 20 años y considero como parte de mi familia, siempre me han acompañado en mis aventuras y no sería menos en esta. Gracias por estar ahí.

También a mi gran amigo Miguel Ángel, el que tiene una calidad humana inmensa y del que aprendo siempre que converso con él, al que admiro por su grandeza y humildad, y al que agradezco su colaboración estos años, especialmente en esta última etapa.

Por último, me gustaría agradecer a mi familia por acompañarme todos estos años. Siempre han respetado todas mis decisiones y me han apoyado en ellas. De mi madre recuerdo siempre su compromiso, valor que se ha esmerado en enseñarme, mientras que de mi padre destaco su habilidad para obligarme a dar lo mejor de mí. Siempre recuerdo sus palabras: *“las cosas con mala gana...”*, queriendo decir que siempre hay que hacer las cosas lo mejor posible. Sin duda soy lo que soy gracias a ellos, por lo que inevitablemente parte de su esencia está reflejada en mi trabajo, no pudiendo estar más agradecido por ello. A mi hermano Alejandro, la persona que más quiero, a pesar de la distancia, y de la que más me acuerdo, aunque no se lo diga muy a menudo. Al resto de mi familia, a mi abuelo, mis tíos y mis primos, porque siempre puedo contar con ellos.

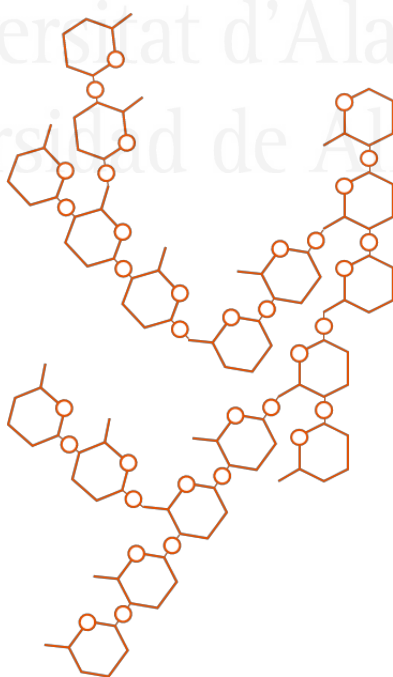
A todos ellos, muchas gracias.



SECCIÓN I

Introducción, objetivos y resumen de resultados

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



Sección I: Introducción, objetivos y resumen de resultados.

1.	Introducción.....	15
1.1.	Contaminación por residuo plástico: un viejo conocido	18
1.2.	Alternativas a los plásticos convencionales: Biopolímeros	22
1.2.1.	Polihidroxialcanoatos (PHA)	25
1.2.2.	Ácido Poliláctico (PLA).....	27
1.2.3.	Succinato de polibutileno (PBS)	30
1.2.4.	Tereftalato de adipato de polibutileno (PBAT).....	31
1.2.5.	Mezclas de almidón.....	33
2.	Estructura de los granos de almidón	39
2.1.	Componentes mayoritarios en los granos de almidón: amilopectina y amilosa.....	40
2.2.	Niveles de organización estructural en los granos de almidón.....	43
2.3.	Componentes minoritarios en los granos de almidón: monoésteres fosfato, lípidos y proteínas	45
2.4.	Extracción del almidón desde la fuente botánica	46
3.	Almidón Termoplástico (TPS).....	49
3.1.	Gelatinización, sinéresis y retrogradación	50
3.2.	Filmes de TPS.....	52
3.3.	Técnicas para la producción de filmes de TPS	59
3.3.1.	Procesado de TPS mediante “casting”	60
3.3.2.	Procesado de TPS mediante mezcla en fundido	61
3.3.3.	Procesado de TPS mediante extrusión.	63
4.	Objetivos de la investigación	67
5.	Resumen de Resultados	69
5.1.	Artículo 1: “Influence of Starch Composition and Molecular Weight on Physicochemical Properties of Biodegradable films”.....	70
5.2.	Artículo 2: “Comparative study on properties of starch films obtained from potato, corn and wheat using 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate as plasticizer”.....	71
5.3.	Artículo 3: “Electroconductive starch/multi-walled carbon nanotube films plasticized by 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate”.....	72
5.4.	Artículo 4: “Study of the behavior of biodegradable starch/polyvinyl alcohol/rosin blends” ...	73
6.	Colaboraciones con otros grupos de investigación	77
7.	Conclusiones generales.....	79
8.	Referencias.....	83



1. Introducción

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Los materiales plásticos han demostrado ser una de las mayores invenciones que ha ideado el ser humano. Su liviandad, resistencia y poca reactividad química han hecho que hoy día se puedan encontrar en prácticamente todos los lugares y en todas las aplicaciones. Sin ir más lejos, recientemente se ha comprobado la gran dependencia que la sociedad tiene en este tipo de materiales debido a la crisis sanitaria provocada por la pandemia global del COVID-19. Estos plásticos, provenientes de fuentes fósiles no renovables, tienen una producción anual que supera los 350 millones de toneladas (lo que supone una fracción muy pequeña respecto de la cantidad de petróleo que se emplea en aplicaciones energéticas, principalmente combustibles^a) y las previsiones en cuanto a su producción no hacen más que aumentar, superando los 400 millones de toneladas en la próxima década. Y es que, la funcionalidad que ofrecen los plásticos es difícilmente sustituible hoy día.



Figura 1.1. Ejemplos de productos fabricados con materiales plásticos (Fotos distribuidas de manera gratuita por la plataforma Pixabay y bajo las condiciones de “Pixabay Licence”).

Lamentablemente, las mismas características que hacen de los plásticos unos materiales tan útiles, son las que provocan, al mismo tiempo, que se conviertan en los potenciales actores de un problema medioambiental de una gravedad suficiente como para que las administraciones hayan puesto su foco en él. Y es que, la contaminación por residuos plásticos es una realidad sobre la que no se puede mirar hacia otro lado, llegando incluso hasta la puerta de nuestras casas (Figura 1.2). La contaminación por residuo plástico supone la acumulación de objetos y partículas (botellas, bolsas, bastoncillos...) en la naturaleza. Estos residuos se pueden categorizar como micro-, meso- o macroplásticos que, debido a su naturaleza química, son resistentes a la mayoría de procesos de degradación, permaneciendo en la naturaleza durante periodos de tiempos muy amplios, llegando a varios cientos de años^{1,2}. Esta contaminación afecta tanto a los terrenos y vías

^a Aproximadamente, un 4% de petróleo se emplea para la fabricación de productos plásticos, mientras que el porcentaje destinado a la fabricación de combustibles (gasolina, diésel, queroseno...) supera el 75% del total.

fluviales, como a los océanos y otro tipo de ecosistemas marinos. Contextualizando el problema, desde el año 2015, del total de residuos plásticos producidos, tan solo el 12% fueron incinerados y, algo menos del 10%, reciclados. El resto acabó en vertederos o en el medioambiente. Adicionalmente, se calcula que 10 millones de toneladas de residuos plásticos acaban cada año en el mar. Algunas estimaciones afirman que, para el año 2050, habrá más plástico en los océanos que peces.



Figura 1.2. Efectos de la contaminación por residuos plásticos en diferentes ecosistemas. Destacan la imagen del caballito de mar, fotografiado por Justin Hofman y premiada en varios certámenes fotográficos; y las imágenes inferiores, que muestran una zona ajardinada de San Vicente del Raspeig (Alicante) y de la Universidad de Alicante, donde se observa como los residuos plásticos han llegado a todos los lugares.

En los últimos años, las administraciones han legislado con la finalidad de reducir este tipo de contaminación^b, poniendo especial énfasis en aquellas aplicaciones plásticas de un solo uso, causantes directamente de casi el 40% de todos los residuos plásticos en el medioambiente. Además, los centros de investigación trabajan día a día para conseguir un sustituto viable a este tipo de materiales. Esta última estrategia es la más interesante pues, si no se puede cambiar el modelo de uso de los materiales plásticos, lo mejor que se puede hacer es cambiar el material con el que se fabrican esos productos plásticos con la finalidad de tener productos que sean completamente respetuosos con el medio ambiente.

El objetivo principal de la investigación presentada en este documento ha sido la profundización en esta estrategia. Esto es, en la elaboración de nuevos materiales biobasados, biodegradables e hidrosolubles, que sean capaces de sustituir de manera real y eficaz a los polímeros convencionales en aplicaciones de un solo uso, como las empleadas en el sector del embalaje o la alimentación. El presente documento, se divide en tres secciones claramente diferenciadas. En la primera se expone una revisión sobre el problema medioambiental provocado por los residuos plásticos, así como una descripción detallada de las alternativas biopoliméricas que, actualmente, se encuentran en el mercado. Seguidamente se realiza una introducción a los materiales basados en almidón termoplástico (TPS), prestando especial atención a la estructura y composición de los granos de almidón como principal protagonista de esta tesis doctoral. También en esta primera sección se detallan los objetivos de la investigación, así como los principales resultados obtenidos en la misma. En la segunda sección se adjuntan los artículos publicados que componen esta tesis y, finalmente, en la tercera sección, se presentan los anexos. En este último apartado, debido a su carácter más técnico, se expone una descripción de las metodologías y herramientas utilizadas para la realización de los ensayos descritos en las publicaciones mostradas en sección 2.

1.1. Contaminación por residuo plástico: un viejo conocido

Aunque es ahora cuando la contaminación por residuos plásticos se encuentra más visibilizada, no es una cuestión de hace unos pocos años, sino que este problema se viene reportando desde hace décadas. Sin ir más lejos, en el año 1974, John B. Colton³ y su equipo, publicaron un estudio en el que concluían que más del 62% de las especies de plancton estudiadas contenían residuos plásticos. Estas muestras fueron obtenidas en las zonas del Atlántico oeste, frente a las costas de Estados Unidos y las islas caribeñas. Estas mismas evidencias se encontrarían décadas después en el Atlántico Noroeste⁴.

^b En Europa están vigentes las directivas 2015/720/EU y 2019/904/EU para la reducción de materiales plásticos de un solo uso susceptibles de contribuir a la contaminación por plástico.

Una de las primeras referencias que se tiene sobre la contaminación por residuos plásticos (refiriéndose a este problema con estos términos) data del año 1991, cuando Gregory Murray⁵ publicó su trabajo “*The hazards of persistent marine pollution: drift plastics and conservations islands*”. Murray constata que cada vez se encuentran, con mayor frecuencia, todo tipo de desechos visibles en las costas, tanto en núcleos poblacionales como en islas remotas, poco visitadas o, incluso, inhabitadas. Ya en este trabajo se hablaba de microplásticos (*debris*) y su problemática para la fauna y la flora marina. Adelantándose a su tiempo, en este mismo trabajo se realiza una reflexión sobre la necesidad de educar a la población sobre el problema medioambiental que genera la acumulación de desechos plásticos en el medioambiente, proponiendo que, una buena legislación al respecto, junto con los avances tecnológicos, podrían ser la solución a este problema.

En el año 2000, en el equipo de Daniele Fabbri⁶, del *Laboratorio di Chimica Ambientale de la universidad de Bologna*, analizaron los plásticos encontrados en sedimentos y material particulado suspendido en muestras extraídas del mar Adriático. En sus análisis encontraron multitud de materia orgánica (compuestos húmicos y material planctónico principalmente) pero, además, resinas y gomas sintéticas. La pirolisis de estos compuestos mostró un alto nivel de estireno y benceno, además de una serie de hidrocarburos aromáticos, claro indicativo de la presencia de polímeros vinílicos (PVC, PS...). En el trabajo se concluye que la presencia de estos plásticos era debida a la actividad industrial de la zona. También ese mismo año, George D. Jackson⁷ y su equipo, publicaron unos resultados sobre la alimentación de grandes peces pelágicos^c cerca de las Islas Malvinas. Estos investigadores se vieron sorprendidos por la presencia de plásticos en los estómagos de los peces estudiados (hasta un 14% en masa del material analizado). Estos plásticos eran de origen variado, pero destacaban las colillas de cigarrillos, servilletas y otros plásticos provenientes de productos alimenticios, dejando clara evidencia sobre la contaminación por residuo plástico en aquella zona del Atlántico. Pocos años más tarde ya se hablaría de la “Era del plástico”, definida como la habilidad de proliferación de este material en innumerables tamaños, formas y colores en todo el ecosistema oceánico mundial⁸. Este fenómeno no solo afectaba a la vida dentro del océano, sino que también a multitud de especies de aves marinas, como al albatros ondulado^d, que ha visto reducida su población en las últimas décadas debido, entre otras causas, a la ingesta de plásticos⁹. Además, algunos autores contribuyen el incremento de neoplasias^e en animales a los efectos de las toxinas aportadas por

^c Peces que viven en la parte del océano que está sobre la zona pelágica (mar abierto) y cerca de su superficie.

^d También conocido como Albatros de las Galápagos (*Phoebastria irrorata*), fue incluido como especie en la lista roja de la Unión por la Conservación de la Naturaleza (IUCN) en 2008 por su riesgo inminente de extinción.

^e Masa anormal de tejido que, en el caso de ser maligna, también es conocido como cáncer.

los plásticos en el medio, poniendo como ejemplo los tumores faciales estudiados en el demonio de Tasmania¹⁰.

Una de las soluciones planteadas por la comunidad científica para solucionar el problema de la degradabilidad de los plásticos convencionales fue la adición de diferentes óxidos como cargas en las formulaciones poliméricas. Por ejemplo, Sampa Chakrabarti¹¹ y su equipo introdujeron óxido de zinc en matrices de PVC para comprobar la degradación fotocatalítica tras la incidencia de rayos solares, consiguiendo mejorar los tiempos de degradación respecto a otras investigaciones previas. Un problema claro de este tipo de degradación es que no se consigue degradar realmente el material, tan solo se hace más y más pequeño, incrementando de esta manera la proliferación de microplásticos en el medio. El proceso de producción de microplásticos, por la acción de la radiación solar, provoca además un incremento en la toxicidad de los mismos, debido a que los microplásticos sometidos a degradación ultravioleta pueden adsorber materiales hidrofóbicos como los policlorobifenilos^f (PCB's)^{12,13}, que pueden introducirse en la cadena alimenticia de la biota^g marina¹³⁻¹⁵.

Desde la primera vez que Gregory Murray⁵ utilizó el término “*plastic pollution*” para referirse a este problema, y hasta el año 2010, la base de datos SCOPUS sólo recogía 33 artículos científicos que respondían a este término de búsqueda. A partir de ese año, se observa un punto de inflexión en esta tendencia, marcando el inicio en el que la comunidad científica puso el foco en la investigación de esta materia, llegando en solo 10 años a multiplicar por más de 20 veces el número de publicaciones con esta temática (Figura 1.3).

Actualmente, de la enorme cantidad de residuos plásticos que son vertidos cada año en los océanos, un 40% se corresponde con materiales plásticos de un solo uso y envases. Según organizaciones como Greenpeace, el 79% de los plásticos desechados hasta hoy ha acabado en vertederos o en el medioambiente, el 12% se ha incinerado y, tan solo el 9%, se ha reciclado.

Esto es una clara evidencia del problema al que se enfrenta la sociedad moderna, así como un indicativo claro de la necesidad de tomar acciones precisas, eficientes y reales para solucionarlo. De hecho, la Organización de las Naciones Unidas (ONU) ha incluido en los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) 2030^h, varios objetivos relacionados con esta temática:

^f O policlorobifenilos, son compuestos organoclorados que pueden ser muy tóxicos. Su uso estuvo muy extendido hasta la década de los 70. Su alto nivel de toxicidad y permanencia en el medio ha provocado que su uso esté prohibido en casi todo el mundo, aunque se siguen encontrando ampliamente en el medioambiente. La Unión Europea hizo efectiva su prohibición con la firma del convenio de Rotterdam (<http://www.pic.int/Portals/5/ConventionText/UNEP-FAO-RC-CONVTEXT-2017.English.pdf>).

^g Biota o biótico designa al conjunto de seres vivos que ocupan un área determinada.

^h Para más información, visitar la web de la ONU: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/>

- Objetivo 12, producción y consumo responsables: buscando un consumo y producción sostenibles que contribuyan, de manera sustancial, a la mitigación de la pobreza y la transición hacia una economía circular con bajas emisiones en CO₂.
- Objetivo 13, acción por el clima: con la finalidad de abordar la emergencia climática con el fin de salvar vidas y la transición hacia una economía verde.
- Objetivo 14, vida submarina¹: defiende la reducción de la contaminación marina y la acidificación de los océanos, entre otros retos.
- Objetivo 15, vida de ecosistemas terrestres: contempla la reducción de la contaminación de estos ecosistemas.

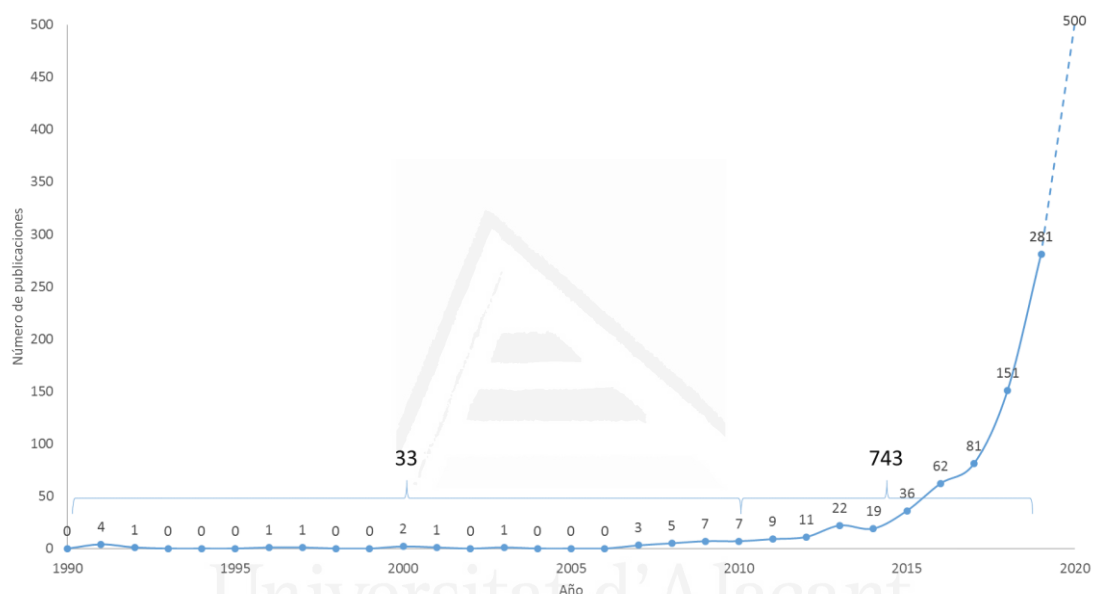


Figura 1.3. Evolución del número de publicaciones indexadas en la base de datos SCOPUS desde el año 1990, que recogen el término “*plastic pollution*”, introducido por Gregory Murray en 1991.

Los ODS de la ONU no son unos objetivos caprichosos: si en el apartado anterior se mostraban unas imágenes (Figura 1.2) para evidenciar que la contaminación por residuo plástico había llegado hasta la puerta de nuestros hogares, gracias a trabajos como el de Íñiguez et. al.¹⁶, se puede sentenciar que no solo ha llegado a la puerta, sino que ha entrado directamente en todos los hogares. En este trabajo, los investigadores concluían que habían encontrado microplásticos en todas las sales de mesa provenientes de salinas españolas. Este trabajo, que tuvo una importante repercusión mediática, viene a evidenciar la cercanía de esta contaminación, así como de la inminente necesidad de llevar a cabo acciones concretas, como las propuestas de la ONU, para conseguir atajar este problema.

¹ La conservación de los océanos es de vital importancia, pues está íntimamente ligada a la salud humana: más de 3 mil millones de personas dependen de la biodiversidad marina y costera para su sustento; los océanos absorben un tercio del CO₂ producido por los humanos; son la mayor fuente de proteínas del mundo... Actualmente, las aguas costeras se están deteriorando debido a la contaminación y la eutrofización.

Una conclusión rápida para la resolución de este problema sería la renuncia completa al empleo de cualquier tipo de producto que contenga plásticos, pero la realidad es que, actualmente, el avance y progreso que han conseguido las sociedades gracias a los plásticos hace imposible que se pueda prescindir a ellos de un día para otro. En este sentido, con la finalidad de reducir la contaminación por plásticos, y el mejor aprovechamiento de los recursos naturales, se han desarrollado estrategias de actuación que contemplan diferentes niveles: desde la reutilización de los productos plásticos, a su gestión adecuada cuando se convierten en residuo, pasando por el cambio de los materiales con los que se fabrican estos productos, siendo esta última la estrategia objeto del presente trabajo, en la que se propone una alternativa real a los materiales plásticos convencionales.

1.2. Alternativas a los plásticos convencionales: Biopolímeros

Los plásticos sintéticos modernos se inventaron a principios del siglo pasado. La mayoría de ellos se obtienen a partir de derivados del petróleo, mediante diferentes procesos de polimerización o policondensación, requiriendo ambos procesos catalizadores específicos. En un reactor de polimerización, monómeros como el etileno se unen para formar cadenas largas de polímeros, con propiedades y estructuras particulares. Hay muchos tipos de plásticos diferentes, agrupados principalmente en dos grandes familias: termoplásticos y termoestables. Mientras que los primeros se ablandan con el calor y endurecen al enfriar; los segundos nunca se ablandan una vez han sido curados. Algunos termoplásticos conocidos son el policarbonato (PC), polietileno (PE), polipropileno (PP), policloruro de vinilo (PVC) o el olitetrafluoroetileno (PTFE) conocido por su marca comercial, Teflón. Como termoestables conocidos destacan las resinas epoxi, o las gomas vulcanizadas, por ejemplo.

La crisis del petróleo de 1979, en la que los conflictos entre Irán e Irak supusieron la caída de la producción del barril de crudo (de 64 millones a 50 millones de barriles diarios), ocasionó un desabastecimiento global y un incremento enorme del precio de esta materia prima y, por tanto, de sus derivados, incluidos los polímeros sintéticos. Los estados y las empresas redoblaron entonces los esfuerzos para no depender de esta materia prima e incentivaron, en cierta medida, la investigación en nuevos materiales que no tuvieran una dependencia directa del petróleo. De esta manera, se prestó especial atención a los biopolímeros, que son polímeros provenientes de fuentes naturales y de los que ya se tenía información en aquella época: los antiguos egipcios ya empleaban resinas naturales para embalsamar a los cadáveres; o el bien conocido celuloide¹,

¹ El celuloide es el nombre comercial del nitrato de celulosa, considerado como el primer termoplástico sintético. Se atribuye su creación a los hermanos Hyatt y se empleó como sustituto del marfil en las bolas de billar. Más tarde se utilizaría para la fabricación de las películas cinematográficas hasta su sustitución por las películas de acetato. Como anécdota, en México, las muñecas Sololoy reciben ese nombre debido a la transliteración “pochista” del término inglés

ampliamente utilizado en la industria del cine. La nueva situación de polución por residuo plástico, sumada a la gran reducción de las reservas de crudo, vuelve a colocar a este tipo de materiales en primera línea.

Se considera como biopolímero a aquel que proviene directa, o indirectamente, de una fuente biológica. Actualmente, la mayoría de biopolímeros se obtienen de fuentes renovables, que normalmente son vegetales (maíz, patata, soja...) pero, además, los biopolímeros también pueden tener un origen bacteriano. Algunos ejemplos de estos materiales son el ácido poliláctico (PLA), el poli-3-hidroxitirato (PHB) e incluso el bio-polietileno (bio-PE) obtenido a partir de caña de azúcar. La calificación de un material como biopolímero no asegura que no sea un problema para el medioambiente, pues el proceso de biodegradación^k puede requerir de condiciones que no siempre se encuentran en la naturaleza. Por ejemplo, el PLA es un biopolímero que tiene su origen en la fermentación de azúcares provenientes de biomasa (principalmente derivados de almidón de maíz) pero, debido a su elevada resistencia a la humedad, entre otras propiedades, tiene tiempos de biodegradabilidad muy largos, lo que provoca que no se biodegrade de manera natural en un tiempo razonable como para no considerar su contribución al problema cuando acaba su vida útil. Ni que decir tiene que, los biopolímeros procedentes de una fuente de biomasa, como el bio-PE, no son biodegradables pues, en este caso, un bio-PE es exactamente igual que un PE procedente del petróleo. Por este motivo, para que un biopolímero sea considerado útil para la reducción de la problemática de los residuos plásticos deberá tener tiempos de biodegradabilidad cortos y, además, unas condiciones de degradación que se puedan encontrar de manera habitual en la naturaleza.

La solución actual para reducir los tiempos de biodegradabilidad de los biopolímeros son los procesos de compostaje^l, en los que se encuentran las condiciones necesarias para degradar estos polímeros en un tiempo razonable. Por ejemplo, en compostadores industriales, que trabajan por encima de 70°C, el PLA puede biodegradarse en pocas semanas, mientras que, en los caseros,

Celuloid, que tiene una pronunciación similar. Estas muñecas tuvieron mucho éxito en la década de los 20 y estaban fabricadas con yeso y recubiertas de celuloide, lo que las hacía frágiles y delicadas.

^k La degradabilidad de un material hace referencia a la capacidad de degradación del mismo mediante métodos físicos o químicos, que bien pueden ser naturales o no. La biodegradabilidad hace referencia a la capacidad del material para ser degradado por la acción de los seres vivos mediante un proceso natural en el que, por acción biológica, el material pierde sus propiedades a nivel químico, transformándolo en moléculas más simples y estables, que pueden servir como materia orgánica para el propio ser vivo. Este proceso suele involucrar condiciones de humedad y temperatura específicas y constantes en el tiempo. Un ejemplo de degradación es la provocada por los rayos UV (uno de los principales causantes de los microplásticos); mientras que un ejemplo de biodegradación sería la descomposición de los alimentos.

^l El compostaje es un proceso de biodegradación que tiene lugar en condiciones de temperatura, ventilación y humedad controladas y que no se encuentran, de manera normal y habitual en la naturaleza. En estas condiciones se transforma el residuo orgánico en un producto estable e higienizado denominado compost, que se puede emplear como abono orgánico. Se distingue como "*home compost*" cuando el proceso de biodegradación no supera los 50°C y se puede realizar en compostadores simples; mientras que se conoce como "*industrial compost*" cuando este proceso tiene lugar en compostadores industriales y llegando la temperatura a superar, en algunos casos, los 70°C.

puede demorarse varios meses; y, en condiciones normales, tardaría varios años. Las empresas, debido a la legislación, están focalizando sus esfuerzos en el diseño y producción de biopolímeros que puedan ser compostables, pues el compost presenta una multitud de ventajas: aumenta la materia orgánica en suelos agrícolas (lo que mejora su fertilidad de los terrenos); ahorra recursos y el empleo de abonos y otro tipo de químicos; disminuye la emisión de gases de efecto invernadero (CH_4 y CO_2); e, incluso, retiene el carbono en el suelo, haciendo de este un potencial reservorio del mismo. Pero a pesar de todas sus ventajas, hoy día los sistemas de compostaje presentan una serie de inconvenientes técnicos, como su elevada complejidad de implantación y operación, su excesiva dependencia en una adecuada recogida selectiva^m en los núcleos urbanos, y la necesidad de una amplia participación ciudadana en este tipo de iniciativas para que no sea un fracaso. Los datos muestran que, actualmente, casi un 80% de los residuos llegan a vertederos y al medioambiente, por lo que, hasta que este tipo de sistemas sean completamente operativos y funcionales, sigue existiendo el riesgo de contaminación por residuo plástico. Por este motivo, tiene sentido centrar los esfuerzos en la producción de materiales de origen natural que, además, puedan tener propiedades mecánicas que permitan su empleo en las aplicaciones actuales y que tengan tiempos de biodegradabilidad en condiciones normales cortos, permitiéndoles ser compostables al mismo tiempo que no constituyen un incremento de la contaminación de los ecosistemas y contribuyendo, de esta manera, a la economía circularⁿ.

En el año 2019, Figura 1.4, la producción mundial de bioplásticos superó los 2 millones de toneladas. Aunque esta cifra está muy lejos de los más de 350 millones de toneladas de plásticos convencionales producidas, es indicativa de la apuesta real que se está realizando por este tipo de materiales. De todos estos biopolímeros, algo más del 55% son biodegradables, mientras que el resto no lo son. Como se ha comentado, estos últimos, aunque proceden de un proceso bacteriano, son considerados biopolímeros aunque son exactamente iguales que su equivalente procedente del petróleo, por lo que estos materiales solo son una alternativa a la materia prima en el origen, evitando la dependencia y escasez del petróleo, pero no son una solución al problema de la

^m Se trata de la recogida segregada de los residuos para hacer posible su reciclaje y la fabricación de nuevos productos, evitando, de esta manera, que se destinen a vertederos e incineradoras, lo que supone un ahorro tanto energético, como de materias primas originarias. En algunos municipios catalanes se ha llegado a una tasa de recogida del 80%, pero este tipo de sistemas no están completamente implantados en España.

ⁿ Este concepto tiene variaciones en su significado dependiendo del autor, pero se emplea comúnmente de manera indiscriminada junto con los términos “economía de lazo-cerrado” o “economía de residuo cero”²²¹. Actualmente, son 3 las definiciones válidas para el concepto de economía circular²²²:

- Economía industrializada con flujos de materias primas que circulan a gran velocidad sin entrar en la biosfera, a no ser que lo hagan como nutrientes biológicos.
- Economía que tiene mecanismo de creación de valor desacoplados del consumo de recursos externos. En este tipo de economía el valor proviene desde dentro, gracias al aumento del valor derivado de sus estructuras, productos y materiales existentes.
- Economía industrializada que es intencionalmente restaurativa, apuntando exclusivamente hacia el empleo de energías renovables, minimizar las huellas de carbono y eliminar el empleo de productos tóxicos, así como la erradicación de los desechos producidos mediante un diseño cuidadoso con el medio ambiente.

contaminación, por lo que no se han considerado en este estudio. Como se observa también en la Figura 1.4, las mezclas de almidón, junto con el PLA y el terftalato de adipato de polibutileno (PBAT), son las alternativas biodegradables que más interés están generando, seguidas por los polihidroxicanoatos (PHA), el succinato de polibutileno (PBS) y otros biopolímeros (celulosa, lignina...). En los siguientes apartados se profundiza más en este conjunto de biopolímeros, prestando especial atención a aquellos basados en almidón.

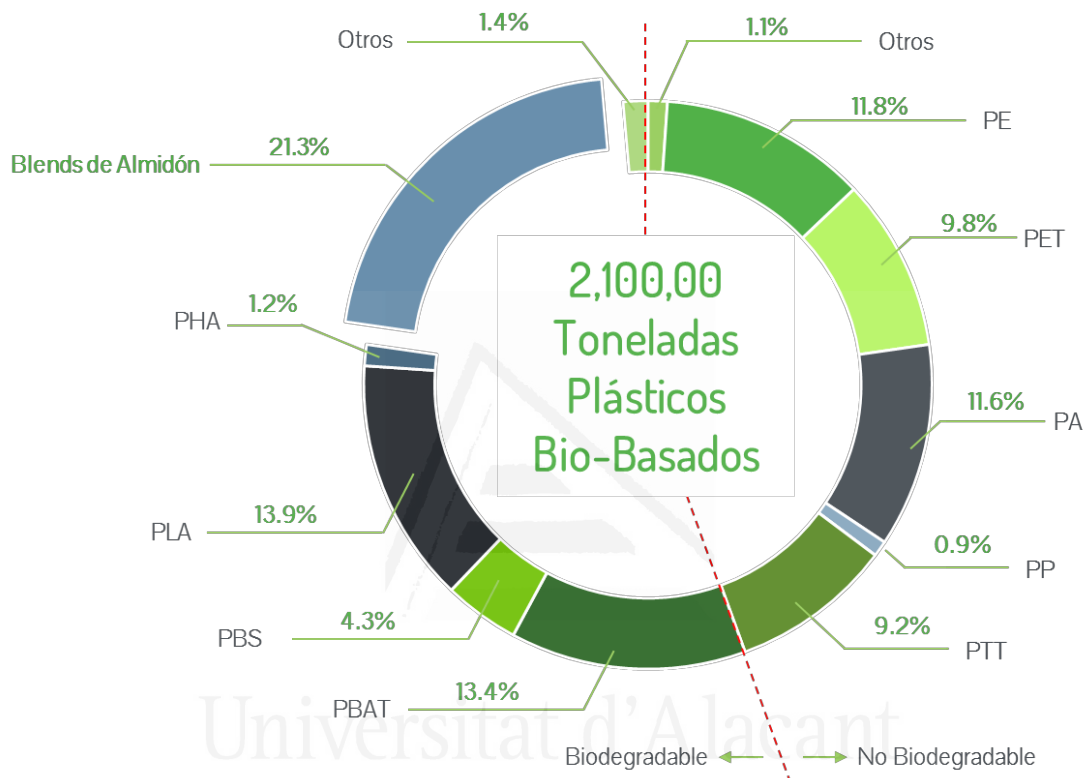


Figura 1.4. Tamaño de mercado de Polímeros Bio-Basados en el año 2019.

1.2.1. Polihidroxicanoatos (PHA)

Los PHA son poliésteres biodegradables obtenidos a partir de ácidos polihidroxicarboxílicos tras la asimilación de materia orgánica (biomasa) por parte de microorganismos bacterianos, que los emplean como fuente de almacenamiento de energía¹⁷. Fueron descritos en el año 1926^o por Lemoigne M.¹⁸, que descubrió uno de los PHA más conocidos y estudiados: el polihidroxibutirato (PHB). Los PHA se caracterizan por ser poliésteres lineales, hidrolíticamente degradables y, dependiendo de las combinaciones de los más de 80 monómeros descubiertos, pueden formar desde termoplásticos hasta elastómeros. Actualmente, existen más de 300 tipos de microorganismos capaces de acumular PHA como fuente de energía, siendo la bacteria *C. necator*

^o Se cree que estos PHA fueron descritos ya en 1888 como inclusiones encontradas en las bacterias estudiadas por el microbiólogo Martinus Willem Beijerinck, pero que no se identificó como tal hasta los descubrimientos de Lemoigne.

la más empleada para procesar PHA de manera industrial¹⁹. La Figura 1.5 muestra la forma general de los PHA junto con las combinaciones más conocidas.

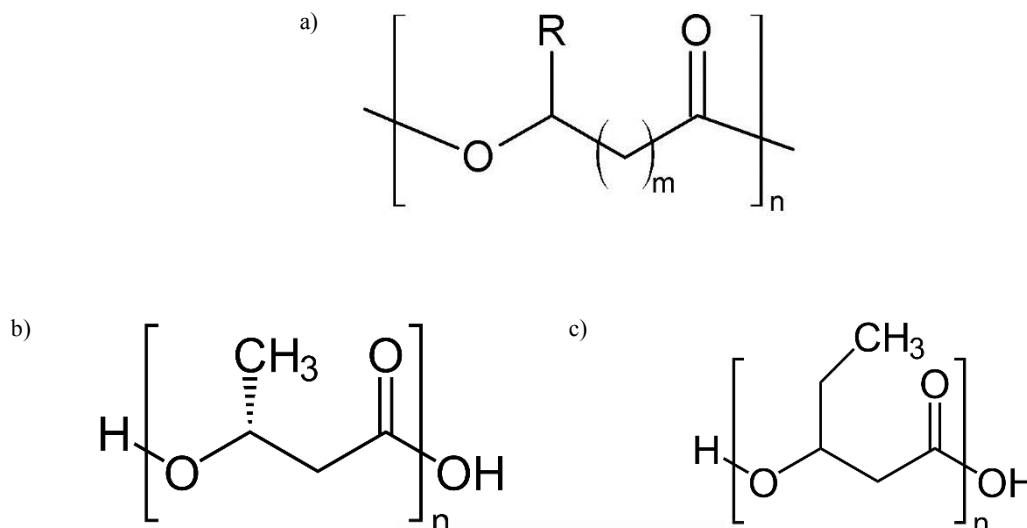


Figura 1.5. a) Forma general de los PHA, b) poli-(R)-3-hidroxibutirato (P3HB) y c) poli-3-hidroxivalerato (PHV).

La fuente de biomasa utilizada por las bacterias para la producción de los PHA puede ser muy variada, incluyendo fuentes de carbono provenientes de efluentes residuales^{20,21}. De hecho, en 1974, Wallen y Rohwedder²⁰ identificaron PHB en los lodos de la depuradora de la ciudad de Peoria (Illinois), descubriendo también nuevos tipos de PHA, lo que supuso el pistoletazo de salida para la identificación y caracterización de esta familia de poliésteres.

Las propiedades físicas de los PHA están influenciadas por el peso molecular del polímero final (siendo similares a las del PE o el PP^{19,22}), que dependerán tanto del tipo de bacteria empleada para su síntesis y las propiedades de la biomasa utilizada como fuente de alimentación de la bacteria, así como de la metodología utilizada para su extracción²³.

Uno de los principales impedimentos para la fabricación a gran escala de los PHA es su elevado coste de producción^p, lo que provoca que tenga precios que no son competitivos con su equivalente sintético^{24,25}, por lo que una parte importante de las investigaciones se centran en la reducción de estos costes, evaluando nuevas fuentes de biomasa que consigan abaratar los procesos de producción²⁵⁻²⁷. En este sentido, uno de los sectores de aplicación donde están encontrando mayor aceptación y aplicabilidad es en el de las aplicaciones biomédicas, donde son empleados para multitud de productos²⁸⁻³⁰: dosificación de fármacos, ingeniería de biotejidos,

^p En el mercado se pueden encontrar los PHA con un precio de entre 5-6 \$/kg, mientras que su alternativa sintética puede encontrarse entre 1.32-1.92 \$/kg²⁴. Con la caída del precio del barril de petróleo debido a la crisis del COVID-19, el precio del PE ha descendido hasta encontrarse muy por debajo de 1 \$/kg.

tratamiento en implantes relacionados con osteomielitis^q... Además de la multitud de aplicaciones biomédicas que se están presentando últimamente para este tipo de materiales, existen otras menos explotadas que también gozan de un potencial interesante, como su empleo en la fabricación de sensores³¹, fabricación de biofuel y aditivos^r para combustibles³², plantales para plantaciones y fertilizantes de dosificación lenta³³, construcción³⁴, embalajes³⁵...

En lo referido a la gestión como residuo al final de la vida útil de estos materiales, los metabolitos obtenidos de la descomposición de los PHA no son tóxicos (degradan completamente a CO₂ y H₂O en el caso de descomponer en condiciones aeróbicas; y CO₂ y CH₄ en condiciones anaeróbicas^{30,31}) pero, la combinación e incorporación de microplásticos de PHA en los sistemas de compostaje aumenta el rendimiento de producción de CH₄ en más de un 30%, lo que deberá tenerse en cuenta por los gestores de estos residuos para evitar problemas medioambientales, teniendo en este sentido la misma influencia que los microplásticos de PE³⁶. A pesar de ello, los PHA suponen, como se ha comentado, una alternativa viable para la sustitución de los polímeros procedentes del petróleo en aplicaciones de alto valor añadido.

1.2.2. Ácido Poliláctico (PLA)

El ácido poliláctico (PLA) es un poliéster termoplástico obtenido a partir del ácido láctico. Este ácido se obtiene principalmente a partir de la fermentación de los azúcares provenientes de la caña de azúcar o del almidón, empleando bacterias de la familia *Lactobacillus*³⁷. El PLA fue sintetizado, en 1932, por Wallace H. Carothers^s, tras aplicar temperatura y vacío sobre el ácido láctico^{38,39}, dándole poca importancia debido a que solo consiguió un polímero con bajo peso molecular. No fue hasta el descubrimiento de la polimerización del anillo de lactida^t, una vez abierto, que se consiguió un PLA de mayor peso molecular³⁸. Actualmente existen otros procedimientos para llevar a cabo la síntesis de PLA, pero los comentados anteriormente son los más comunes⁴⁰. La Figura 1.6 muestra la estructura del PLA.

^q Infección del hueso ocasionada por una bacteria piógena (que produce pus). Afecta generalmente a niños con edad media de 6 años, necesitando de varias semanas de tratamiento con antibióticos o incluso la intervención quirúrgica, llegando a provocar, en los casos más graves, la pérdida de la extremidad.

^r Una de las ventajas en este tipo de aplicaciones es la no necesidad de disponer de un PHA muy purificado (lo que reduce los costes), además de que estos PHA, como aditivos, tienen la misma función que el etanol en las gasolinas, aumentando el rendimiento del motor y disminuyendo las emisiones contaminantes.

^s Wallace H. Carothers está considerado como uno de los químicos más brillantes del siglo XX. Además de sintetizar el PLA y PBS (de bajo peso molecular) en los laboratorios de DuPont, fue el descubridor del cloropreno, que Dupont vende comercialmente como Neopreno; y, sus trabajos previos a su suicidio en 1937, sentaron la base para la invención del Nylon, comercializado en esos años también por DuPont⁶⁶.

^t La lactida es el diéster cíclico del ácido láctico que, mediante polimerización aniónica, da como resultado la polilactida o el poliácido láctico, precursor del PLA.

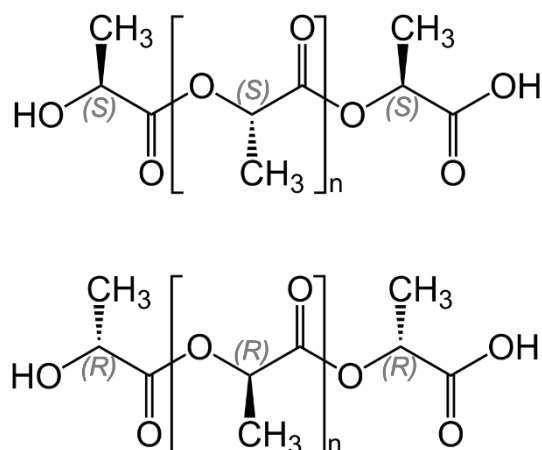


Figura 1.6. Estructura del PLA en la que se muestran sus dos isómeros.

En cualquier caso, la producción de PLA es delicada y requiere un riguroso control de los parámetros de operación, prestando especial atención al control de temperatura, presión y pH, además de precisar de catalizadores específicos y tiempos de polimerización extensos^{41u}. Como ventajas respecto a otros materiales destaca su origen natural, biocompatibilidad y procesamiento^{42,43}; mientras que como desventaja destacan su fragilidad (no es útil, por sí solo, para aplicaciones flexibles), poca velocidad de degradación, hidrofobicidad y poca reactividad superficial^{40,43}, lo que no le ha impedido que sea útil para la fabricación de múltiples productos.

Desde sus inicios, el PLA se ha empleado en aplicaciones biomédicas⁴⁴⁻⁴⁹ (principalmente en el encapsulamiento y dosificación de fármacos, así como su empleo como ayudante estructural del tejido vivo) debido principalmente a su biocompatibilidad^v y fácil procesado para la fabricación de implantes⁵⁰. Todavía hoy, el sector de la biomedicina es uno de los más importantes relacionado con las aplicaciones para el PLA, teniendo como uno de sus máximos exponentes al Dr. Robert Langer^w, que cuenta con más de 100 publicaciones relacionadas con el empleo del PLA en este tipo de aplicaciones. Durante la última década, el PLA ha encontrado otros sectores de aplicabilidad, destacando entre ellos el relativo a la producción de embalajes para

^u para ampliar información sobre el proceso de producción del PLA se recomienda la lectura de Castro-Aguirre et.al.⁵⁷

^v Los productos de descomposición del PLA son reconocidos y metabolizados por el cuerpo, lo que evita una respuesta inmune del organismo y favorece la absorción de los mismos. Este hecho evita que se tengan que realizar cirugías extra para retirar los implantes, por lo que abarata el coste de las mismas, gozando de gran popularidad en el ámbito de la medicina⁵⁰, aunque la formación de pequeños fragmentos de material puede ocasionar molestias en algunos pacientes.

^w Robert Langer es Doctor en Ingeniería Química por el Instituto Tecnológico de Massachusetts (MIT), realizando su postdoc en el área de la medicina, en la que viene investigando desde el año 1974 en la frontera entre de la ciencia de materiales y la biotecnología. Cuenta con más de 1.700 artículos publicados en revistas recogidas por la base de datos Scopus y es considerado como el padre de la liberación inteligente de fármacos, pues ha desarrollado materiales poliméricos para aplicaciones biomédicas, nanopartículas y chips, que permiten la distribución controlada de fármacos en el cuerpo humano. También es pionero en ingeniería de tejidos, además de haber permitido con sus investigaciones el tratamiento con éxito de varios tipos de cáncer (próstata, cerebro...). En el MIT es director del laboratorio de Ingeniería Biomédica, cuenta con más de 600 patentes y, entre otros premios, tiene el Premio Príncipe de Asturias de Investigación Científica y Técnica.

alimentación, debido a las características similares que tiene con respecto a otros polímeros convencionales, como el PS o el PET, solo limitado por su elevada rigidez y propiedades barrera. Debido a su fragilidad, y con la finalidad de mejorar su utilidad en este tipo de productos, el PLA puede plastificarse y mezclarse con otros polímeros biodegradables, como los PHA⁵¹⁻⁵³ o el PBS^{53,54}, siendo uno de los referentes en esta materia el Dr. José M. Kenny^x, que junto con diferentes equipos de investigación ha desarrollado proyectos de innovación con el objetivo de mejorar las propiedades de diferentes mezclas de PLA. Otros investigadores, como el Dr. Rafael Auras^y y su equipo, han investigado en la producción de filmes activos basados en PLA y otros compuestos, también para el sector de los embalajes para alimentación^{42,55-57}. La capacidad para la formación de fibras mediante hilado, así como la capacidad de interaccionar con otras fibras, ha permitido que el PLA pueda ser empleado en aplicaciones textiles^{58,59}, como la producción de toallitas absorbentes o, incluso, su incursión en el mundo del automóvil⁶⁰ (aunque en este último sector todavía encuentra limitación debido a los olores que desprende cuando es sometido a altas temperaturas⁵⁷) y otro tipo de textiles no tejidos^{60,61} como membranas. Otro tipo de aplicaciones en las que el PLA podría tener potencial son aquellas relacionadas con la agricultura (“*Mulch Filme*”), filtros para cigarrillos, la ampliamente desarrollada industria de la impresión 3D⁵⁷ o, incluso, la producción de membranas para la separación de mezclas líquidas por pervaporación^{62z}, además de las combinaciones que puede tener el PLA con otros polímeros⁶³, lo que abre un amplio abanico de posibilidades. Actualmente, las empresas más importantes productoras de PLA son NatureWorks LLC y la *joint venture* Total|Corbion[®], llegando a una cifra de mercado superior a los 1.000 millones de dólares^{aa}.

Finalmente, si bien es cierto que el PLA es muy popular entre los polímeros biobasados (debido a que es reciclable y biodegradable), al final de su vida útil presenta los mismos problemas que los polímeros convencionales, precisando de un proceso de recogida selectiva para que su residuo,

^x El profesor Kenny obtuvo su doctorado en Ingeniería Química en la Universidad del Sur (Bahía Blanca, Argentina) en el año 1984. Es director del *Materials Science and Technology Center* de la Universidad de Perugia, en Italia. Además, es director del *European Center for Nanostructured Polymers*, que tiene su sede en Florencia (Italia), con sedes además en Terni (Italia), Lyon (Francia) y Madrid (España). Ha sido vicedirector del Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros del CSIC (Madrid, España), institución con la que continúa colaborando. Es coautor de más de 660 artículos publicados en revistas científicas y es considerado como uno de los referentes mundiales en el área de la ciencia de polímeros.

^y El profesor Auras es ingeniero químico por la Universidad de Misiones (Argentina), MSc. en Ciencia de Materiales por la Universidad de San Martín (Buenos Aires, Argentina) y obtuvo su doctorado en Ingeniería Química en la Universidad del Estado de Michigan (USA). Es profesor en la Escuela de embalajes de la misma universidad y director de su grupo de investigación. Es coautor de más de 170 artículos en revistas científicas.

^z Técnica de separación de mezclas líquidas miscibles utilizando membranas no porosas. Es una técnica de separación muy selectiva, permitiendo la separación de sustancias cerca del punto de ebullición azeotrópica mediante vaporización parcial de la misma.

^{aa} Información obtenida de la web de las empresas: <https://www.natureworksllc.com/> y <https://www.total-corbion.com/>

en caso de llegar al medioambiente, no genere contaminación y pueda ser reutilizado, reciclado, compostado, incinerado o, en el peor de los casos, transportado a vertedero^{57,64}.

1.2.3. Succinato de polibutileno (PBS)

El PBS es un poliéster alifático con propiedades similares al polipropileno (PP)⁶⁵. Al igual que sucediera con otros poliésteres, fue descubierto gracias a las investigaciones de Wallace H. Carothers, en las que estudió las reacciones de policondensación para la formación de ésteres cuando el equilibrio se desplaza debido a la retirada de agua en el medio y, como sucediera con el PLA, solo consiguió sintetizar PBS de poco peso molecular, lo que le llevó a dejar de un lado estos materiales y prestar más atención a las poliamidas, descubriendo posteriormente el Nylon, entre otros⁶⁶. El PBS se obtiene por la policondensación del ácido succínico con 1,4-butanodiol (BDO), pudiéndose obtener ambas sustancias tanto de una fuente fósil como a partir de biomasa. De esta última manera, el ácido succínico se puede conseguir a partir de la fermentación de la glucosa o almidón (entre otros) empleando un surtido número de bacterias^{67,68}. Por otro lado, la producción del BDO tiene varias rutas de síntesis a partir de productos derivados del petróleo pero también se puede sintetizar a partir de ácido succínico obtenido por fermentación de glucosa, que después es purificado mediante electrodiálisis y reducido catalíticamente hasta conseguir BDO⁶⁵. Recientemente, se han modificado genéticamente diferentes bacterias para que metabolicen directamente la glucosa, y otros carbohidratos, en BDO⁶⁹. Finalmente, el PBS se obtiene mediante la esterificación entre el ácido succínico y el BDO, con lo que se consigue un oligómero que, en una segunda etapa, será policondensado para conseguir un PBS de mayor peso molecular^{65,70}. La Figura 1.7 muestra la estructura del PBS.

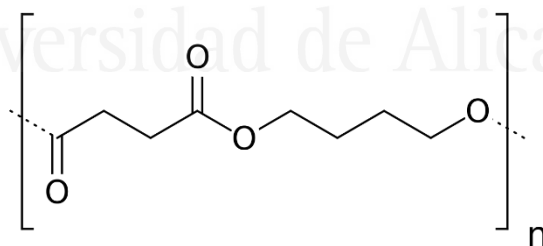


Figura 1.7. Estructura del PBS.

El PBS puede emplearse para aplicaciones que impliquen un proceso de termoconformado, como la producción de envases para alimentación que puedan tener contacto directo con alimentos^{71,72}, mejorando la calidad de los productos envasados, con propiedades antibacterianas⁷³ y con la habilidad de capturar/permear gases (CO_2/O_2)^{74,75}; además de poder inyectarse, extrudirse o formar filamentos⁷⁶. Al igual que otros biopolímeros, puede emplearse en aplicaciones biomédicas, como la dosificación de fármacos: por ejemplo, Prarmanik y Garg⁷⁷ estudiaron los parámetros óptimos para la difusión del fármaco Paclitaxel en diferentes biopolímeros, incluido

el PBS, para el tratamiento de diferentes tipos de cánceres; o el empleo de PBS como soporte para el crecimiento celular y diferenciación celular para el tratamiento de los tejidos óseos⁷⁸, muestran el potencial de este material en este sector de aplicaciones. Combinando el PBS con otros compuestos, como el *isosorbide* (diol derivado del almidón), se pueden conseguir modificar diferentes propiedades del PBS, en este caso, actuando como retardante de llama⁷⁶. También es apto para la elaboración de materiales compuestos. Por ejemplo, añadiendo hilos de seda procedentes de los residuos de la producción industrial de esta última, S. Chen et. al⁷⁹. consiguieron incrementar en 6 veces la tensión a rotura del material, además de mejorar en un orden de magnitud su módulo de elasticidad. Otros biopolímeros, como la lignina, también consiguen mejorar las propiedades mecánicas del PBS⁸⁰.

En lo referido al aspecto medioambiental del PBS, M.K. Patel et al.⁸¹ investigaron el ciclo de vida de productos fabricados con este material, comparándolos con su equivalente procedente del petróleo. Las conclusiones de su trabajo son muy interesantes, teniendo en cuenta que, efectivamente, el impacto medioambiental del PBS es un 40% inferior respecto al empleo de PP y PE, pero solo en el caso en el que el ácido succínico y el BDO se hayan obtenido a partir de azúcares de segunda generación^{bb}, de lo contrario, el impacto medioambiental podría ser incluso mayor. Esto evidencia que la sustitución de los polímeros convencionales procedentes del petróleo en aplicaciones que requieren grandísimas cantidades de material (como la industria del embalaje), tiene que considerar otros aspectos además del origen de la materia prima con la que se fabrican los productos.

1.2.4. Tereftalato de adipato de polibutileno (PBAT)

El PBAT^{cc}, Figura 1.8, es un copoliéster alifático biodegradable, sintetizado principalmente a partir del ácido adípico, ácido tereftálico y BDO^{82,83}. Estos compuestos se pueden obtener tanto de materias primas de origen fósil (actualmente la principal ruta de síntesis), como a partir de materias primas naturales y sostenibles e, incluso, a partir de residuos⁸⁴. El PBAT se caracteriza por tener una flexibilidad similar a la del LDPE, con una buena estabilidad térmica, fácil procesabilidad e idoneidad para la elaboración de bolsas⁸³⁻⁸⁵, aplicación en la que destaca, encontrando este material en los lineales de una multitud de grandes superficies, como la multinacional Lidl^{dd}. Al igual que sucede con otros biopolímeros, puede combinarse con otros

^{bb} La primera generación de azúcares se refiere a la obtenida directamente del producto cultivado, por ejemplo, directamente extraído del maíz o el trigo. La segunda generación, sin embargo, se refiere a los obtenidos a partir de biomasa que ya ha sido explotada como, por ejemplo, los residuos agrícolas.

^{cc} El PBAT es comercializado por varias empresas bajo las marcas ecoflex®, Wango, Ecoworld, Eastar Bio y Origo-Bi.

^{dd} Empleado como bolsa para la fruta se enmarca dentro de la estrategia de sostenibilidad de Lidl 2025 para la disminución de materiales plásticos en sus tiendas: <https://www.lidl.es/es/bienestoyconlidl-bolsas-seccion/s1710>

materiales con la finalidad de conseguir mezclas con propiedades mejoradas. Por ejemplo, si se introduce una pequeña cantidad en una matriz de PLA, se consigue que el PBAT actúe como plastificante del primero, confiriéndole mayor ductilidad y reduciendo su fragilidad^{84,86-88}. De la misma manera, se puede mezclar con PHBV con la finalidad de dotarlo de mayor flexibilidad⁸⁹. Además, en algunas aplicaciones en las que no es posible la completa sustitución del polímero convencional por un biopolímero, también puede mezclarse con estos para conseguir reducir, en cierta medida, el impacto ambiental en esa aplicación en concreto (por ejemplo, en el filme agrícola)^{84,90} aunque esta no sea la situación ideal, pues estos materiales contribuyen a la contaminación por residuo plástico en tanto en cuanto sigue empleándose un polímero no biodegradable. Una de las aplicaciones más interesantes para este material es la elaboración de redes de pesca, junto con el PBS, con la finalidad de sustituir a las redes de Nylon y conseguir la no permanencia del residuo de la red en el caso de ser “perdida en el océano” (“ghost gillnets”) y, que este residuo, no atrape a la fauna marina^{91,92}. En este sentido, a pesar del beneficio aportado, también existen desventajas pues, debido a su lenta biodegradabilidad, el PBAT puede formar microplásticos (de la misma manera que ocurre con el PLA), pudiendo contribuir a la contaminación de los ecosistemas marinos: Green et. al.⁹³ estudiaron como los microplásticos afectan severamente a bivalvos^{ee} (y otros seres vivos que filtran agua para alimentarse) sin tener una certeza absoluta de la influencia que tiene que el polímero sea de origen bio- o no (llegando a plantear que serían completamente equivalentes para el medio); pero otros autores, como Lin-Zi et al.⁹⁴ han observado como algunos polímeros biodegradables, como el PBAT, tienen una capacidad muy elevada para ser vectores de transmisión de contaminantes (como PHA’s), debido a su mayor capacidad para adsorberlos en su superficie respecto a otros polímeros convencionales. Todas estas cuestiones continúan siendo objeto de estudio, pero lo que sí parece más razonable para evitar estos problemas es el empleo de biopolímeros que, además de ser biodegradables, sean hidrosolubles, como es el caso de aquellos basados en Almidón Termoplástico.

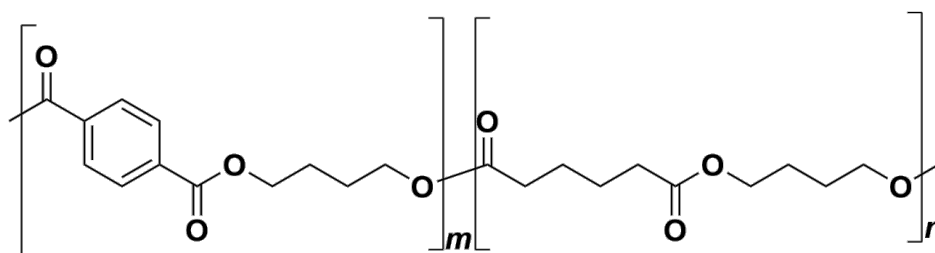


Figura 1.8. Estructura del PBAT.

^{ee} Los bivalvos o pelecípodos se clasifican en el filo de los moluscos como especie marina principalmente. Se caracterizan por presentar un caparazón formado por dos valvas laterales, simétricas y movidas por los músculos aductores del animal. Son parte de la epifauna (habitantes de los fondos de los océanos) y, entre los más representativos se encuentra la ostra, la almeja, la navaja o el mejillón.

1.2.5. Mezclas de almidón

El almidón es uno de los biopolímeros más abundantes en la naturaleza (el segundo más abundante detrás de la celulosa⁹⁵) y se puede obtener de manera relativamente sencilla a partir de materias primas como la patata, el maíz o el trigo, entre muchos otros. Además de ser uno de los más abundantes, también es uno de los más estudiados. De hecho, el término de búsqueda “*Starch*” (almidón) en la base de datos Scopus arroja más de 126.000 resultados, siendo las áreas de conocimiento que más han destacado las referidas a “Agricultura y Ciencias Biológicas” y “Bioquímica, Genética y Biología molecular”, las que suponen en torno a un 40% de las referencias. La Figura 1.9 muestra la evolución en el número de publicaciones, observándose como, a partir de los años 60, el interés por el almidón y sus aplicaciones no ha hecho más que aumentar.

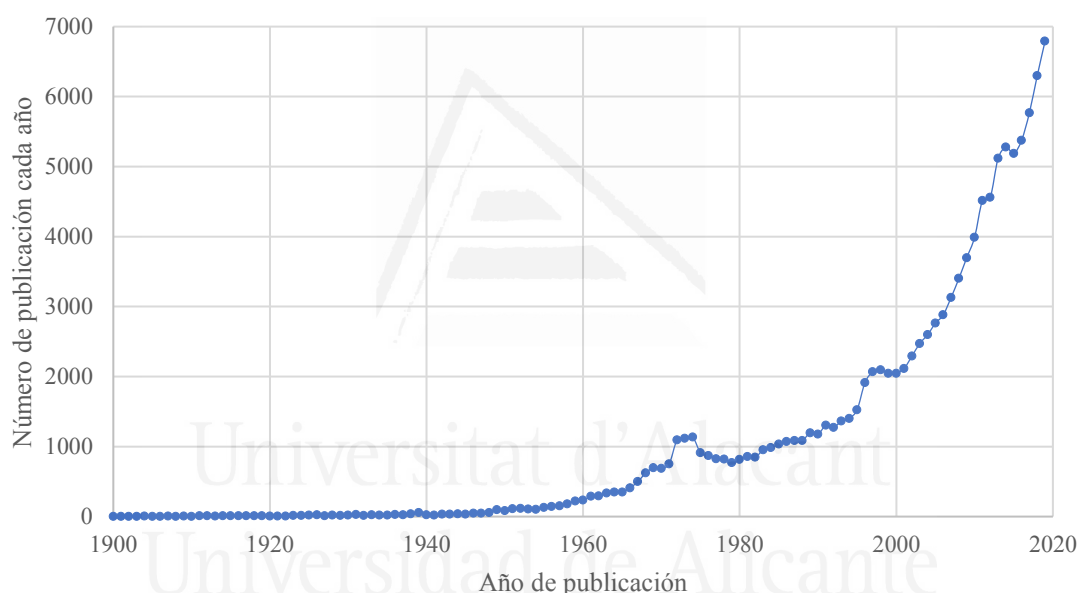


Figura 1.9. Evolución en el número de publicaciones por año en la base de datos Scopus empleando el término de búsqueda “*Starch*”.

Las áreas de conocimiento comentadas anteriormente están directamente relacionadas con la nutrición humana. No en vano, el almidón se encuentra en los alimentos básicos más comunes en nuestra dieta, constituyendo una de sus fuentes de energía más importante⁹⁶. Por este motivo, no es de extrañar que la industria de la alimentación^{ff} sea, precisamente, una de las industrias dónde

^{ff} En la industria de la alimentación se puede emplear como aditivo para el control de la uniformidad, estabilidad y textura de sopas y salsas o incluso para alargar el tiempo de vida de algunos productos⁹⁷. De entre todos los almidones, el de maíz es uno de los más empleados como espesante, estabilizador, mantenedor de humedad y como adhesivo. El almidón se emplea en productos para consumir directamente (“*corn-flakes*” o el puré de patatas) y como aditivo en productos horneados (panes, tartas, galletas...), confitería (caramelos y dulces), sopas, salsas (kétchup o mayonesa), pero también en helados y bebidas. Aunque esta temática se aparta del objetivo del presente trabajo, si se quiere ampliar la información, se recomienda la lectura del capítulo “*Chemical Properties of Starch and Its Applications in the Food Industry*” de Henry Omoregie⁹⁸, con acceso libre; y especialmente el libro “*Functional Starch and Applications in Food*” de Zhengyu Jin (Editor) (<https://doi.org/10.1007/978-981-13-1077-5>).

el almidón se encuentra más extendido^{97,98} (solo en Europa, aportando datos de 2018, el porcentaje de productos basados en almidón empleado en esta industria, respecto del total de almidón producido, fue el 58%⁹⁹). Pero la industria de la alimentación no ha sido la única dónde el almidón ha tenido cabida. De hecho, históricamente, también se ha empleado en otro tipo de sectores, destacando el farmacéutico, el de la papelería y cartonaje, adhesivos o, incluso, el sector textil. Por ejemplo, ya en los años 80 el almidón era utilizado como adhesivo^{gg} en la producción industrial de papel y cartón¹⁰⁰, industria en la que hoy día continua teniendo un protagonismo fundamental¹⁰¹⁻¹⁰⁴, siendo la segunda industria que emplea un mayor porcentaje del almidón producido⁹⁹, por detrás, como se comentaba, de la industria de la alimentación. Como ejemplo de otras aplicaciones, también interesantes y actuales del almidón, se puede citar su empleo como material para la encapsulación de sabores y fragancias¹⁰⁵; su uso como ayudante de proceso para la producción de biocerámicas^{106, hh}; su empleo en el sector farmacéutico para la formulación de medicamentos en polvo, gránulos, cápsulas y tabletas, así como diluyente, emulsionante y lubricante¹⁰⁷; o, como una de las aplicaciones donde encuentra una mayor prospectiva de crecimiento, la producción de filmes y embalajes¹⁰⁸, sector de aplicación en el que se enmarca el presente trabajo.

La introducción del almidón en la producción de filmes plásticos comenzó a desarrollarse a finales del siglo pasado, debido a la creciente preocupación derivada del incremento de residuos plásticos en los océanos provocada por el uso intensivo por parte de la sociedad, y las empresas, de productos plásticos de un solo uso. Este hecho provocó que se comenzara a investigar el empleo de almidón junto con otros polímeros sintéticos convencionales¹⁰⁹⁻¹¹¹ debido a que, por aquel entonces, ya era conocido que el contenido en almidón podía promover la degradación microbiana de las formulaciones utilizadas, generando defectos superficiales en los productos plásticos fabricados¹¹² y facilitando así la degradación oxidativa de la fase no biodegradableⁱⁱ (además de que la introducción de este tipo de cargas abarataba el precio del material final). Desde entonces, las estrategias para la introducción del almidón en las matrices poliméricas, y fabricar lo que se conoce como “mezclas de almidón” o “*Starch Blends*”, podían considerar el empleo del propio

^{gg} Para el empleo del almidón como adhesivo se realizaban mezclas acuosas en las que introducía sosa con la finalidad de incrementar la temperatura de la mezcla y conseguir, de esta manera, la gelatinización del almidón, que se relacionaba con un aumento de la viscosidad de la mezcla, siendo indicativo de que el adhesivo estaba listo para utilizarse.

^{hh} Cerámicas compatibles con el cuerpo humano empleadas en la fabricación de implantes (hidroxiapatita, alúmina...).

ⁱⁱ Con el paso de los años, el empleo de este tipo de estrategias, junto con la adición de catalizadores que provocaban la oxodegradación de estos plásticos, conocidos como plásticos oxodegradables, provocó el aumento de la concentración de los microplásticos en los ambientes marinos pues, la fase no biodegradable, solo se hacía más pequeña. Sin ir más lejos, la Comisión Europea emitió un informe en 2018 en el que, debido a que las alegaciones realizadas por la parte interesada en el empleo de este tipo de materiales no solo no tenían evidencia real de su beneficio medioambiental, sino que las evidencias concluían los efectos adversos que tenían este tipo de materiales (provocando incluso más efecto dañino para el medioambiente que el propio polímero convencional), se propuso la limitación del uso de este tipo de materiales²²³.

grano de almidón directamente como carga^{110,113,114}; o, por el contrario, el empleo del almidón gelatinizado previamente¹¹³, conocido como Almidón Termoplástico (“*Thermoplastic Starch*” o TPS).

De esta manera, el almidón no tardó mucho en emplearse junto con polímeros biodegradables, no solo con el objetivo de abaratar el precio de los productos finales, sino con la finalidad adicional de conseguir un tándem de propiedades que pudieran generar nuevas mezclas que presentaran características diferentes a las ya conocidas en este tipo de materiales. Los tipos de polímeros con los que se ha mezclado el almidón son muy variados, por ejemplo, se han realizado mezclas con PLA, PHA, policaprolactona (PCL) o, incluso, alcohol polivinílico (PVA, también conocido como PVOH), entre otros. En el caso del primero, las mezclas entre el almidón y el PLA se vienen estudiando desde hace décadas debido a que el elevado coste de producción que tiene este material puede verse muy reducido al mezclarse con almidón. Esta mezcla no solo es útil para disminuir los costes de fabricación, sino que la adición de TPS en la formulación, como se comentaba anteriormente, puede mejorar alguna de sus propiedades¹¹⁵, como la cristalinidad o la impermeabilidad al oxígeno en este caso. Sin embargo, la gran desventaja que presentan estas mezclas es la gran inmiscibilidad entre el PLA y el TPS, lo que finalmente resulta en un grave detrimento de las propiedades mecánicas del polímero final. Esto es debido, por un lado, a la gran naturaleza hidrofílica del almidón; mientras que por otro, a la gran naturaleza hidrofóbica del PLA¹¹⁶. Este efecto se percibe en las muestras cuando la proporción de almidón supera el 10% en masa respecto a la cantidad de PLA¹¹⁷, por lo que muchos autores han venido investigando las maneras de conseguir compatibilizar estos dos polímeros. Tantas son las combinaciones posibles que Justin Koh et.¹¹⁸ al. realizaron una revisión sobre las principales estrategias para la compatibilización de estos materiales, destacando 4 principales grupos: empleo de plastificantes, tanto para el almidón como para el PLA; adición de un tercer componente, que sea capaz de dotar de ductilidad a la mezcla a la vez que es compatible con ambos polímeros (adición de por ejemplo PHB o PCL); endurecimiento por elastómero^{jj}, en el que se añade un elastómero compatible con alguno de los componentes de la mezcla; y, finalmente, la compatibilización de las interfases de contacto, para lo que se valen de modificaciones químicas de los materiales con el objetivo de aumentar su interacción. En esta última estrategia hay investigaciones tan interesantes como la de Duo Wu y Minna Hakkarainen¹¹⁶ en la que modifican el propio PLA hasta conseguir un oligómero funcionalizado que, finalmente, mejora la compatibilidad entre el propio PLA y los granos de almidón. Estas estrategias también se han empleado con relativo éxito para compatibilizar los

^{jj} Esta ha sido una estrategia común para el endurecimiento de polímeros frágiles, como el HIPS o el ABS. Se basa en que el polímero contiene dos fases diferenciadas: una fase continua correspondiente con las partes frágiles del material; junto con una matriz discontinua de un material gomoso. Esta combinación permite absorber energía al material en caso de tensión, lo que resulta en un endurecimiento del material final.

granos de almidón con otros polímeros, como los PHA¹¹⁹⁻¹²¹ o el PBAT^{121,122}, polímeros con los que el almidón tiene poca adhesión.

Además de las mezclas anteriores, la combinación entre el almidón y el PVA ha generado mucho interés en los últimos años. El PVA es un polímero atáctico^{kk} de origen sintético que tradicionalmente se viene empleando en industrias muy cercanas al almidón (textil^{ll}, adhesivos, embalajes, papelería...¹²³), y en las que en ocasiones se utilizan de manera conjunta. Y es que, debido a que ambos polímeros contienen una gran cantidad de grupos hidroxilos, las mezclas producidas entre ambos materiales gozan de una gran compatibilidad¹²⁴. En este sentido, el PVA presenta dos características interesantes que se deben tener en cuenta a la hora de producir mezclas entre ambos materiales: por un lado, se trata de un polímero biodegradable, a pesar de ser sintético; y, por otro, dependiendo del grado de sustitución de grupos acetatos con el que cuente, puede ser soluble en agua. Adicionalmente a estas dos características, el hecho de que exista una gran variedad de tipos de PVA (atendiendo principalmente a su peso molecular y grado de hidrólisis) hace que las posibles combinaciones y nuevas formulaciones con el almidón también lo sean, permitiendo una gran versatilidad para conseguir adaptar el material final a las necesidades de la aplicación en la que se vaya a emplear. Por ejemplo, Jualiano Zanela et al.¹²³ estudiando mezclas de almidón y PVA con diferentes pesos moleculares y grados de hidrólisis llegaron a la conclusión de que: i) los materiales producidos con un PVA de elevado grado de hidrólisis son más rígidos; mientras que ii) los producidos con un PVA de elevado peso molecular son más resistentes; y que iii) para todas las mezclas estudiadas, la compatibilidad entre ambos materiales fue excelente para su procesabilidad. Sin embargo, el PVA presenta algunos inconvenientes. Por ejemplo, debido a que su temperatura de fusión se encuentra muy cerca de su temperatura de degradación (entre 224°C y 246°C), el procesado de productos basados en este material empleando equipos convencionales es una tarea compleja¹²⁵, para lo que se deben utilizar plastificantes y otros aditivos con la finalidad de reducir las temperaturas de operación. Una de las maneras para solventar este problema, es el empleo de procesado en disolvente (“casting”), técnica sobre la que se profundizará más adelante.

Teniendo en cuenta todo lo anterior, no es de extrañar que los plásticos basados en almidón termoplástico se estén postulando como unos verdaderos sustitutos a los polímeros convencionales en aplicaciones de un solo uso, y con sus mezclas con polímeros coadyuvantes

^{kk} La tacticidad hace referencia a la ordenación de los grupos funcionales a lo largo de la cadena de un polímero. Si todos los grupos se distribuyen de manera ordenada en un solo lado de la cadena, el polímero es isotáctico; si lo hacen de manera simétrica a ambos lados de cadena, entonces es sindiotáctico; mientras que, si no presentan un ordenamiento claro, es decir, se ordenan de manera aleatoria, se habla de un polímero atáctico.

^{ll} La producción de fibras insolubles de PVA, conocidas como Vinyon, llegó a constituir una de las industrias más importantes de Corea del Norte. Con este material fabrican la mayor parte de su indumentaria, y es heredero de la época de la invasión japonesa de ese territorio.

como el PVA, consiguen nuevas formulaciones que, además de ser también biodegradables, tienen unas propiedades mecánicas aceptables para cumplir con tal fin. Con el objetivo de profundizar más en esta materia, en el siguiente apartado se expone una introducción a la estructura y composición de los granos de almidón, pieza clave para comprender algunas de las propiedades del almidón termoplástico, el que se estudiará con mayor profundidad en el punto 3.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



2. Estructura de los granos de almidón

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Como se ha comentado anteriormente, el almidón es uno de los polisacáridos más abundantes en la naturaleza. No en vano, es el glucano^{mm} escogido por las plantas para almacenar energía, teniendo lugar su metabolismo en los amiloplastosⁿⁿ de sus células vegetales. Los almidones están formados principalmente por amilosa y amilopectina, aunque también contienen trazas de otras sustancias en una proporción muy inferior, como son los monoésteres fosfato y algunos tipos de proteínas y lípidos. La amilopectina es el componente mayoritario en los granos de almidón, llegando en la mayoría de casos a suponer más del 70% de su composición, aunque esto dependerá del origen botánico de la planta, la época de la cosecha o el clima¹²⁶: algunas variedades de almidón pueden no tener contenido en amilosa^{oo}, mientras que algunos almidones modificados genéticamente podrían contener entre un 50-80%¹²⁷⁻¹²⁹. Debido a su elevada proporción, la amilopectina es la responsable principal de la estructura interna de los almidones^{130,131}. Tanto la amilosa como la amilopectina están formadas por la unión de anillos de D-glucosa enlazados mediante enlaces O-glucosídicos^{pp} $\alpha(1,4)$, que forma zonas lineales; y enlaces O-glucosídicos $\alpha(1,6)$, que son los causantes de las ramificaciones en estas macromoléculas. Debido a ello, se considera que el almidón es una sustancia semi-cristalina caracterizada por dominios amorfos y cristalinos, estos últimos debidos al ordenamiento de las cadenas residuales de amilopectina^{qq}. Estas cadenas se organizan formando diferentes estructuras, que serán las responsables de la forma final del grano de almidón: cristalitas (“*Crystallites*”), estructura lamelar (“*Lamellar Structure*”), estructura tipo Blocklet (“*Blocklet Structure*”), anillos de crecimiento (“*Growing rings*”) y, finalmente, el propio grano¹²⁷. En los siguientes apartados se profundiza más en todas estas estructuras, además de en la composición del grano, con la finalidad de tener una comprensión global de la complejidad subyacente que caracteriza al almidón.

2.1. Componentes mayoritarios en los granos de almidón: amilopectina y amilosa

Como se ha comentado al inicio de este capítulo, los componentes mayoritarios que conforman los granos de almidón son la amilopectina y la amilosa. Estas son dos macromoléculas constituidas por la condensación de D-glucosas mediante enlaces O-glucosídico.

^{mm} Los glucanos son un tipo de polisacáridos formados por moléculas de D-glucosa unidas mediante enlace glucosídico. Entre ellos destacan el almidón (almacenamiento de energía en las plantas), el glucógeno (almacenamiento de energía en los animales) o la celulosa (principal componente de la pared celular en las plantas).

ⁿⁿ Orgánulos celulares eucarióticos carentes de clorofila destinados al metabolismo y almacenamiento de almidón.

^{oo} Estos almidones también se conocen como “*waxy starch*” debido a que los endospermos de la planta de procedencia tienen un aspecto ceroso. El endospermo es el tejido nutricional de reserva en las semillas.

^{pp} Se llama O-glucosídico cuando el oxígeno es el átomo de enlace entre los glúcidos.

^{qq} Se conoce como cadena residual de amilopectina a una porción de la cadena de D-glucosas (entre 10-20 unidades) que se encuentra en los extremos de la macromolécula.

Una molécula de amilopectina está formada por pequeñas cadenas de glucosas unidas mediante enlaces O-glucosídicos $\alpha(1,4)$ y se encuentran unidas entre ellas mediante ramificaciones, debidas a enlaces O-glucosídicos $\alpha(1,6)$, tal y como se muestra en la Figura 2.1. La amilopectina es un polisacárido cuya masa molecular promedio en peso^{rr} (M_w) se encuentra entre los 10^7 - 10^8 Da^{ss}, aunque la determinación de estos valores es complicada debido a que estas moléculas tienden a aglomerarse cuando se encuentran en solución. Esto contrasta con la masa molecular promedio en número^{tt} (M_n), que es de unos 10^5 Da, lo que implica una distribución de pesos moleculares relativamente ancha y, por tanto, elevados índices de polidispersidad^{uu} (M_w/M_n)¹³². De este modo, Takeda et. al.¹³³ clasificaron las moléculas de amilopectina en 3 rangos de distribuciones de tamaño en función de su grado de polimerización^{vv} (DP_n): alto (13.400 - 26.500 unidades), medio (4.400 – 8.400 unidades) y bajo (700 – 2.100 unidades). El estudio destacó que el grado de polimerización predominante en las moléculas de amilopectina de los almidones estudiados era el alto, presentándose las otras dos distribuciones con mucha menos frecuencia. Si se realiza un estudio más extensivo de la macromolécula de amilopectina, algunos autores han llegado a evidenciar que también existen tres distribuciones de tamaño de cadena en el seno de la amilopectina, destacando que, en este caso, las cadenas cortas (con un grado de polimerización por debajo de 36 unidades) son las que predominaban¹³⁴. Además, esta distribución sí dependería, principalmente, del origen botánico del almidón. El estudio de este tipo de parámetros, junto con los modelos de conformación de los cristalitos tienen connotaciones importantes e interesantes en el ámbito de la biología, pero en este apartado no se profundizará más en ellos, pues ese nivel de especialización queda fuera del marco del presente trabajo.

Por otro lado, la amilosa es también una macromolécula formada principalmente por la unión de glucosas mediante enlaces O-glucosídico $\alpha(1,4)$, lo que provoca que sea una molécula extremadamente lineal con cadenas principales con un DP_n mayor que para el caso de las cadenas de amilopectina, que van desde las 1.000 hasta las 5.000 unidades¹³². Esto no excluye que, en una pequeña proporción, contenga algún tipo de ramificación formada mediante enlaces O-glucosídico $\alpha(1,6)$, como se representa en la Figura 2.1. Con carácter general, la distribución de tamaños para una molécula de amilosa va desde las 200 hasta 20.000 unidades¹³⁵, pero en este caso existen dos particularidades respecto a las moléculas de amilopectina¹³⁶: i) las moléculas de amilosa predominantes son las que tienen un grado de polimerización bajo; y ii) las moléculas de

^{rr} M_w : media ponderada de las fracciones en peso de las moléculas de un determinado tamaño.

^{ss} Unidad empleada para expresar la masa de átomos y moléculas. 1Da = $\frac{1}{2}$ de la masa de 1 átomo neutro, no enlazado de C^{12} en su estado fundamental.

^{tt} M_n : calculado como la masa de muestra dividido entre el número de moléculas que la componen.

^{uu} Polidispersidad: amplitud de una distribución (generalmente normal) que representa los pesos moleculares de un polímero.

^{vv} Grado de polimerización: número de unidades mínimas que se repiten en un polímero.

amilosa en los tubérculos tienen de media un tamaño mayor. De hecho, entre el 50% y el 75% de las moléculas de amilosa en los cereales tendrían un grado de polimerización por debajo de 1.000 unidades; mientras que, para el caso de los tubérculos, las moléculas de amilosa tendrían un grado de polimerización por encima de mil 1.000 unidades entre el 75% y 90% de ellas. Debido a que las cadenas predominantes son las de menor grado de polimerización, la amilosa tiene un peso molecular medio de entre uno y dos órdenes de magnitud inferior respecto a las moléculas de amilopectina.

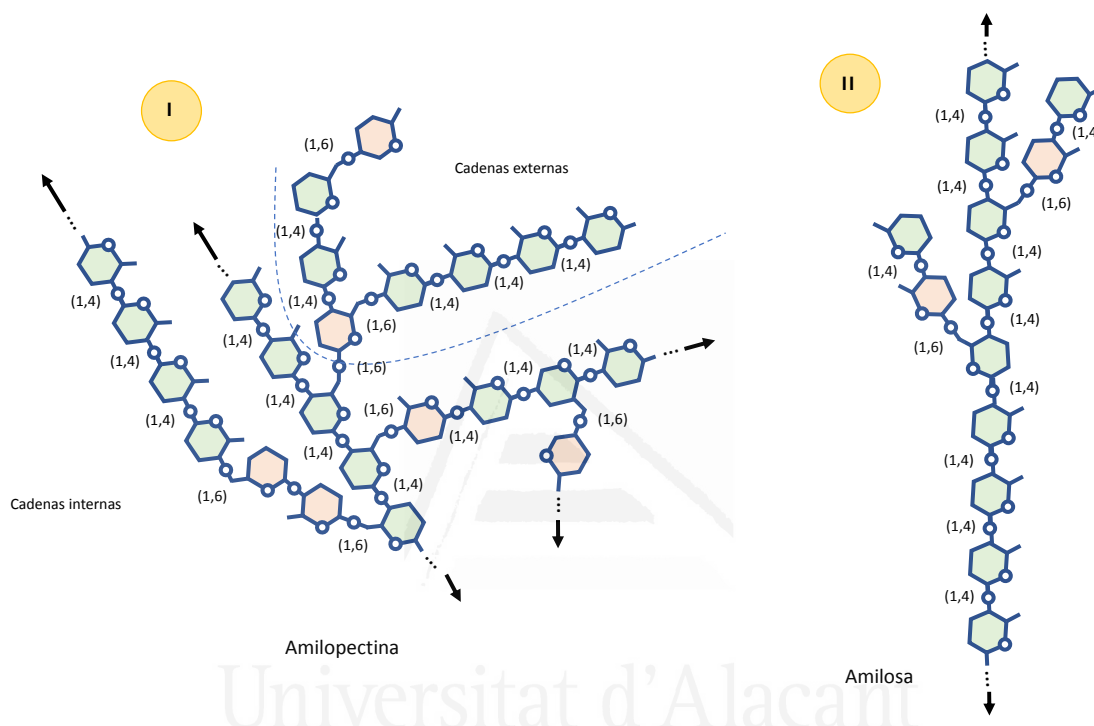


Figura 2.1 (I) Molécula de amilopectina. Se observan en verde las moléculas de D-glucosa unidas mediante enlace O-glucosídico $\alpha(1,4)$, y en naranja las que están unidas mediante enlace O-glucosídico $\alpha(1,6)$. En esta representación también se observa como la amilopectina es una molécula completamente ramificada, constituida por la unión de pequeñas cadenas. Las cadenas externas serán susceptibles de formar los cristalitas, que finalmente constituirán los diferentes polimorfos en la estructura cristalina lamelar. **(II)** Molécula de amilosa. Los colores de las moléculas indican el tipo de enlace O-glucosídico igual que en el caso de la amilopectina. Se observa como esta es una molécula extremadamente lineal, aunque puede contener alguna ramificación puntual.

Existe controversia sobre la localización de la amilosa en los granos de almidón: algunos autores consideran que se localiza en las partes externas del grano; mientras que otros la sitúan en las partes interiores¹²⁷. Lo que parece ser cierto es que, dependiendo del tipo de almidón se da una circunstancia u otra. En lo que sí parece haber consenso es en el hecho de que la amilosa se ha encontrado participando en todas las estructuras que conforman el grano (en algún caso asociada directamente a las moléculas de amilopectina, aunque este hecho continúa en discusión), participando directamente en el empaquetamiento lamelar, introduciendo defectos en las lamelas cristalinas^{137,138}. Las moléculas de amilosa son inestables en agua y, en su presencia, pueden precipitar formando doble hélices con la configuración Tipo B (véase el apartado 2.2), pero, además, puede empacarse formando hélices simples, que son más compactas y cristalizan

formando el patrón de polimorfismo Tipo V, que tiene una distribución similar al alomorfo de Tipo A en la amilopectina. Aunque con menos intensidad, estas estructuras se han encontrado en los granos, formando complejos de inclusión entre la amilosa y algunos tipos de lípidos.

2.2. Niveles de organización estructural en los granos de almidón

A pesar de la gran variabilidad que existe entre los almidones procedentes de diferente origen botánico (tamaño y forma), las estructuras que a continuación se describen se han encontrado de manera extendida en todos los tipos de almidones y pueden ser observadas mediante diferentes técnicas de caracterización (microscopía electrónica de barrido, difracción de rayos X...). De hecho, si se observan los granos bajo luz polarizada, se comprueba que todos presentan un patrón de birrefringencia en forma de “Cruz de Malta”¹³⁹. Estos niveles estructurales van desde la escala nanométrica a la escala micrométrica. En la Figura 2.2 se representan de manera esquemática estas estructuras, tal y como las expone Eric Bertoft en su trabajo “*Understanding Starch Structure: Recent Progress*”¹²⁷. Las cadenas residuales de amilopectina (I), debido a la cercanía entre ellas, forman una estructura en doble hélice (de manera similar a la del ADN), estabilizada por puentes de hidrógeno y constituidas por entre 10 a 20 moléculas de glucosa. En el esquema, estas estructuras se representan como un cilindro azul (II), y se les conoce como cristalitas¹³¹. Estos cristalitas se pueden disponer en el espacio de dos maneras, dando lugar a los dos polimorfos principales encontrados en el almidón: Tipo A y Tipo B¹⁴⁰. En el polimorfo Tipo A, los cristalitas se empaquetan formando una celda mono-cíclica, dejando poco espacio entre ellos, pero el suficiente para albergar unas pocas moléculas de agua (la literatura las cifra en 8 moléculas). El polimorfo Tipo B cuenta con los cristalitas empaquetados formando una celda unidad con forma de hexágono, lo que le permite tener más espacio para el agua, que formará un canal en el interior de la celda (contando con unas 36 moléculas de agua)¹²⁷. Algunos tipos de almidón, como el procedente del guisante, pueden tener ambos polimorfos de manera simultánea, lo que se conoce como polimorfismo de Tipo C¹⁴¹. Este polimorfismo (A, B y C) es el responsable de la cristalinidad relativa de los granos de almidón, que en algunos casos puede llegar al 50%, siendo algo mayor para los almidones con alto contenido en amilopectina¹⁴².

La estructura lamelar (III) se forma debido a la unión repetitiva de los polimorfos descritos anteriormente, resultando en un nanocristal que puede contener hasta 300 cristalitas. Estos se conocen como lamelas cristalinas, pero las cadenas internas de amilopectina y amilosa también pueden organizarse con este tipo de estructuras repetitivas, formando las lamelas amorfas¹⁴³. Las lamelas cristalinas, formadas por los polimorfos de Tipo A se empaquetan formando paralelepípedos, aumentando su irregularidad cuanto mayor es el contenido en amilosa del almidón.

Las lamelas formadas por polimorfos Tipo B, debido a la organización de los cristalitas, son más irregulares^{140,144}.

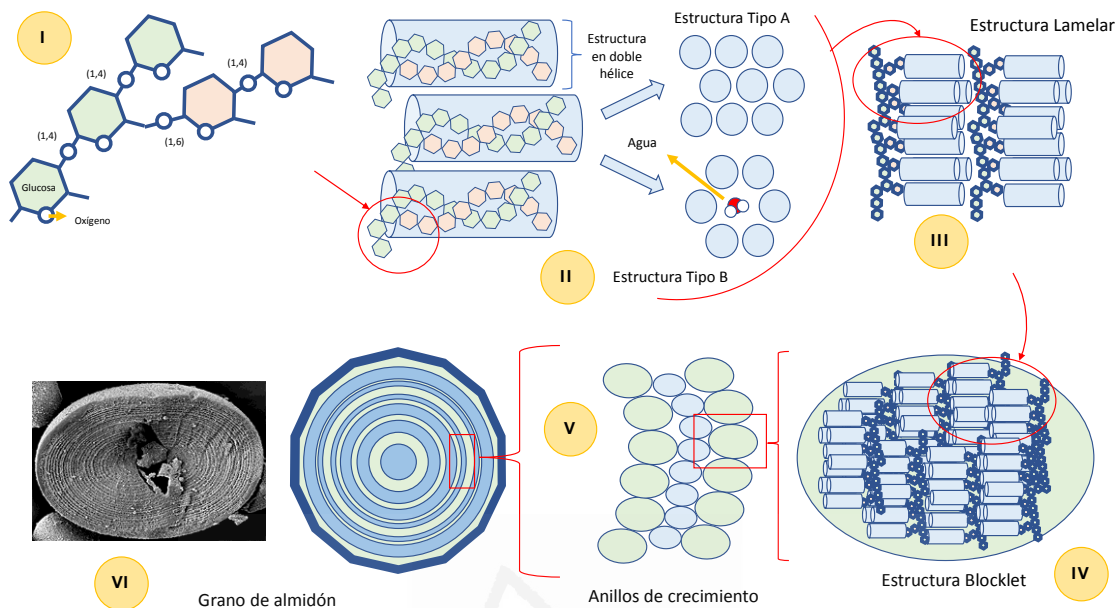


Figura 2.2. Esquema que representa los diferentes niveles de organización estructural en el almidón¹²⁷: **I**) representación de los enlaces glucosídicos entre los anillos de glucosa en la amilopectina. **II**) las cadenas residuales se empaquetan en forma de doble hélice y estas se empaquetan formando una estructura de Tipo A o Tipo B. **III**) Estas estructuras se compactan formando nanocristales, que a su vez conforman la estructura lamelar. **IV**) Las lamelas se aglomeran formando los Blocklets, **V**) que a su vez se aglomeran formando los anillos de crecimiento del **VI**) grano de almidón. **Foto:** anillos de crecimiento en un grano de almidón de patata extraído del artículo de Philling, E. et al¹⁴⁵.

Los Blocklet (IV) suponen una estructura muy singular dentro de los granos de almidón, sobre la que todavía no existe un acuerdo amplio en la comunidad científica: Gallant et al.¹⁴⁶ los definió como las unidades que componían los anillos de crecimiento; mientras que otros defienden que son una estructura que se distingue tanto en los anillos de crecimiento, como en las zonas más interiores del grano de almidón, tanto en regiones amorfas como cristalinas¹⁴⁷ y que, debido a su tamaño, podrían tratarse de una o varias moléculas completas de amilopectina, aunque también podrían contener moléculas de amilosa, que serían las encargadas de interconectar diferentes Blocklets, haciendo de estos una estructura flexible^{ww}. Aunque no hay acuerdo sobre un modelo claro que describa la composición de los mismos, sí que parece haber acuerdo en su identificación como protrusiones aisladas en la superficie de los granos de almidón^{148,149}.

El empaquetamiento de las lamelas, tanto amorfas como cristalinas, forma una especie de corteza, cáscara o capa, también conocida como anillo de crecimiento, y son considerados como semicristalinos por contar con ambos tipos de lamelas. Estos anillos se les conoce también como

^{ww} Se emplea el término flexible haciendo referencia a que en una multitud de casos estos Blocklets aparecen fusionados, separados y unidos de diferentes maneras, además de existir una gran variabilidad en el tamaño de los mismos.

cáscara dura. Esta estructura se encuentra embebida en una matriz amorfa, conocida como cáscara blanda o “*amorphous background*”, traducido como “fondo amorfo”¹⁴⁶. Los anillos de crecimiento es una de las primeras estructuras que se describió al estudiar los granos de almidón, y se conoce prácticamente desde que se conoce el propio grano¹⁵⁰. Al observarlos con el microscopio, tienen la característica de presentarse como una alternancia entre anillos claros y oscuros¹⁴⁵ (VI). En este caso, al igual que ocurre con los Blocklets, no se conoce con exactitud el mecanismo por el que se construyen: al principio se creía que podrían formarse debido a los ciclos fotosintéticos que tienen lugar en las plantas, alternando entre el día y la noche; pero pronto se observaron las mismas estructuras en almidones de plantas cultivadas con exposición continua a la luz^{145,151}. Cerca del *hilum*^{xx}, los anillos de crecimiento tienden a desaparecer dejando un espacio vacío, que normalmente está ocupado por moléculas de agua¹⁵². La morfología exterior de los granos es muy variada, desde granos con forma ovalada y superficie suave, hasta granos con superficie más rugosa y abrupta, pasando por granos con forma poliédrica¹⁵³⁻¹⁵⁶. En cualquier caso, esta morfología dependerá, entre otros factores, del origen botánico de procedencia del almidón. Los granos de almidón también cuentan con canales, que van desde su superficie hasta el interior del grano. En estos canales se encuentran proteínas y fosfolípidos, siendo de utilidad para que las enzimas puedan acceder al interior del grano para digerirlo en caso de ser necesario¹⁵².

2.3. Componentes minoritarios en los granos de almidón: monoésteres fosfato, lípidos y proteínas

El tercero de los componentes más importante en los granos de almidón son los monoésteres fosfato, encontrados en todos los tipos de almidón estudiados. Se conoce su presencia en el almidón desde el siglo XIX, pero no se había prestado mucha atención a ellos hasta hace unas décadas debido a que su contenido en los granos de almidón era baja, considerándola como un capricho de la evolución, es decir, una mutación fallida que se había consolidado en el tiempo y que no jugaban ningún papel fundamental en el grano¹³². Estudios recientes han descubierto que esto no es así y, aunque su concentración en los granos es baja, los monoésteres fosfato juegan un papel crucial para el correcto funcionamiento del metabolismo del almidón: gracias a la incorporación de estos grupos fosfato la planta consigue mantener una estructura de empaquetamiento de energía muy densa y eficiente, además de generar defectos puntuales en la estructura cristalina del almidón (cuando el C-6 se encuentra en un cristalito, el grupo fosfato queda en el interior de la cadena, no generando defectos en la estructura: mientras que sí lo hace

^{xx} En el ámbito de los granos del almidón, el *hilum* hace referencia al centro del grano, o lo que es lo mismo, el núcleo a partir del cual se van depositando las diferentes capas de almidón.

en una posición C-3 sí los generará¹⁵⁷), lo que ayuda no solo con su movilización y aprovechamiento, sino que además constituyen puntos de reacción para que las enzimas puedan comenzar con la hidrólisis del grano de almidón rápidamente en caso de ser necesario^{158,159}. Estos grupos fosfato están asociados a las cadenas de amilopectina, anclados preferentemente a los C-3 y C-6 en las moléculas de glucosa, siendo estos últimos, los que aparecen en mayor proporción situados principalmente en la lamela amorfa¹⁶⁰.

El grado de fosforilación de los granos de almidón está estrechamente relacionado con la longitud de las cadenas principales en la amilopectina, de mayor tamaño en los almidones con polimorfismo Tipo B, característico de los tubérculos, por lo que estos tipos de almidón tienen, de manera general, un contenido en fósforo mayor que el resto de almidones^{161,162}.

El metabolismo de los granos de almidón tiene lugar en los amiloplastos, dónde las proteínas encargadas de su síntesis/degradación pueden quedar finalmente retenidas en el interior de los granos^{153,163}. De igual manera, debido a que los amiloplastos también almacenan otro tipo de sustancias, como lípidos y otros aceites, estos también pueden quedar atrapados en el interior de las cavidades de los granos¹⁵². Estas sustancias se encuentran mayoritariamente en almidones provenientes de cereales^{153,161}, a diferencia de almidones provenientes de tubérculos y raíces. En cualquier caso, estas sustancias suponen un porcentaje muy pequeño sobre la composición total de los granos de almidón.

El papel de los grupos fosfatos en el metabolismo de los almidones, los tipos de cadenas y los diferentes modelos estructurales que existen para la organización de estas moléculas dentro de los granos de almidón, ha sido tratado extensamente en la bibliografía^{127,132}.

2.4. Extracción del almidón de la fuente botánica

El almidón es uno de los principales constituyentes en los granos de cereales, siendo estos, una de las principales fuentes para la extracción y obtención del almidón, aunque también se puede extraer de tubérculos y legumbres. El proceso de extracción del almidón depende principalmente del origen del material de partida, la proporción de almidón que contenga el material y, como factor determinante a la hora de escoger el método de extracción, el tipo de proteína asociada al grano de almidón, su cantidad, solubilidad y su nivel de interacción con los granos¹⁶⁴.

Por ejemplo, a pesar de que los granos de arroz contienen una proporción de almidón que puede llegar hasta el 90% y un contenido en proteínas muy pequeña, estas se encuentran íntimamente rodeando la superficie de los granos de almidón mientras se encuentran en el endospermo, lo que dificulta la tarea de purificación y separación de los granos de almidón¹⁶⁵. En cualquier caso, cuanto menor sea el contenido en proteínas, lípidos, fibras y otros tipos de sustancias, la

extracción del almidón de los vegetales será más sencilla. En el caso del arroz, luego de la limpieza de los granos y su molienda hasta conseguir una harina, se realiza un tratamiento alcalino empleando NaOH, con la finalidad de extraer las proteínas, y así poder separar ambos componentes mediante centrifugación. Este método, largamente extendido en la industria, tiene la desventaja de generar una gran cantidad de residuo en forma de aguas contaminadas, con el consecuente gasto asociado de remediación de estas.

Existen procesos de extracción, como la extracción mediante “molinos húmedos”¹⁶⁴, en la que se emplea ácido sulfúrico como agente reductor para romper los enlaces disulfuro que se dan entre las proteínas y el grano de almidón. El tiempo de maduración al que son sometidos los granos hace que las proteínas pierdan su estructura, liberándose de manera sencilla del almidón. Este tipo de enlaces es común en los granos procedentes de maíz, aunque estas proteínas también son solubles en soluciones alcohólicas¹⁶⁶, pudiéndose emplear otros métodos para su extracción. Esta técnica también tiene como resultado residuos con altos contenidos en azufre, los cuáles han de tratarse convenientemente. En este sentido, se han propuesto otro tipo de agentes reductores, como la L-Cisteína¹⁶⁷, también capaz de romper los enlaces disulfuro. Esta técnica también es empleada para la extracción del almidón en los granos de trigo.

En lo que se refiere a la producción industrial^{vy}, el proceso también dependerá de la procedencia del almidón. No es lo mismo que a la entrada de la línea de producción se tengan que tratar granos de trigo o patatas. Por ejemplo, para la extracción del almidón de estas últimas o similares, en primer lugar, se realizará una limpieza de los tubérculos, así como su pelado, para seguidamente llevarlos a una zona de corte y raspado con el objetivo de romper su estructura organizativa. Una vez completado este proceso, se separan las fibras de la fase líquida, que contiene el almidón junto con las proteínas (a esta fase se le conoce como leche de almidón). La fase rica en almidón se lava con la finalidad de extraer las proteínas y, una vez completado el proceso de lavado, el almidón se centrifuga, se seca y se empaqueta. Para la obtención de almidón procedente del trigo se parte de una harina, que se mezcla con agua y se separa en 3 corrientes mediante decantación. Cada una de estas corrientes es rica en almidón y fibras; almidón y gluten; y, finalmente, una fase poco homogénea utilizada para alimentación animal. Mediante diferentes procesos de maduración, el almidón se extrae de ambas corrientes y se separa del gluten (proceso que requiere de tiempos de maduración elevados).

^{vy} Información extraída de la empresa Myande, dedicada a la fabricación de maquinaria industrial especializada en el montaje “llave en mano” de líneas de extracción de almidón y sus derivados, además de en otros sectores como el de aceites y grasas, fermentación de carnes, evaporación y cristalización. Para ampliar información se recomienda la consulta de su página web: <http://www.myandegroup.com/wheat-starch-process-technology.html>

Debido a los problemas relacionados con los productos químicos empleados para la producción de almidón, la investigación en este tema se enfoca en el cambio de estos reactivos e, incluso, la modificación completa de los procesos de producción, con la finalidad de emplear procedimientos en los que no intervengan agentes químicos, como el empleo de métodos físicos como los ultrasonidos¹⁶⁴.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



3. Almidón termoplástico (TPS)

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

El almidón puede tener dos usos distintos en aplicaciones poliméricas. En primer lugar, como se ha comentado anteriormente, puede emplearse directamente en forma de grano para producir mezclas con otros polímeros, en cuyo caso se considera al almidón como una carga en la matriz, por tanto, el almidón en forma de grano no puede utilizarse por sí solo para la fabricación de materiales plásticos, pues descompone antes de fundir. La segunda manera de emplear el almidón consiste en hacer que este pierda su estructura granular, consiguiendo que las moléculas de amilosa y amilopectina ganen cierta plasticidad y pueda moldearse hasta conseguir el producto deseado. Para ello, el almidón necesita de un proceso de gelatinización, para lo que es necesario contar con plastificantes que permitan llevar a cabo la disrupción de los granos, destacando el agua como uno de los plastificantes empleados habitualmente. El proceso de gelatinización tiene aparejados dos fenómenos físicos: la sinéresis y la retrogradación. Dependiendo del tipo de plastificante utilizado o la adición de un polímero coadyuvante, se observará una amplia variación en las propiedades finales del polímero¹⁶⁸. En este apartado se expone una introducción a la gelatinización del almidón, seguida de una introducción a los filmes de TPS, finalizando con las técnicas de procesado más comunes para la fabricación de los mismos.

3.1. Gelatinización, sinéresis y retrogradación

Para llevar a cabo el proceso de gelatinización es necesario el empleo de un plastificante, considerándose al agua como el plastificante por excelencia del almidón. En exceso de agua fría, el almidón comienza un proceso de hinchado (“*swelling process*”) mediante el cual, el agua comienza a penetrar en la estructura del almidón, pero sin la suficiente capacidad como para producir grandes cambios estructurales ni romper los enlaces entre las cadenas de las moléculas que conforman el grano. Con el aumento de la temperatura, el agua consigue penetrar de manera más intensa en el grano de almidón, provocando la disrupción de los puentes de hidrógeno entre las moléculas, consiguiendo la pérdida de la estructura granular del almidón para dar paso a una nueva estructura desordenada. La temperatura a la que este proceso tiene lugar, en el que se produce el cambio desde la fase de hinchado a la fase de disrupción del grano (gelatinización), depende mucho del origen del propio almidón, variando desde los 50°C en algunos casos hasta poco por debajo de los 100°C en otros, además de considerar también todas las temperaturas intermedias. Este es un proceso irreversible, pues, aunque se elimine el agua del medio, el almidón no volverá a recuperar su estructura granular^{zz}. A pesar de ello, eso no implica que las moléculas que componen el almidón no tengan tendencia a reorganizarse de nuevo, lo que lleva consigo aparejado dos fenómenos físicos: por un lado, la expulsión de plastificante de entre las cadenas,

^{zz} Este es precisamente el procedimiento para producir almidón pregelatinizado, ampliamente utilizado en la industria de la alimentación, siendo el componente mayoritario de, por ejemplo, el puré de patata vendido en formato sobre.

conocido como sinéresis; y, por otro, una reorganización de las estructuras cristalinas del almidón, conocido como retrogradación.

El primero de estos fenómenos, la sinéresis, se puede imaginar considerando a las moléculas de amilosa y amilopectina como si fueran unos “muelles” (Figura 3.1). Cuando la gelatinización tiene lugar, el “muelle” se ensancha y permite la entrada del plastificante entre las cadenas de amilosa y amilopectina de manera que, cuando la temperatura disminuye, las cadenas tienden a contraerse, pudiendo provocar la expulsión del plastificante hacia el exterior.

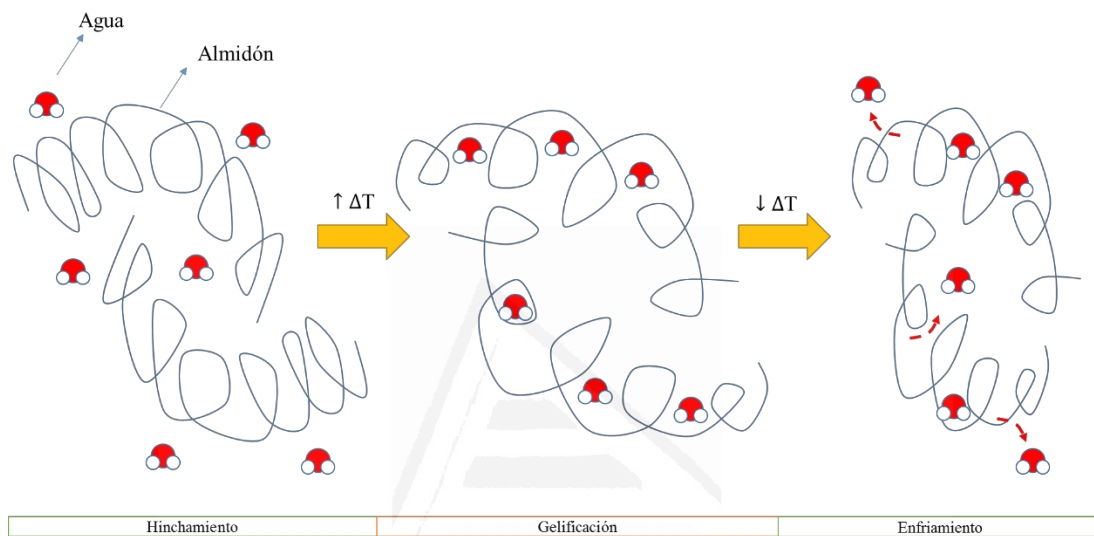


Figura 3.1. Esquema del proceso de gelatinización en el almidón: en primer lugar, el almidón sufre un proceso de hinchamiento debido a que las moléculas de agua fría comienzan a mojar toda la superficie de los granos de almidón. Cuando la temperatura sube, estas moléculas tienen la capacidad de romper los puentes de hidrógeno e introducirse entre las cadenas de amilosa y amilopectina. Finalmente, una vez completado el proceso de gelatinización, las moléculas pueden contraerse de nuevo, pudiendo ocasionar la expulsión del plastificante hacia el exterior.

El proceso de retrogradación es un mecanismo más complejo, considerando diferentes fenómenos físicos, pero puede explicarse de una manera sencilla porque es un proceso ampliamente estudiado en la industria de la alimentación debido a que puede afectar a los productos de consumo finales^{aaa}. Por un lado, la presencia de agua provoca que las moléculas de amilosa se segreguen de manera natural de las de amilopectina¹²⁷. Una vez la molécula de amilosa se encuentra aislada, puede plegarse sobre sí misma, formando una hélice simple que puede llegar a formar incluso cristalitas, los que se identifican con un polimorfismo de Tipo V si se analiza la muestra mediante rayos X^{127,169}. Además, la amilosa también puede formar hélices de doble cadena y condensar en un polimorfo que tiene un patrón de difracción similar al Tipo B. Por otro lado, las moléculas de amilopectina también pueden comenzar a contraerse intentando recuperar su estructura inicial,

^{aaa} Por ejemplo, la retrogradación es la responsable de que el pan se endurezca con el tiempo. A nivel industrial, una retrogradación del almidón puede ocasionar la modificación de la reología de los productos con los que se esté combinando (colas, pegamentos...) por lo que realmente es un fenómeno importante a tener en cuenta a la hora de utilizar almidón en diferentes aplicaciones.

habiéndose observado que cuanto mayor sea el grado de polimerización de las moléculas de amilopectina, mayor es la tendencia a este proceso¹⁷⁰. El proceso de retrogradación, como se puede intuir, también conlleva una liberación de plastificante hacia el exterior de la estructura. Es decir, la sinéresis puede considerarse como otro de los efectos de la retrogradación, pero no a la inversa.

En lo que se refiere a los filmes de TPS, conocer el efecto que tienen estos fenómenos sobre el material final es muy interesante para conocer si el filme, por ejemplo, expulsará mucho plastificante, provocando la pérdida de integridad del material; si éste será un material pegajoso; o, incluso, como afectará la retrogradación a las propiedades finales de este.

El procesado del TPS es complicado sin la presencia de agua, pues reduce la temperatura de gelatinización del almidón al mismo tiempo que actúa como plastificante del mismo¹⁶⁸. Sin embargo, el agua presenta dos problemas principales: en primer lugar, se evapora en condiciones normales, así como en los procesos de producción convencionales, que requieren de temperaturas de trabajo por encima de los 100°C; y, en segundo, los productos basados en almidón que solo contienen agua como plastificante muestran mucha rigidez y fragilidad, además de pobres propiedades mecánicas, resultando muy complicado trabajar con ellos. Por este motivo es necesario el empleo de otros plastificantes para conseguir un material que pueda ser empleado en aplicaciones reales, para lo que se han estudiado diferentes tipos, como el glicerol y otros polioles (sorbitol, xilitol o etilenglicol), compuestos nitrogenados, ácidos, etc. En el siguiente apartado se profundiza más en los filmes de TPS.

3.2. Filmes de TPS

Aproximadamente el 40% de los embalajes que se fabrican para la industria de la alimentación¹⁷¹ están fabricados con materiales plásticos, siendo desde hace décadas los derivados del petróleo, como el polietileno de baja densidad (LDPE), los que se han empleado para este propósito de manera más intensiva. La reducción de los reservorios de petróleo, así como la creciente demanda de materiales plásticos de un solo uso, unidos al gran problema medioambiental causado por una mala gestión de los residuos derivados del empleo de estos materiales, han hecho que el desarrollo de materiales plásticos basados en materias primas biodegradables, que además no generen un residuo al final de su vida útil, sea toda una prioridad¹⁷²⁻¹⁷⁴, tal y como se ha comentado en apartados anteriores. De todas las posibilidades, las basadas en almidón son las más interesantes debido a que este puede procesarse para fabricar filmes de TPS que sean inodoros, incoloros, transparentes y con baja permeabilidad al oxígeno¹⁷⁵. Además, como también se ha comentado, el almidón es actualmente muy empleado en la industria, lo que es una ventaja muy importante debido a su gran disponibilidad para la fabricación de nuevos productos basados en él.

El almidón puede obtenerse de una gran variedad de especies botánicas, lo que determinará el tamaño de los granos, su geometría, su composición (contenido en amilosa y amilopectina, monoésteres fosfato) y su peso molecular, características que afectan de manera significativa a las propiedades de los filmes fabricados con él. Por ejemplo, un peso molecular elevado puede provocar una menor retrogradación, pues el elevado tamaño de las cadenas puede dificultar el movimiento de las mismas después del proceso de gelatinización¹⁷⁶. Por otro lado, los monoésteres fosfato juegan un papel importante en la cristalinidad de los filmes, pues promueven el desdoblamiento de las dobles hélices formadas por las cadenas de glucosas, por lo que su presencia en los filmes alterará las propiedades finales del mismo, siendo más evidentes en aquellos que empleen almidones procedentes de tubérculos, debido a que estos suelen contener una mayor proporción de este tipo de compuestos¹⁷⁷.

Como se ha comentado, debido a la estructura granular del almidón, este debe ser plastificado, pero el almidón no es soluble en los solventes comunes ni en agua fría^{178,179}, aunque esta gelatinización sí se puede realizar en exceso de agua caliente con la presencia de un segundo plastificante. Tradicionalmente se ha considerado al agua como el mejor medio de plastificación, pero esta presenta una multitud de problemas, principalmente debido a su limitación para operar con ella por encima de los 100°C¹⁸⁰. Por este motivo, de manera habitual se emplean combinaciones entre el agua y otros plastificantes. Esta sustancia debe cumplir una serie de requisitos para poder emplearse en la producción de filmes de TPS, como una buena estabilidad térmica, baja volatilidad y baja toxicidad, así como una buena compatibilidad con la propia matriz de almidón. Uno de los plastificantes más utilizados es el glicerol pero, a pesar de ello, también presenta desventajas, como el rápido envejecimiento y retrogradación de los filmes fabricados con él^{181,182}. Las propiedades finales del filme dependerán de manera considerable en la composición y estructura del almidón de partida, así como del proceso de fabricación del mismo. Este hecho dificulta en gran medida la comparación de los resultados obtenidos por diferentes grupos de investigación. Por ejemplo, en la Figura 3.2 se muestra una representación del módulo de elasticidad de diferentes filmes de TPS plastificados con glicerol frente a la concentración de amilosa del almidón de partida. Todos los filmes representados tienen en común que han sido procesados mediante “casting” (véase apartado 3.3.1) utilizando una concentración de glicerina en torno al 30% sobre la masa de almidón en polvo. Como se observa en esta figura, parecería sensato concluir que, al aumentar el contenido en amilosa del almidón, también lo hace el módulo de elasticidad, pero reducir el análisis a esta afirmación no da respuesta a todas las preguntas como, por ejemplo, el por qué no se distingue una correlación clara entre este módulo y la fuente botánica. En este sentido, en la figura se pueden observar módulos de elasticidad muy diferentes para los almidones provenientes de una misma fuente botánica, por ejemplo, el maíz, que presenta 100 MPa en el caso de Luchese et al.¹⁵⁴ y casi 300 MPa para el de Domene et al.¹⁸³, o la poca

diferencia en el contenido en amilosa de este último con el almidón de guisante presentado por Cano et. al.¹⁷⁵ pero con un módulo por encima de los 400 MPa. Esto hace pensar que el contenido en amilosa del almidón de partida no es el único factor que afecta a las propiedades mecánicas de los filmes de almidón termoplástico y habrá que prestar atención también a otros parámetros, como el peso molecular, cristalinidad del filme o a la humedad relativa.

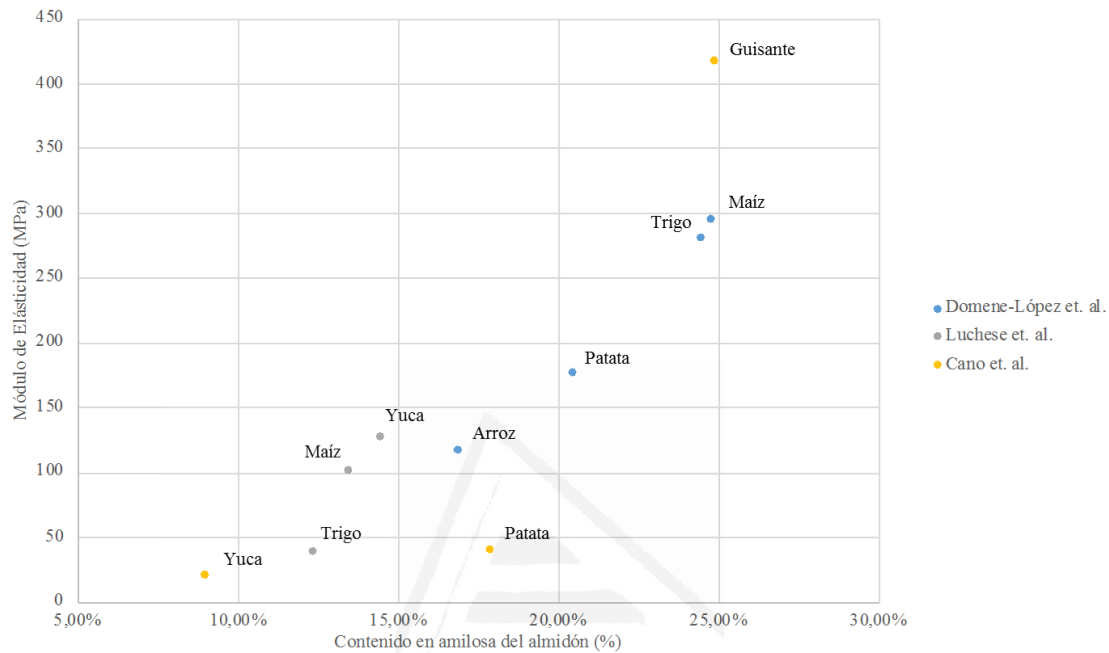


Figura 3.2. Representación de los módulos de elasticidad de diferentes filmes de TPS plastificados con un 30% de glicerina mediante “casting” frente al contenido en amilosa del almidón de partida. En azul se presentan los resultados del estudio de Domene-López et. al.¹⁸⁴, en gris los de Luchese et. al.¹⁵⁴, y en amarillo los resultados del trabajo de Cano et. al.¹⁷⁵

Además del glicerol, también se han investigado otros plastificantes para emplearlos en el proceso de gelatinización del almidón, como el sorbitol¹⁸⁵⁻¹⁸⁷, xilitol^{185,188}, maltitol¹⁸⁵, trietanolamina¹⁸⁶, etc. Dependiendo del plastificante utilizado las propiedades de los filmes pueden cambiar de manera significativa. Por ejemplo, en la Figura 3.3 se presenta la comparación entre el módulo de elasticidad y la tensión a rotura de filmes plastificados con glicerol, sorbitol y xilitol. En esta representación se observa de manera clara como un aumento en la tensión a rotura de los filmes está relacionada con un incremento en el módulo de elasticidad. En esta figura también se observa como el glicerol presenta la relación menor entre el módulo de elasticidad y la tensión de los filmes respecto a los otros dos polioles analizados, lo que puede estar relacionado con el mayor peso molecular que presenta tanto el sorbitol y el xilitol, cuestión que podría estar relacionada con el incremento del módulo de elasticidad. Pero de nuevo, la comparación entre las propiedades de los filmes ha de realizarse con cuidado, de hecho, en esta comparativa no se ha tenido en cuenta la proporción de plastificante en el filme, lo que claramente afecta a las propiedades finales del mismo. En esta figura se presentan filmes con una ratio de plastificante respecto a la masa de

almidón seco de entre el 20% y el 50% y, exceptuando las muestras de Mohsen Esmaeili et. al.¹⁸⁷, los filmes están procesados mediante casting y ensayados mecánicamente para valores de humedad relativa cercanos al 50%. De manera general, se puede asumir que un incremento en la concentración de plastificante producirá una disminución en la cristalinidad residual del filme, aumentando la fase amorfa del mismo, lo que irá en detrimento del módulo de elasticidad. Un ejemplo de lo anterior se expone en la Figura 3.4, en la que se muestra la evolución del módulo de elasticidad para filmes de almidón con diferentes proporciones de plastificante (de nuevo glicerol, sorbitol y xilitol) presentados por diferentes autores en el que se observa como al aumentar la cantidad de plastificante en el filme se reduce, de manera muy considerable, el módulo de elasticidad.

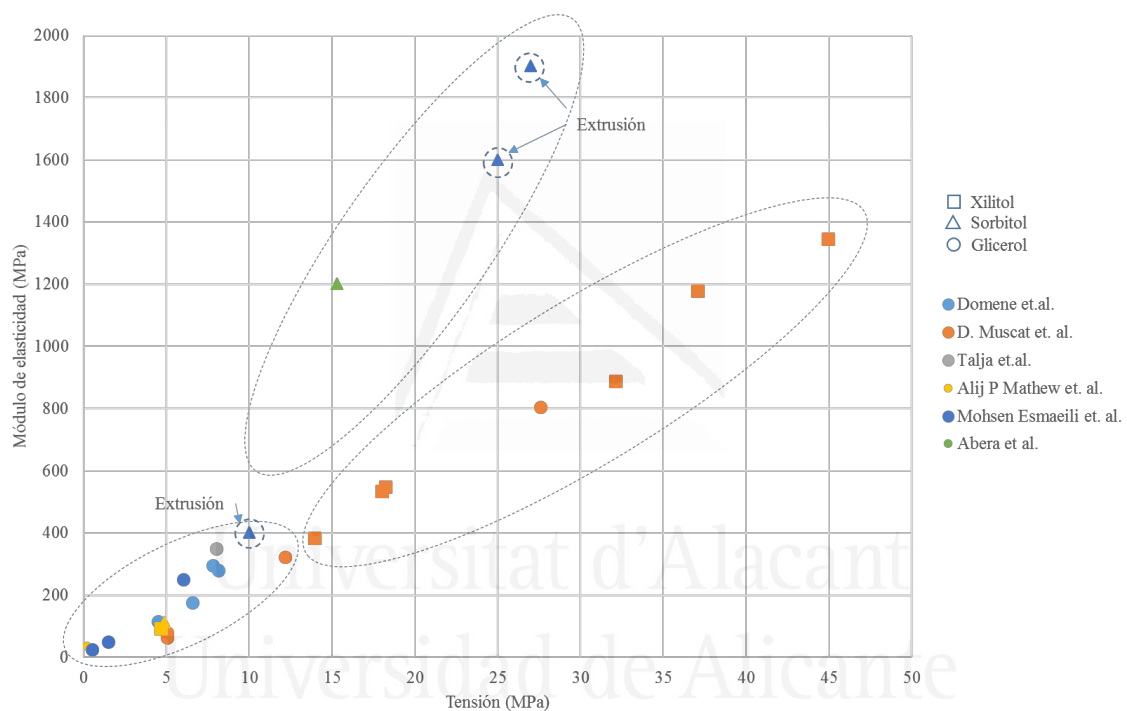


Figura 3.3. Representación del módulo de elasticidad frente a la tensión a rotura para muestras de almidón termoplástico plastificadas con glicerina, sorbitol y xilitol presentadas por diferentes autores. En la gráfica, cada uno de los colores hace referencia a las muestras presentadas por cada autor, mientras que la forma geométrica de los marcadores es indicativa del tipo de plastificante utilizado.

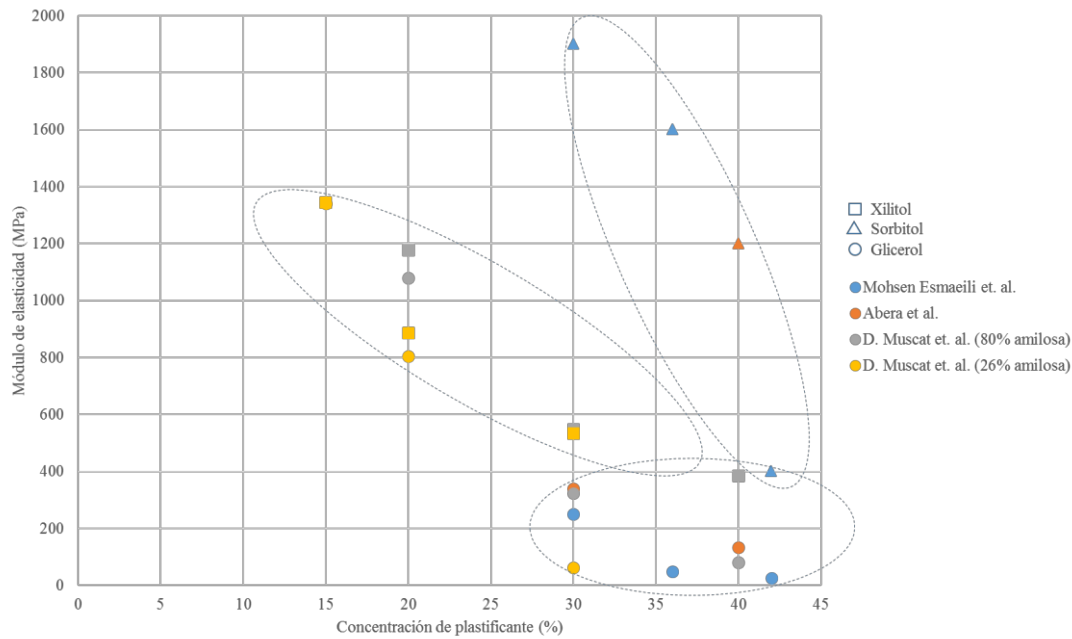


Figura 3.4. Representación del módulo de elasticidad frente a la concentración de plastificante para muestras de almidón termoplástico plastificadas con glicerina, sorbitol y xilitol presentadas por diferentes autores. En la gráfica, cada uno de los colores hace referencia a las muestras presentadas por cada autor, mientras que la forma geométrica de los marcadores es indicativa del tipo de plastificante utilizado.

Pero no solo los factores internos pueden alterar las propiedades de los filmes, sino que pueden verse afectados por factores externos, como el propio procesado del material o, incluso, la humedad relativa en el momento de realizar las pruebas. Aji P. Mathew et al.¹⁸⁵ fabricaron filmes de TPS plastificados con diferentes polioles con el objetivo de estudiar la influencia de la humedad relativa del ambiente en las propiedades mecánicas de los filmes. En la Tabla 1 se muestra un resumen de sus resultados, en los que se muestra el contenido en humedad, el módulo de elasticidad y la tensión a rotura de los diferentes filmes preparados. Como se puede observar, un incremento en la humedad relativa provoca cambios tanto en el módulo de elasticidad como en la tensión a rotura de los filmes, pero no se puede establecer una relación clara entre un incremento en la humedad relativa y estas variaciones, es decir, parece que la modificación en los valores de estas propiedades sea casual y no se pueda correlacionar directamente con la variación de la humedad relativa. Esto puede ser debido al mecanismo por el cual el filme se ve afectado cuando entra en contacto con la humedad, en la que sufrirá un incremento en su espesor que podrá realizarse de manera homogénea, o no, en toda la extensión de la probeta; o la capacidad de penetración que tenga esa humedad en el grueso del filme, dificultando mucho el ensayo y la extracción de conclusiones. Lo que parece no ser un proceso aleatorio es el incremento en el contenido de agua en los filmes cuando estos se someten a una humedad relativa mayor. Esto tiene sentido si se recuerda que el almidón es un material hidrofílico, lo que implica que en presencia de agua se hincha (“*swelling*”) previamente al proceso de gelatinización y, por tanto, el filme también tendrá afinidad para absorber agua en mayor o menor extensión cuando esté en un

ambiente húmedo. En cualquier caso, son necesarios más estudios para comprender mejor la afectación de la humedad relativa a las propiedades del filme.

Tabla 1. Resumen de resultados presentado por Aji P. Mathew et al. en el que se observa la afectación de la humedad relativa al contenido en humedad y propiedades mecánicas de filmes de TPS.

Plastificante	Humedad relativa	Humedad del filme	E(MPa)	Tensión (MPa)
Glicerol	0%	3%	-	-
	35%	8%	30	0.76
	43%	16%	12	1.13
	58%	17%	38	0.23
	75%	24%	18	0.76
Xilitol	0%	3%	110	7.46
	31%	8%	77	4.33
	43%	12%	59	5.2
	58%	16%	93	4.68
	75%	23%	91	3.86
Sorbitol	0%	4%	-	-
	31%	8%	88	9.2
	43%	10%	159	4.39
	58%	15%	112	4.9
	75%	24%	48	3.49
Maltitol	0%	3%	-	-
	31%	8%	-	-
	43%	9%	-	-
	58%	15%	126	4.03
	75%	24%	118	3.54

Como se adelantaba en los párrafos anteriores, además de los plastificantes convencionales, existen otro tipo de sustancias que también se están postulando como alternativa a los plastificantes más comunes, como los líquidos iónicos (ILs), debido a su gran capacidad para formar enlaces por puentes de hidrógeno con el almidón, lo que contribuye con la fase de disrupción del grano y mejorando el proceso de gelatinización¹⁸⁹. Además, el empleo de los ILs puede prevenir el proceso de retrogradación, lo que se traduce en filmes con unas propiedades físico-químicas más estables¹⁹⁰⁻¹⁹³. Sin embargo, no todos los ILs son adecuados para su empleo como plastificantes. Por ejemplo, los ILs que contengan aniones como el $[Cl]^-$ no son adecuados debido a la elevada capacidad de corrosión que tienen este tipo de aniones (pueden incluso formar HCl, que puede romper los enlaces glucosídicos del almidón), lo que provocaría la degradación

prematura del almidón^{191,193}. En este sentido, los ILs cosmotrópicos^{bbb} que contienen aniones acetato son los mejores candidatos. De entre todos ellos, el acetato de 1-etil-3-metilimidazolio ([Emim]⁺[Ac]⁻) es uno de los más populares¹⁹⁴⁻¹⁹⁶ debido a su alta estabilidad térmica y elevada actividad para interactuar con los grupos hidrógeno del almidón, así como a su baja densidad, presión de vapor, toxicidad y viscosidad a temperatura ambiente^{191,197,198}. De hecho, la comparación entre el [Emim]⁺[Ac]⁻ y [Emim]⁺[Cl]⁻ muestran como el anión acetato actúa mejorando el proceso de gelatinización del almidón, postulando al [Emim]⁺[Ac]⁻ como mejor plastificante¹⁹¹. Algunos autores han comparado los filmes de TPS plastificados con glicerol y con [Emim]⁺[Ac]⁻, revelando el mayor potencial que tiene el ILs en el proceso de gelatinización¹⁹². En cualquier caso, algunos autores han empleado este tipo de ILs para fabricar filmes de TPS y han concluido que el tipo de almidón no afecta a las propiedades de los filmes sino que es el propio líquido iónico utilizado el que tiene mayor influencia en esas propiedades¹⁹³, conclusión antagónica a lo observado en estudios previos, motivo por el cual son necesarias más investigaciones en este sentido, como la que se presentan en la Sección II (Artículos 1 y 2). Adicionalmente, el empleo de ILs como plastificantes puede utilizarse para producir TPS con capacidad para convertirse en electrolito sólido y un polímero iónicamente conductor, con un uso potencial en el seno de la industria de las baterías de litio, las celdas de combustible o incluso las células solares^{199,200}.

Tal y como sucede con otros materiales poliméricos, el TPS puede combinarse con micro o nanocargas con la finalidad de modificar sus propiedades, como por ejemplo el óxido de grafeno^{201,202}, las nanoarcillas^{203,204}, los nanowiskers de celulosa^{205,206} o los nanotubos de carbono^{207,208} (CNT^{ccc}). Estos últimos se han estudiado de manera extendida en la formulación de TPS plastificado con glicerina²⁰⁷⁻²⁰⁹, demostrando ser un refuerzo para la matriz polimérica debido a su estructura única con una elevada relación de aspecto y una baja densidad, además de sus propiedades exclusivas. Los CNT contribuyen a una mejora sustancial de las propiedades de los filmes de almidón, permitiendo la producción de filmes multifuncionales incluso para bajas concentraciones de CNT en la matriz de TPS debido a sus propiedades fisicoquímicas, eléctricas, mecánicas, ópticas y térmicas^{210,211}.

Otras estrategias para mejorar las características finales de los filmes de TPS se basan en el empleo de un polímero coadyuvante, siendo el alcohol polivinílico (PVA) uno de los más

^{bbb} Se define como cosmotrópico a la sustancia que actúa como co-solvente del agua, contribuyendo a la estabilidad de las interacciones entre las moléculas del agua, lo que al mismo tiempo favorece las interacciones intermoleculares en las macromoléculas, como las proteínas. Los agentes caotrópicos tienen el efecto opuesto, generando una disrupción en la estructura del agua, lo que de facto incrementa la solubilidad de las partículas no polares y la desestabilización de agregados.

^{ccc} Los Nanotubos de Carbono (CNT) fueron descritos por primera vez en el año 1976 por Oberlin, Endo, y Koyama; y más tarde descritos en mayor profundidad por Iijima en 1991.

interesantes debido a que puede mejorar las propiedades del almidón con un coste relativamente bajo y con la ventaja añadida de ser un polímero biodegradable^{212,213}. Además, debido a la gran cantidad de grupos hidroxilos con los que cuenta el PVA, este tiene una gran compatibilidad con el almidón, con el que puede formar enlaces por puentes de hidrógeno¹⁷⁵. Los filmes de TPS/PVA, empleando almidones procedentes de diferentes fuentes botánicas se han estudiado empleando el “casting” como técnica preferencial para la producción de los filmes^{175,212,214-216}, pero esta no es la técnica más adecuada a la hora de pensar en un escalado en la fabricación de estos materiales para su uso comercial. Debido al potencial de estos materiales, se han empleado técnicas más cercanas a la producción industrial, como es la mezcla en fundido, con la finalidad de mezclar estos polímeros y los plastificantes aplicando temperatura y cizalla^{172,213}. Con la finalidad de mejorar el procesado de los polímeros en los equipos de producción se pueden emplear aditivos. En este sentido, la colofonia (“Rosin”) se ha venido utilizando como ayudante de proceso y plastificante con otros biopolímeros, como el PLA^{217,218} y el PBAT²¹⁷. La resina de colofonia es interesante debido a su estructura química con anillos de fenantreno altamente hidrogenados²¹⁹, además de ser una sustancia biocompatible, biodegradable, no tóxica, con propiedades antimicrobianas, con disposición para la formación de filmes y habilidad para captar los rayos UV^{218,219}, todas ellas propiedades interesantes para incorporar en las matrices de TPS.

3.3. Técnicas para la producción de filmes de TPS

Al igual que ocurre con otro tipo de polímeros, el procesado de almidón termoplástico puede desarrollarse en diferentes niveles dependiendo del grado de desarrollo en el que se encuentre el material. El primero de ellos es un nivel considerado como prospectivo, en el que se procesa el almidón en exceso de solvente utilizando la técnica conocida como “casting”, y es útil para investigar cómo afectan diferentes parámetros (tipo de almidón y plastificante, contenido en amilosa, adición de cargas o nanocargas, empleo de polímeros coadyuvantes...) a los filmes de TPS permitiendo el control de todos los parámetros que afectan al proceso. El siguiente nivel implica trabajar, en un proceso en discontinuo, con la cantidad de plastificante necesaria que permita que la gelatinización del almidón tenga lugar, para lo que se pueden utilizar equipos de procesado de polímeros que trabajan en discontinuo, como una mezcladora semi-industrial o un plastógrafo, con lo que se puede controlar la temperatura y las fuerzas de cizalla del proceso. Las muestras procesadas de esta manera suelen precisar un post procesado con la finalidad de conformar las probetas para su ensayo o para la elaboración de los productos, cosa que se tendrá que realizar inmediatamente después del proceso de gelatinización, antes de que la mezcla enfríe, de lo contrario no podrá procesarse de manera adecuada. Finalmente, el tercero de los niveles es el procesado en continuo del material, que puede realizarse con equipos de extrusión con las que se obtiene el TPS en diferentes formatos (hilo, filamento, lámina, filme...) dependiendo del tipo

de boquilla utilizado. La línea de extrusión puede acoplarse con otro tipo de procesos, con la finalidad de conformar el TPS a la aplicación final requerida, como una etapa de soplado de filme (para la fabricación de bolsas, por ejemplo) o una etapa de inyección, para aplicaciones que requieran un mayor espesor (cubertería, platos, topes...).

3.3.1. Procesado de TPS mediante “casting”

Esta técnica es considerada como la más sencilla debido a que no necesita grandes equipos ni maquinaria para llevarla a cabo y se suele emplear a nivel de I+D. Quizá por ello, la producción de filmes de TPS mediante “casting” es una de las técnicas más extendidas para llevar a cabo la investigación con este tipo de materiales, pues permite la elaboración de filmes de almidón con una calidad suficiente para su estudio. Esta técnica es considerada como el “proceso ideal” en el que se puede tener un control relativamente sencillo de todas las etapas que envuelven al proceso (control del tiempo, temperatura, agitación...) con un equipamiento básico de laboratorio. La Figura 3.2 muestra un esquema del proceso. La manera habitual de proceder es agitar el almidón en exceso de agua a temperatura ambiente y en agitación constante, con el objetivo de comenzar con el proceso de hinchado del almidón (“*Swelling*”). Desde el inicio del proceso, o bien, justo antes de comenzar con el proceso de gelatinización, se añade el plastificante que, como se ha comentado puede ser glicerina u otro polialcohol, un líquido iónico o la sustancia que se precise estudiar. Siempre en agitación constante se eleva la temperatura, prestando atención a la viscosidad de la mezcla, que cambiará de manera abrupta en el momento en el que se alcance la gelatinización del almidón, y que puede ser muy diferente dependiendo del origen del material y sus características. Una vez completado el proceso de gelatinización, se eliminan las burbujas de aire que hayan podido introducirse en el gel formado debido a la agitación y se vierte la mezcla en recipientes planos con la finalidad de poder constituir un filme, para lo que es preciso la eliminación del agua mediante un proceso de secado suave en estufa. Cuando la cantidad de agua precisa ha sido eliminada, se podrá despegar el filme de su recipiente.

Esta parece una técnica sencilla, sin embargo tiene que seguirse un estricto procedimiento adquirido a través de la experiencia, pues presenta diversas complicaciones, como la transmisión de calor cuando comienza el proceso de gelatinización: en muchos casos, al alcanzar la temperatura de gelatinización del almidón, se produce un incremento abrupto en la viscosidad de la mezcla que puede ocasionar que la agitación no consiga distribuir bien el calor a toda la muestra, ocasionando que en un mismo filme coexistan zonas con diferente grado de plastificación. También el control del secado de los filmes puede ser una fuente de problemas, pues una mayor o menor intensidad en este proceso puede llevar a la no obtención del filme o, incluso, a la rotura de este antes de poder extraerlo del molde. Parámetros como la temperatura de secado, la apertura de la rejilla de la estufa o la velocidad del ventilador pueden ocasionar

modificaciones en este proceso, complicándolo de manera considerable. En cualquier caso, y de manera adicional a estos problemas, hay que sumar que esta metodología no puede escalarse a nivel industrial, además de ser costosa y lenta, aunque en algunas aplicaciones de alto valor añadido, en la que se puedan asumir esos costes, podría resultar de utilidad, como en aplicaciones biomédicas. A pesar de ello, como se ha comentado, esta es una de las técnicas más empleadas para el estudio de filmes de TPS, donde se pueden controlar todos los parámetros además de no precisar equipamiento complejo para llevar a cabo el proceso de producción del filme, por lo que esta ha sido la metodología escogida en los estudios mostrados en la sección II, artículos 1, 2 y 3.

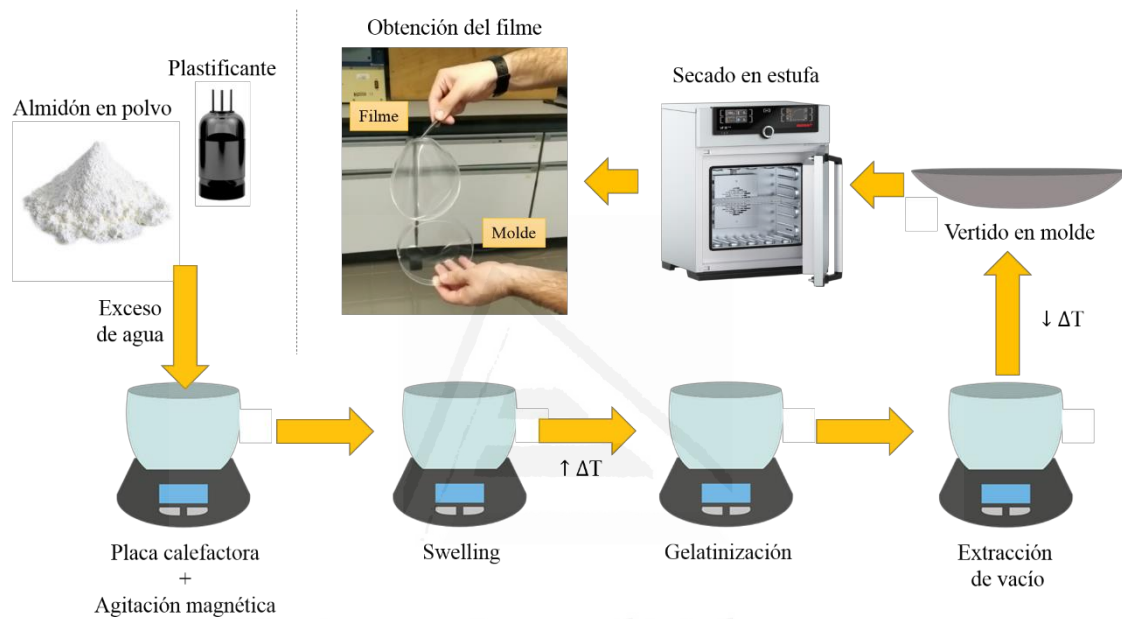


Figura 3.2. Esquema del proceso de fabricación de un filme de TPS mediante la técnica “casting”. En primer lugar, se introduce el almidón junto con el plastificante en un recipiente con exceso de agua, para seguidamente agitar vigorosamente la muestra a temperatura ambiente durante un tiempo controlado para favorecer el hinchamiento de los granos de almidón (“*Swelling*”). Posteriormente se aumenta la temperatura para conseguir la gelatinización del almidón, se extraen las burbujas que se hayan podido introducir en la mezcla utilizando vacío y se vierte sobre un molde que puede ser una placa Petri de plástico. Esta placa se introduce en estufa para completar el proceso de secado, tras el cual, se puede separar el filme de TPS del molde.

3.3.2. Procesado de TPS mediante mezcla en fundido

Una manera de investigar el comportamiento de los materiales basados en TPS en un entorno en el que las condiciones de operación son más cercanas a un proceso industrial, pero todavía empleando un proceso en discontinuo, es mediante la conocida como técnica de mezcla en fundido (“*melt-mixing*”). Este nombre tiene su origen en el procesado de materiales termoplásticos, si bien, aunque en el caso del almidón no se trate exactamente del mismo concepto, debido a que en este caso el almidón se transforma en TPS con un plastificante tras la aplicación de esfuerzos de cizalla y temperatura, se puede emplear esta misma terminología. Con esta técnica, al contrario que sucede en el “casting”, se emplea la cantidad precisa de plastificante para llevar a cabo la gelatinización del almidón. Los equipos empleados para realizar la mezcla

en fundido cuentan con unos husillos especialmente diseñados para ejercer un esfuerzo de cizalla (dependiendo del tipo de material pueden tener diferentes formas y tamaños), lo que contribuye con la disrupción de los granos de almidón, al mismo tiempo que se puede tener control de la temperatura de la cámara de mezcla. Este es el procedimiento empleado para el estudio mostrado en la sección II, artículo 4, en el que, una vez completado el proceso de gelatinización del almidón, las mezclas obtenidas se han termoconformado hasta conseguir una lámina de TPS que pueda ser analizada y caracterizada, tal y como se ilustra en la Figura 3.3. El procesado de TPS es muy complicado si no se emplea un exceso de plastificante, no pudiéndose reprocesar de una manera sencilla una vez han sido gelatinizados, por lo que una buena opción es combinar el almidón junto con otros polímeros, que tengan afinidad con él y que además sean biodegradables, como es el caso del PVA utilizado en este estudio.



Figura 3.3. Esquema del proceso de fabricación de láminas de TPS mediante mezcla en fundido. En primer lugar, se homogeniza el almidón con los plastificantes correspondientes y se introduce la mezcla en el plastógrafo, dónde se aplicará temperatura y cizalla hasta conseguir la gelatinización del almidón. Una vez obtenida la mezcla de TPS se emplea una prensa de platos calientes para conseguir transformar la mezcla obtenida en una lámina de TPS. Con esta lámina se pueden realizar los ensayos de caracterización y análisis del material.

Esta técnica también presenta alguna desventaja, entre la que destaca principalmente que es un proceso en discontinuo y que, cuando se trabaja en escala de laboratorio, se genera una pequeña cantidad de material en cada lote (en el caso de estudio unos 80g). Además, estos equipos suelen estar limitados para, por ejemplo, disponer de una extracción de vapor de agua o una alimentación

lateral, además de precisar de tiempos de residencia elevados para completar el proceso de gelatinización.

3.3.3. Procesado de TPS mediante extrusión.

Los dos procesos comentados anteriormente no pueden escalarse para producir un TPS que pueda comercializarse en grandes cantidades. Por este motivo, la producción de TPS ha de estudiarse desde un punto de vista en el que se utilice maquinaria y sistemas de producción que sean similares a los empleados en la industria. En este sentido, un ejemplo muy habitual son los procesos de extrusión de polímeros, que hoy día se encuentran muy desarrollados, existiendo equipos para el procesado de una gran cantidad de materiales. Actualmente existen diferentes equipos para llevar a cabo el proceso de extrusión, destacando las extrusoras de tornillo simple (tienen un único husillo) y las extrusoras de doble husillo (que pueden ser corotantes o antirotantes). Este tipo de maquinaria cuenta con una zona de alimentación, donde se introduce el almidón en polvo, el plastificante, los polímeros coadyuvantes y los aditivos. En el caso de los estudios para la fabricación de TPS se suele emplear de manera habitual la extrusión corotante. Estos equipos cuentan con dos husillos que tienen una configuración definida^{ddd} para el proceso que se está llevando a cabo y se encuentran situados de manera paralela y conectados al motor del equipo. Este tipo de maquinaria suele tener mucha versatilidad y es muy habitual que cuenten con diferentes zonas de alimentación y calefacción, además de entradas laterales para la introducción o extracción de sustancias durante el proceso. En el final de la extrusora se encuentra una boquilla por la que saldrá el material y, dependiendo del tipo de boquilla, se podrá obtener un producto con diferentes formatos: hilo, filamento, lámina o filme. En la Figura 3.4 se ilustra un sistema de extrusión de TPS.

Pero los equipos de extrusión, además de los tipos de boquillas comentadas anteriormente, pueden acoplarse a otro tipo de maquinaria, con la finalidad de producir productos plásticos inmediatamente después del proceso de extrusión. A modo de ejemplo, en la Figura 3.5 se muestra un esquema en el que la línea de extrusión puede acabar en un equipo de inyección, con lo que se pueden fabricar multitud de productos que requieran formas y espesores especiales como, en el

^{ddd} Los husillos de las máquinas de extrusión suelen tener una forma en espiral, con diferente paso de vuelta, encajando perfectamente con el husillo paralelo que le acompañará. La configuración de los husillos puede cambiarse para contar con diferentes zonas, dependiendo de la forma final que tengan las piezas que lo componen. Por ejemplo, una configuración habitual cuenta con una zona de transporte, en la que el material solo sufre la cizalla producida por el giro de los husillos empujándolo por ellos; una zona de mezcla, en la que los husillos cambian completamente su forma para, además de conseguir el avance del material por ellos, aplican un esfuerzo adicional sobre el material, llegando incluso a ralentizar el paso de este, provocando su mezcla con el material que va llegando posteriormente; y de nuevo otra zona de transporte hasta ser expulsado por la boquilla. Existen una gran variedad de husillos y configuraciones dependiendo del tipo de material a extrudir, además de las necesidades del propio proceso. Por ejemplo, si se quieren introducir cargas en la matriz, los husillos pueden tener zonas especiales para la dispersión de este material, lo que supone una aplicación de un esfuerzo en cizalla superior sobre la muestra.

caso de la figura, una suela producida con una mezcla de TPS, pero se podría utilizar para la fabricación de otros productos como platos, cubiertos, etc. También a modo de ejemplo, otra aplicación es la extrusión de filme soplado, con la que se pueden fabricar filmes que puedan ser empleados, por ejemplo, en la fabricación de bolsas. En la Figura 3.6 se muestra un ejemplo de esta aplicación, en la que se ha empleado una mezcla de TPS para la fabricación de los filmes.

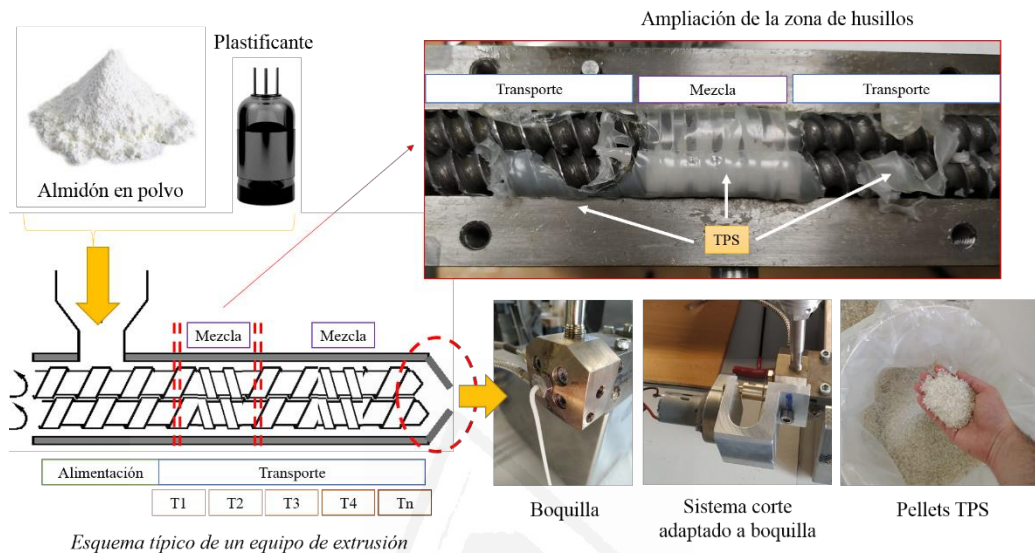


Figura 3.4. Esquema de un sistema de extrusión corotante de doble husillo. La mezcla de almidón y plastificantes se introducen en la zona de alimentación del equipo. Los husillos transportan el material hasta la boquilla, proceso en el que el almidón gelatiniza y se transforma en TPS debido a la presión y la temperatura en el interior de la extrusora. En la imagen la boquilla es de tipo filamento y está conectada a un sistema de corte para forma pellets de TPS. En la imagen superior se observa la cámara abierta, en la que se ven los husillos con dos zonas de transporte y una zona de mezcla en el centro donde se produce una acumulación de material, lo que promueve la mezcla del mismo.

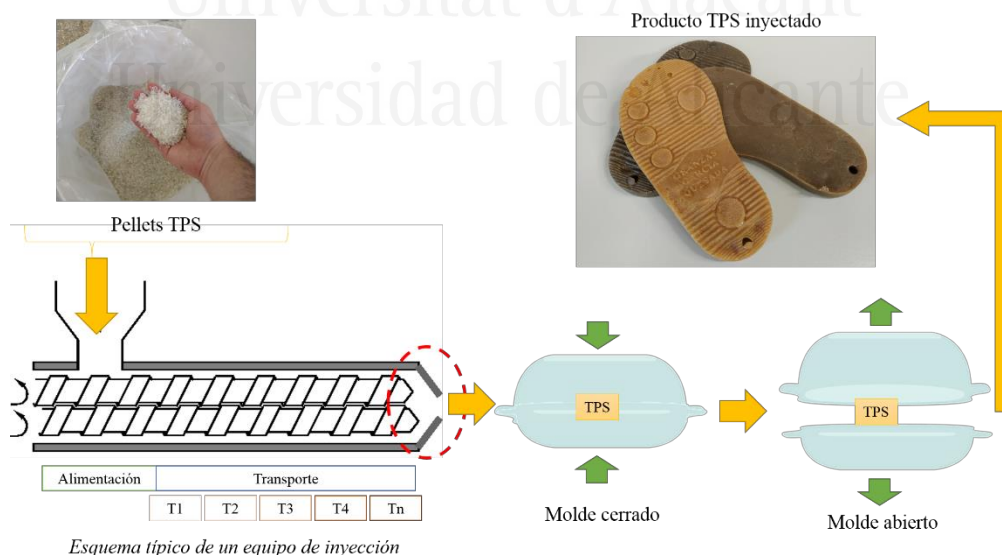


Figura 3.5. Esquema de un sistema de inyección. El sistema de extrusión es alimentado con los pellets de TPS, que son fundidos debido a la acción de la presión y temperatura aplicada por la máquina y son eyectados en el interior de un molde, donde el TPS se distribuirá de manera uniforme para conseguir la forma de la pieza. Una vez inyectado se enfría y se abre el molde, dejando caer la pieza producida, en el caso de la imagen, unas suelas de zapato.

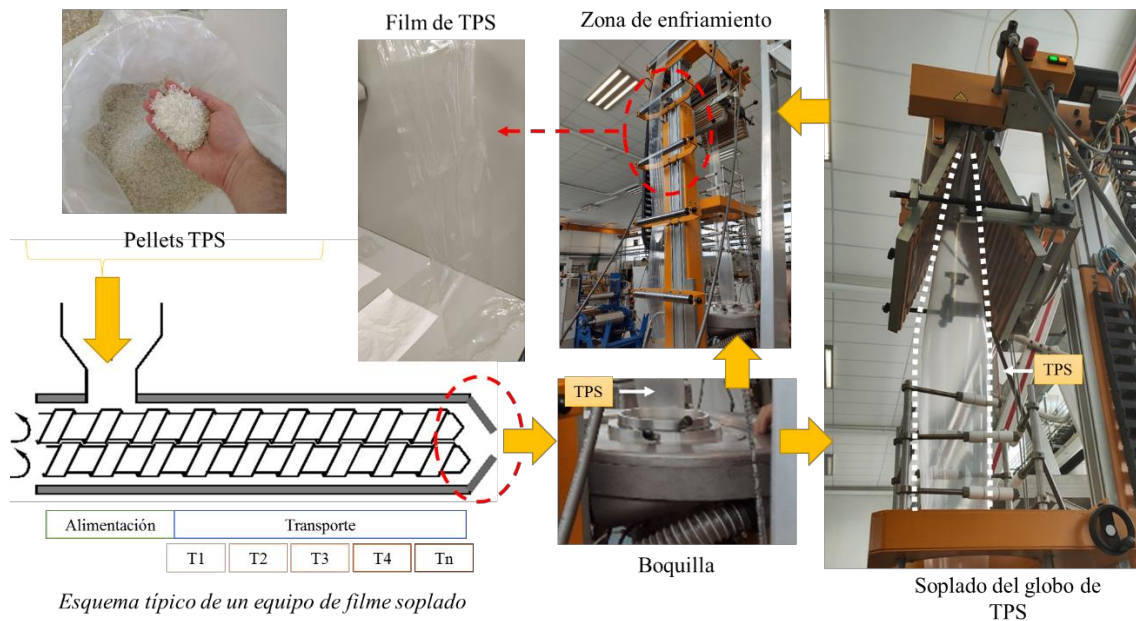


Figura 3.6. Esquema típico de un equipo de film soplado. Estos equipos cuentan con una primera etapa de extrusión, en la que se hacen circular los pellets fundidos que son impelidos hacia la boquilla circular dónde comenzará la formación del globo de TPS, que es impulsado de manera vertical hasta llegar a los rodillos superiores del equipo. Una vez arriba, será estirado y enfriado hasta la zona de enrollamiento donde se almacena para su posterior uso.

En cualquier caso, el empleo de este tipo de equipos en investigación da una visión más cercana sobre el comportamiento del material en una aplicación real, motivo por el cual son tan interesantes y están considerados como la última etapa antes del escalado final, en la que se comprueba si el material es apto para su producción en grandes cantidades (estos equipos pueden producir desde varios kilos hasta varias toneladas por hora), si es necesario añadir algún aditivo adicional o perfeccionar las formulaciones empleadas. Como se comentaba anteriormente, el “casting” es considerada una tecnología para la fabricación de filmes en condiciones ideales, pero podría resultar (y es bastante común) que la formulación empleada para la fabricación de un filme con esta tecnología no se adecuada para su procesado mediante extrusión.

Adicionalmente, este tipo de equipos también presentan algunos inconvenientes, como la aplicación de grandes fuerzas de cizalla en el material (lo que podría ocasionar la descomposición del almidón), problemas de transferencia de energía, problemas con la viscosidad del material, obturaciones y atascamientos... pero que se deberán superar con la finalidad de disponer de un material que realmente pueda ser útil para la sustitución de los polímeros convencionales. Los procesos de extrusión de TPS no se han estudiado en el presente trabajo, pero se expone este apartado aquí debido a que se considera de interés debido a que sería el siguiente nivel tecnológico a estudiar en la investigación de mezclas de TPS, y que ya se ha iniciado en el grupo de investigación.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



4. Objetivos de la investigación

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

A pesar de la gran cantidad de información encontrada en la literatura referida al TPS, todavía quedan preguntas que no se han respondido de manera clara, como por ejemplo la influencia de la composición del almidón (en su conjunto) en las propiedades finales de los filmes de TPS fabricados. Tampoco como se ven afectados estos parámetros dependiendo del tipo de plastificante utilizado, en el que algunos autores defienden la influencia imperativa que tiene el plastificante respecto de las características del propio almidón. Por este motivo, se han estudiado las propiedades de filmes de almidón termoplástico, fabricados con diferentes almidones y plastificados con glicerina y [Emim]⁺[Ac]⁻ con los objetivos de:

- comprender y estudiar la estructura y composición de los granos de almidón, empleando muestras de almidón procedentes de patata, maíz, trigo y arroz (Artículo 1); y
- estudiar el efecto de la composición (contenido en amilosa, amilopectina y monoésteres fosfato) y peso molecular de los granos de almidón con diferente origen botánico en los filmes de TPS plastificados con glicerina y [Emim]⁺[Ac]⁻ (Artículo 1 y 2).

Además, el empleo de nanocargas con la finalidad de modificar las propiedades de los materiales, como los MWCNT, se ha estudiado en diferentes matrices poliméricas, pero todavía existían preguntas sobre cómo podían afectar a ciertas propiedades de los filmes de TPS plastificados con [Emim]⁺[Ac]⁻, intuyéndose que, debido a las propiedades conductoras de los MWCNT y el plastificante, podrían tener un efecto sinérgico en el filme de TPS, por lo que otro objetivo de la investigación ha sido la:

- fabricación de nanocomposites de TPS y MWCNT para la producción de filmes con propiedades electroestáticas (Artículo 3).

Las formulaciones preparadas mediante “casting” raramente pueden utilizarse directamente en un equipo semi-industrial, y el procesado del almidón con la cantidad mínima de plastificante suele ser una tarea muy complicada. Con la finalidad de solventar estos problemas se pueden utilizar otros polímeros con los que ayudar al procesado el almidón, además de ser también común el empleo de aditivos, como la colofonia. Este último aditivo no se había estudiado previamente en las formulaciones de TPS, intuyéndose que podría mejorar la procesabilidad de las mezclas de TPS en los equipos, por lo que la investigación ha contado con otros dos objetivos:

- puesta a punto de una formulación de TPS procesable en discontinuo empleando un polímero biodegradable (PVA) como ayudante de proceso (Artículo 4); y
- el estudio de la influencia de la adición de resina de colofonia como ayudante de proceso en una formulación de TPS/PVA mediante mezcla en fundido (Artículo 4).

A continuación, el resumen de los resultados de los artículos mostrados en la Sección II.



5. Resumen de resultados

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

En este apartado se exponen de manera muy resumida los resultados obtenidos en la investigación publicada en los artículos presentados en la sección II, que constituyen el objeto de la presente tesis, y que darán paso al apartado de conclusiones, punto de cierre de la sección I.

5.1. Artículo 1: “Influence of Starch Composition and Molecular Weight on Physicochemical Properties of Biodegradable films”

Los filmes de almidón termoplástico (TPS) son considerados como una de las alternativas más prometedoras para el reemplazo de los polímeros sintéticos convencionales en la industria del embalaje, debido a su biodegradabilidad, bajo coste y gran disponibilidad. Las propiedades finales de los filmes de TPS se ven influenciadas en gran medida por la composición de los granos de almidón empleados para su producción. De esta manera, el contenido en amilosa y amilopectina, los monoésteres fosfato, así como el peso molecular del propio almidón, afectan claramente a estas propiedades. Atendiendo a lo anterior, en este trabajo se han preparado filmes de TPS empleando glicerina como plastificante a partir de almidón procedente de diferentes fuentes botánicas: patata, maíz, trigo y arroz. La técnica escogida para su fabricación ha sido la de “casting” y se ha estudiado cómo afecta la estructura y composición del grano de almidón en la microestructura, transparencia, contenido en humedad y solubilidad, cristalinidad y propiedades mecánicas de los filmes elaborados. De esta manera, se han producido filmes que son transparentes, fáciles de manejar y de despegar del molde, y con una microestructura homogénea en la que no se distinguen defectos ni granos de almidón sin gelatinizar (tan solo en la observación con AFM se observan los conocidos como “granos fantasmas” –que podrían ser Blocklets– pero en una proporción muy pequeña). Los valores del contenido en humedad se encuentran en torno al 12.5% para el caso del trigo y el arroz, mientras que el maíz contiene un 10% y la patata un 14%, valores que están por debajo de los encontrados en la literatura, y que los hace adecuados para aplicaciones en embalajes para alimentación. El grado de solubilidad se encuentra entre el 28% y el 32%, lo que está en concordancia con los resultados obtenidos en los ensayos de migración, que muestran como ésta es más elevada para los simulantes alimenticios preparados en base acuosa. El análisis XRD de los granos muestra los picos característicos de la estructura tipo B para el almidón de patata (tubérculo) y tipo A para el maíz, trigo y arroz (cereal). Cuando se estudian con esta técnica los filmes se observa una pérdida de la cristalinidad de los granos, claro indicativo del proceso de gelatinización. En los difractogramas es observable de manera clara la pérdida de intensidad en todos los picos asociados a los ángulos característicos de los granos, al mismo tiempo que se observa un nuevo pico asociado a un incremento de la fase amorfa centrado entre los ángulos $2\theta = 19.6^\circ - 19.8^\circ$, además de otros picos residuales, como el asociado al polimorfo Tipo V. De este análisis se extrae que el filme de arroz es el más plastificado

y el más amorfo, lo que finalmente provoca que sea el filme con menores prestaciones mecánicas. Finalmente, se ha comprobado como las propiedades mecánicas de los filmes se ven claramente influenciadas por el contenido en amilosa, el peso molecular del almidón y la cristalinidad final del filme, siendo los fabricados con almidón procedente de trigo y maíz los más resistentes, llegando a valores de tensión a rotura cercanos a 8 MPa. Estos almidones son los que mayor contenido en amilosa tienen, lo que puede provocar que contengan una mayor proporción de dominios cristalinos (como se observa en el XRD), que son causantes de una mayor resistencia debido a que pueden actuar como un nanorefuerzo del material. Estos resultados demuestran que los filmes de TPS son aptos para sustituir, por ejemplo, al polietileno de baja densidad (LDPE) en algunas de sus aplicaciones de un solo uso.

5.2. Artículo 2: “Comparative study on properties of starch films obtained from potato, corn and wheat using 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate as plasticizer”

Los filmes de almidón termoplástico se están postulando como sustitutos reales de los polímeros convencionales debido, entre otros factores, a su biodegradabilidad y bajo coste. El glicerol es uno de los plastificantes más interesantes para la producción de estos filmes, pero algunos líquidos iónicos se están posicionando como alternativa debido a la gran capacidad que tienen para construir puentes de hidrógeno con el almidón, aumentando su estabilidad y evitando, de esta manera, la retrogradación de los filmes. En este trabajo, se ha estudiado el efecto como plastificante del líquido iónico acetato de 1-etil-3-metilimidazolio ($[\text{Emim}]^+[\text{Ac}]^-$) para la producción de filmes de almidón procedente de tres fuentes botánicas: patata, maíz y trigo. La técnica escogida para la fabricación de los filmes es el “casting” y se han estudiado los efectos que tienen la microestructura y composición de los diferentes granos de almidón en las propiedades finales de los filmes producidos. De esta manera se han obtenido filmes transparentes (destacando el obtenido a partir de almidón de patata), claro indicativo de su elevado nivel de plastificación), que además son fáciles de manejar y despegar del molde. Los resultados han mostrado que los filmes tienen una microestructura homogénea y sin defectos (tan solo en el AFM se puede distinguir los “granos fantasmas” al igual que ocurre con los filmes obtenidos empleando glicerina como plastificante). El contenido en humedad de todos los filmes producidos es similar (entre un 10%-13%) encontrándose por debajo de lo descrito en la literatura, mientras que la solubilidad es elevada (maíz y trigo en torno al 34% y patata por encima del 40%), lo que va en beneficio de una mayor biodegradabilidad del material. El análisis mediante FTIR muestra como los filmes obtenidos con almidón de maíz y trigo presentan una proporción mayor de recristalización de las cadenas de almidón después del proceso de gelatinización respecto a los fabricados a partir de almidón de patata. Estos resultados coinciden con lo observado en los

difractogramas del análisis de XRD, en los que se observan picos residuales de cristalinidad para el caso del maíz y el trigo, además de la aparición de los picos típicos del polimorfo Tipo V relacionado con la recristalización de las cadenas de amilosa; mientras que para los filmes de patata no se obtiene un patrón claro, con la imposibilidad de distinción de ningún pico característico. De esta manera, se puede afirmar que los filmes elaborados con almidón de patata son los más amorfos debido a que su elevado peso molecular y contenido en monoésteres fosfato provoca una dificultad en el reagrupamiento de las cadenas de almidón, haciendo que la recristalización sea más complicada. Por otro lado, los filmes producidos con almidón de maíz y trigo muestran una cristalinidad mayor, debido a su bajo peso molecular, lo que puede facilitar el movimiento entre las cadenas, además de su bajo contenido en monoésteres fosfato. Esta estructura cristalina, encontrada en mayor proporción para el caso del maíz y el trigo, puede estar detrás de las mejores propiedades observadas en los filmes fabricados con estos almidones. Por este motivo, el plastificante utilizado en este trabajo puede considerarse adecuado para la manufactura de filmes de almidón a partir de maíz y trigo, con unas propiedades similares a las mostradas por el LDPE, pero medioambientalmente más sostenibles.

5.3. Artículo 3: “Electroconductive starch/multi-walled carbon nanotube films plasticized by 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate”

Con la finalidad de mejorar las propiedades de los filmes fabricados a partir de almidón de patata, plastificados con el líquido iónico acetato de 1-etil-3-metilimidazolio ($[\text{Emim}]^+[\text{Ac}]^-$), se han realizado nanocomposites entre esta matriz polimérica y nanotubos de carbono multicapa (MWCNT). Con esta finalidad se han producido filmes con diferentes concentraciones de MWCNT, variando su contenido entre el 0.25%-5% en masa respecto a la cantidad de almidón y plastificante, y se han estudiado sus propiedades mecánicas, térmicas y eléctricas. Con el objetivo de comparar las propiedades obtenidas para estos filmes, también se han fabricado filmes de almidón plastificados con glicerina con las mismas concentraciones de MWCNT, pero debido a la elevada rigidez de los filmes obtenidos, no se han podido caracterizar sus propiedades mecánicas. En cualquier caso, los filmes fabricados con $[\text{Emim}]^+[\text{Ac}]^-$ pueden manejarse y separarse del molde de manera adecuada (aumentando la dificultad con la concentración de nanotubos), adquiriendo un color negro desde las concentraciones más pequeñas de MWCNT. La mejora en las propiedades de un material tras la adición de una carga radica principalmente en dos factores: por un lado, la dispersión de la carga en la matriz y, por otro, la afinidad entre la carga y la propia matriz. Por este motivo se ha estudiado la dispersión de los MWCNT en la matriz de almidón, tarea compleja que se ha tenido que realizar de manera indirecta utilizando la espectroscopia Raman, constatándose que el líquido iónico $[\text{Emim}]^+[\text{Ac}]^-$ favorece una mejor

dispersión de los nanotubos en la matriz respecto al glicerol. Este hecho se ha observado también mediante Microscopia Electrónica de Barrido. El contenido en humedad aumenta en los filmes plastificados con [Emim]⁺[Ac]⁻ con el incremento de la concentración de nanotubos, sin embargo, la solubilidad^{eee} disminuye para concentraciones pequeñas de MWCNT, pasando del 41.25% del filme sin nanotubos al 36% para concentraciones de nanotubos de entre 0.25% y 0.75%, mientras que para concentraciones más elevadas recupera la solubilidad del filme original. Al contrario, los filmes con glicerina muestran una humedad menor respecto al original mientras que la solubilidad de los mismos se mantiene constante para todos los filmes procesados con este plastificante. Relativo a las propiedades mecánicas de los films plastificados con [Emim]⁺[Ac]⁻ se ha comprobado como aquellos con un 0.5% de MWCNT consiguen un incremento en la tensión a rotura de un 327%, un 2484% para el módulo de elasticidad y un 82% en la elongación máxima. Este incremento se explica debido a una buena distribución de los MWCNT en la matriz polimérica debido al efecto sinérgico existente entre el plastificante [Emim]⁺[Ac]⁻ y los nanotubos. Este efecto sinérgico se hace todavía más evidente en el estudio de la conductividad eléctrica de los filmes, en el que se observa un incremento del 130% para una concentración de MWCNT del 3%. Estos filmes, que se han preparado mediante un proceso medioambientalmente sostenible tienen un elevado potencial en la industria del embalaje, para el transporte de materiales electrónicos, pero también en la industria de las baterías de litio, celdas de combustible o células solares.

5.4. Artículo 4: “Study of the behavior of biodegradable starch/polyvinyl alcohol/rosin blends”

El procesado de filmes de almidón mediante la tecnología “casting” está lejos de una fabricación de los filmes a gran escala, por lo que es preciso el empleo de otras tecnologías como el procesado mediante mezcla en fundido para conseguir materiales de mejor escalabilidad con la finalidad de emplearse en procesos industriales. En muchas ocasiones, este salto tecnológico implica el empleo de polímeros coadyuvantes que faciliten el procesado del almidón, además de la adición de ayudantes de proceso (que también pueden emplearse en otras técnicas como el “casting” para mejorar las características de los filmes). Bajo esa premisa, en este trabajo se han preparado láminas de TPS a partir de almidón de patata y PVA con diferentes contenidos en colofonia (como aditivo), además de agua y glicerina. Los filmes se han procesado mediante mezcla en fundido con el objetivo de estudiar las mejoras en las propiedades en los filmes provocada por la

^{eee} En el documento publicado hay una errata para el valor de la solubilidad de la muestra sin dopar, donde aparece un 33.8% debe aparecer un 41.25%. Esta errata no modifica la discusión propuesta en el artículo, pero sí que añade una conclusión adicional al mismo y es que, la incorporación de pequeñas cantidades de MWCNT producen una disminución de la solubilidad del material.

introducción de la resina. La resina de colofonia es un producto de origen natural que se ha empleado con la intención de mejorar las propiedades mecánicas y la procesabilidad de las diferentes mezclas de TPS/PVA. Debido a su elevado peso molecular, se minimiza el efecto de sinéresis provocado por la retracción de las cadenas de amilosa y amilopectina que componen el almidón, evitando un efecto de migración de la resina hacia la superficie de los filmes. En este sentido, se han estudiado las propiedades hidrológicas del material, así como sus propiedades mecánicas y su microestructura. Las mezclas son convenientemente homogeneizadas y procesadas empleando un reómetro Haake actuando como plastógrafo, con el que se consigue una masa de TPS/PVA plastificada. Posteriormente, utilizando una prensa de platos calientes, se consiguen elaborar las láminas, para lo que se emplea un molde de 1 mm de espesor. Todas las láminas obtenidas tienen una elevada calidad, sin defectos superficiales aparentes, como burbujas u otro tipo de defectos. El aumento de la concentración de colofonia provoca un amarilleamiento de las láminas, como era esperado debido al color amarillo de la resina, y que van desde el 1% al 15% en masa sobre la formulación de referencia. También el incremento de la concentración en colofonia provoca una reducción importante en el contenido en humedad de las láminas, pasando del casi 15% de la muestra sin resina a apenas un 5% para la lámina con un 1% de resina, a partir del cual disminuye hasta casi el 2% para la lámina con un contenido en resina del 10%. La solubilidad sigue la misma tendencia que el contenido en humedad, pasando del casi 42% de la lámina sin resina y disminuyendo progresivamente hasta estabilizarse en valores cercanos al 35%. Aunque la solubilidad se relaciona directamente con una elevada biodegradabilidad, la disminución del valor de este parámetro es positiva, pues abre la variedad de aplicaciones en las que se pueden emplear estos materiales y en las que el contacto con el agua podría suponer un problema, por lo que la adición de una sustancia hidrofóbica como la colofonia mejora las prestaciones del material. Adicionalmente, la incorporación de este material como aditivo tiene importantes efectos en las propiedades mecánicas de las láminas, provocando un incremento sustancial en la tensión a rotura, desde los cercanos 6 MPa de la formulación de referencia hasta los casi 11MPa para la concentración óptima de resina encontrada cercana al 8%, ocasionando también la multiplicación por 4 de la elongación máxima a rotura, pasando de casi el 500% al 2000%. A partir de la concentración óptima se observa como la segregación de la resina, observada mediante SEM, es cada vez más patente, observándose una mayor concentración de granos de resina en la matriz además de grietas y otros defectos. Esta segregación también se observa en el análisis de DMA, con la aparición y evolución de un tercer pico de temperatura de transición con el aumento de la concentración de colofonia. El estudio de la viscosidad compleja muestra como el incremento en la concentración de resina disminuye la viscosidad en fundido del material, lo que es una ventaja a la hora de procesar los materiales en equipos industriales. En este sentido, las muestras con un contenido en resina por debajo del 8% presentan un comportamiento no-Newtoniano, mientras que, por encima de este valor, el comportamiento del

material es inesperado, no siguiendo la misma tendencia que para el resto de concentraciones. Finalmente, en el diagrama de Cole-Cole se observa un comportamiento complejo para las muestras con un contenido en colofonia por encima del 8%, claro indicativo de la aparición de una fase inmiscible en el material, tal y como se había observado con el SEM y en el DMA. Los resultados obtenidos contribuyen al refuerzo de este tipo de materiales como sustitutos de los polímeros convencionales en industrias como la de los embalajes, postulándose como una alternativa real con la ventaja adicional de su bajo coste y elevada biodegradabilidad.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



6. Colaboraciones con otros grupos de investigación

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Como se ha comentado en la introducción, la humedad relativa puede afectar a las propiedades finales del filme, aunque no se ha encontrado una correlación clara de cómo lo hace. De esta manera, con la finalidad de comprender más cómo la humedad relativa influye en las propiedades mecánicas de los films de TPS, en el grupo de investigación se ha estudiado, en colaboración con la NorthWestern University de Chicago, cómo afecta este fenómeno a filmes de TPS plastificados con glicerina y líquido iónico utilizando una microbalanza de cristal de cuarzo (QCM). En el estudio se ha observado cómo el módulo de elasticidad para los filmes plastificados con glicerol comienza a descender de manera suave para humedades relativas por debajo del 45%, valor a partir del cual la caída se torna más pronunciada; mientras que, para los filmes plastificados con líquido iónico, el módulo permanece constante hasta el 45% de humedad relativa, y por encima de este valor comienza a observarse un descenso considerable, tal y como se muestra en la Figura 6.1. Por tanto, se puede asumir que un incremento en la humedad relativa irá en detrimento de las propiedades mecánicas de los filmes y, teniendo en cuenta que el límite parece encontrarse en torno al 45%, se tendrá que prestar especial atención debido a que las condiciones en servicio de los materiales plásticos se encuentran, normalmente, por encima de este valor. Los resultados de esta investigación se encuentran en proceso de publicación²²⁰.

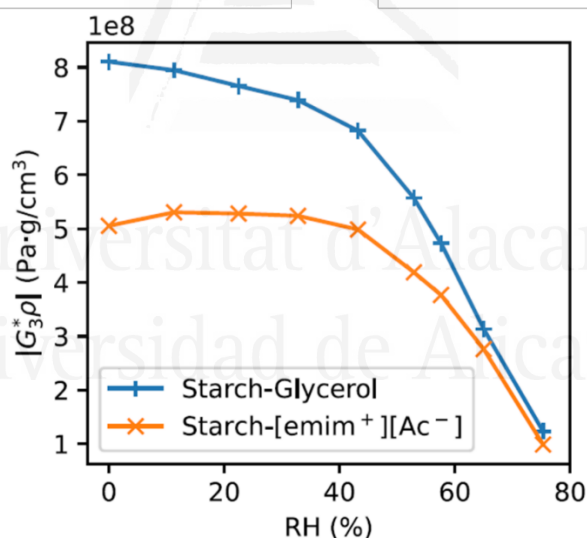


Figura 6.1. Módulo complejo respecto a la humedad relativa para filmes de almidón plastificados con glicerina (azul) y con [Emim]⁺[Ac]⁻ (naranja).



7. Conclusiones generales

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

La contaminación por residuo plástico no es una cuestión actual, viene de lejos, aunque es ahora cuando los problemas asociados a ella se hacen más evidentes, motivo por el cuál es el momento de llevar a cabo acciones precisas y eficaces que aporten soluciones de una manera rápida y concreta. El modelo de uso de los plásticos es difícil de sustituir de un día para otro, por lo que la estrategia más efectiva es la búsqueda de nuevos materiales poliméricos que tengan propiedades similares a los plásticos convencionales al mismo tiempo que no generan un problema medioambiental en ninguna de sus fases: extracción, fabricación, puesta en servicio y final de su vida útil. En este sentido, los biopolímeros biodegradables son una alternativa real, con aplicabilidad industrial y a unos costes competitivos. De entre todos los candidatos posibles, el almidón es uno de los más interesantes (si no el que más) debido a su gran abundancia y bajo coste.

De esta manera, de los resultados obtenidos en los diferentes estudios presentados en esta tesis se concluye que:

- Se ha comprobado como el origen botánico del almidón tiene un efecto fundamental en las propiedades finales de los filmes producidos. El contenido en amilosa, así como el peso molecular y contenido en monoésteres fosfato de los granos de almidón afecta a las propiedades mecánicas de los filmes. En términos generales, cuando se utiliza glicerina como plastificante, un mayor contenido en amilosa resulta en una mayor recristalización de esta tras el proceso de gelatinización del almidón, con la consiguiente formación del polimorfo Tipo V, pudiendo actuar como un nanorefuerzo del propio filme. De esta manera, de los almidones estudiados, el trigo y el maíz son los que producen filmes con una mayor tensión a rotura, coincidiendo con los almidones que mayor contenido en amilosa contienen.
- Adicionalmente, debido a que las cadenas de amilosa son más pequeñas que las de amilopectina, un almidón con un contenido en amilosa mayor tendrá un peso molecular menor, por lo que, si las propiedades mecánicas de los filmes se ven mejoradas para almidones con contenidos en amilosa, se infiere que un menor peso molecular irá en beneficio de estas propiedades, como se ha comprobado en el artículo 1.
- En cualquier caso, la comparación entre diferentes materiales se tiene que realizar atendiendo no solo a uno de los parámetros que influyen en sus propiedades finales, sino que se tendrá que realizar atendiendo a toda la historia que ha sufrido ese material, como en su procesado o la humedad relativa a la que se han realizado los ensayos.
- Aunque la glicerina sea el plastificante más empleado para la producción de filmes de TPS, otros plastificantes también pueden gelatinizar el almidón y tienen la capacidad para formar filmes con él. En este caso, el empleo de [Emim]⁺[Ac]⁻ para la producción de

- filmes a partir de almidón de patata, maíz y trigo se ha llevado a cabo de manera satisfactoria mediante la técnica “casting”.
- Adicionalmente, al igual que sucediera con otros plastificantes, como el glicerol, la composición de los diferentes granos afecta de manera significativa a las propiedades fisicoquímicas de los filmes producidos plastificados con [Emim]⁺[Ac]⁻. La cristalinidad de los filmes se ve muy afectada por el contenido en amilosa, el peso molecular y contenido en monoésteres fosfato de cada uno de los almidones. Por un lado, los filmes fabricados a partir de almidón de patata son más amorfos y transparentes debido a su mayor peso molecular y el elevado contenido en monoésteres fosfato. Por otro lado, los almidones de maíz y trigo hacen que los filmes obtenidos tengan una estructura cristalina más extensa debido, precisamente, a su menor peso molecular y bajo contenido en monoésteres fosfato, provocando que estos filmes tengan una mayor resistencia mecánica, llegando a ser comparables con otros polímeros convencionales, como se ha comprobado en el artículo 2.
 - La adición de una nanocarga, como los MWCNT, mejora considerablemente la tensión a rotura y el módulo de elasticidad de los filmes de TPS procesados con [Emim]⁺[Ac]⁻ incluso para concentraciones muy pequeñas de nanotubos.
 - La incorporación de MWCNT en los filmes de TPS tiene un efecto sinérgico debido a dos factores: por un lado la buena dispersión de la nanocarga en la matriz polimérica, comprobada de manera indirecta mediante espectroscopia Raman; y, por otro lado, debido a la afinidad existente entre el [Emim]⁺[Ac]⁻ y los MWCNT debido a que los nanotubos están convenientemente rodeados de líquido iónico, favoreciendo la interacción $\pi - \pi$, proporcionando un carácter polar para la compatibilidad entre las cadenas de almidón y los MWCNT.
 - Debido al efecto sinérgico, la conductividad de los filmes evoluciona positivamente con el incremento de la concentración de MWCNT más rápidamente para aquellos plastificados con [Emim]⁺[Ac]⁻ respecto a los plastificados con glicerina.
 - La introducción de MWCNT en los filmes plastificados con glicerina provoca un incremento tan grande en la rigidez de la muestra que no se pueden despegar del molde sin romper.
 - Para producir láminas de TPS en un proceso en continuo, es común el empleo de un polímero como el PVA que, además de ser biodegradable, tiene mucha afinidad con el almidón debido a que los grupos hidroxilos de ambas sustancias pueden interaccionar formando puentes de hidrógeno.
 - La adición de colofonia en la formulación de TPS/PVA tiene dos efectos claramente observables: por un lado, la incorporación de resina incrementa la tensión y elongación a rotura, disminuyendo el módulo de elasticidad; al mismo tiempo que reduce la viscosidad

en fundido, lo que implica que no solo mejora las prestaciones del material, sino que también ayuda a su procesado en la maquinaria empleada para su producción.

- Adicionalmente, debido al carácter hidrófobo de la resina, las láminas de TPS/PVA/colofonia tienen un contenido en humedad y solubilidad menor que la formulación de partida, lo que amplía el rango de aplicabilidad de estos materiales sin perjuicio de su carácter biodegradable.
- La adición de colofonia por encima de su concentración óptima (8%) provoca que la aparición de una segunda fase inmiscible en el material empeore las propiedades de las láminas producidas.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



8. Referencias

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

1. Ohtake, Y., Kobayashi, T., Asabe, H. & Murakami, N. Studies on biodegradation of LDPE - Observation of LDPE films scattered in agricultural fields or in garden soil. *Polym. Degrad. Stab.* **60**, 79–84 (1998).
2. O’Brine, T. & Thompson, R. C. Degradation of plastic carrier bags in the marine environment. *Mar. Pollut. Bull.* **60**, 2279–2283 (2010).
3. Colton, J. B., Knapp, F. D. & Bums, B. R. Plastic Particles in Surface. *Science (80-.)*. **185**, 491–497 (1974).
4. Thompson, R. C. *et al.* Lost at Sea: Where Is All the Plastic? *Science (80-.)*. **304**, 838 (2004).
5. Gregory, M. R. The hazards of persistent marine pollution: Drift plastics and conservation islands. *J. R. Soc. New Zeal.* **21**, 83–100 (1991).
6. Fabbri, D., Tartari, D. & Trombini, C. Analysis of poly(vinyl chloride) and other polymers in sediments and suspended matter of a coastal lagoon by pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* **413**, 3–11 (2000).
7. Jackson, G. D., Buxton, N. G. & George, M. J. A. Diet of the southern opah *Lampris immaculatus* on the Patagonian Shelf; the significance of the squid *Moroteuthis ingens* and anthropogenic plastic. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **206**, 261–271 (2000).
8. Moore, C. J. Synthetic polymers in the marine environment: A rapidly increasing, long-term threat. *Environ. Res.* **108**, 131–139 (2008).
9. Anderson, D. J. *et al.* Population status of the critically endangered waved albatross *Phoebastria irrorata*, 1999 to 2007. *Endanger. Species Res.* **5**, 185–192 (2008).
10. McAloose, D. & Newton, A. L. Wildlife cancer: A conservation perspective. *Nat. Rev. Cancer* **9**, 517–526 (2009).
11. Chakrabarti, S., Chaudhuri, B., Bhattacharjee, S., Das, P. & Dutta, B. K. Degradation mechanism and kinetic model for photocatalytic oxidation of PVC-ZnO composite film in presence of a sensitizing dye and UV radiation. *J. Hazard. Mater.* **154**, 230–236 (2008).
12. Fendall, L. S. & Sewell, M. A. Contributing to marine pollution by washing your face: Microplastics in facial cleansers. *Mar. Pollut. Bull.* (2009). doi:10.1016/j.marpolbul.2009.04.025
13. de Boer, J. Polychlorinated Biphenyls. *Encycl. Anal. Sci. Second Ed.* 214–225 (2004). doi:10.1016/B0-12-369397-7/00472-6
14. Colabuono, F. I., Taniguchi, S. & Montone, R. C. Polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in plastics ingested by seabirds. *Mar. Pollut. Bull.* (2010). doi:10.1016/j.marpolbul.2010.01.018
15. Zbyszewski, M. & Corcoran, P. L. Distribution and degradation of fresh water plastic particles along the beaches of Lake Huron, Canada. *Water. Air. Soil Pollut.* **220**, 365–372 (2011).
16. Iñiguez, M. E., Conesa, J. A. & Fullana, A. Microplastics in Spanish Table Salt. *Sci. Rep.* **7**, 8620 (2017).
17. Sisson, A. L., Schroeter, M. & Lendlein, A. Polyesters. in *Handbook of Biodegradable Polymers* 1–21 (Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2011). doi:10.1002/9783527635818.ch1
18. Lee, S. Y. Review Bacterial Polyhydroxyalkanoates. *Biotechnol. Bioeng.* **49**, 1–14 (1996).
19. Ienczak, J. L. & de Aragão, G. M. F. Biotechnologically Produced Biodegradable Polyesters. in *Handbook of Biodegradable Polymers* 23–44 (Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2011). doi:10.1002/9783527635818.ch2
20. Wallen, L. L. & Rohwedder, W. K. Poly- β -hydroxyalkanoate from Activated Sludge. *Environ. Sci. Technol.* **8**, 576–579 (1974).
21. Abrial, H. *et al.* Characterization of disintegrated bacterial cellulose nanofibers/PVA bionanocomposites prepared via ultrasonication. *Int. J. Biol. Macromol.* **135**, 591–599 (2019).
22. Lackner, M. Bioplastics. in *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology* 1–41 (John Wiley & Sons, Inc., 2015). doi:10.1002/0471238961.koe00006

23. Anderson, A. J. & Dawes, E. A. Occurrence, metabolism, metabolic role, and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates. *Microbiol. Rev.* **54**, 450–472 (1990).
24. Saratale, R. G. *et al.* Pretreatment of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) biomass feedstock for polyhydroxybutyrate (PHB) production and characterization. *Bioresour. Technol.* **282**, 75–80 (2019).
25. Dietrich, K. *et al.* Increasing PHB production with an industrially scalable hardwood hydrolysate as a carbon source. *Ind. Crops Prod.* **154**, (2020).
26. Alsafadi, D., Ibrahim, M. I., Alamry, K. A., Hussein, M. A. & Mansour, A. Utilizing the crop waste of date palm fruit to biosynthesize polyhydroxyalkanoate bioplastics with favorable properties. *Sci. Total Environ.* **737**, 139716 (2020).
27. Wen, Q., Ji, Y., Chen, Z. & Lee, D.-J. Use of sodium chloride to rapidly restore polyhydroxyalkanoates production from filamentous bulking without polyhydroxyalkanoates productivity impairment. *Bioresour. Technol.* **313**, 123663 (2020).
28. Thorat Gadgil, B. S., Killi, N. & Rathna, G. V. N. Polyhydroxyalkanoates as biomaterials. *MedChemComm* **8**, 1774–1787 (2017).
29. Abraham, G. A. *et al.* Microbial synthesis of poly(β -hydroxyalkanoates) bearing phenyl groups from *Pseudomonas putida*: Chemical structure and characterization. *Biomacromolecules* **2**, 562–567 (2001).
30. Grigore, M. E. *et al.* Methods of synthesis, properties and biomedical applications of polyhydroxyalkanoates: a review. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* **30**, 695–712 (2019).
31. Stojanović, G. M. *et al.* Comprehensive characterization of elastomeric polyhydroxyalkanoate and its sensor applications. *Mater. Sci. Eng. C* **115**, 111091 (2020).
32. Gao, X., Chen, J. C., Wu, Q. & Chen, G. Q. Polyhydroxyalkanoates as a source of chemicals, polymers, and biofuels. *Current Opinion in Biotechnology* **22**, 768–774 (2011).
33. Harmaen, A. S., Khalina, A., Ali, H. M. & Azowa, I. N. Thermal, Morphological, and Biodegradability Properties of Bioplastic Fertilizer Composites Made of Oil Palm Biomass, Fertilizer, and Poly(hydroxybutyrate-co-valerate). *Int. J. Polym. Sci.* **2016**, (2016).
34. Ivanov, V., Stabnikov, V., Ahmed, Z., Dobrenko, S. & Saliuk, A. Production and applications of crude polyhydroxyalkanoate-containing bioplastic from the organic fraction of municipal solid waste. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* **12**, 725–738 (2014).
35. Bugnicourt, E., Cinelli, P., Lazzeri, A. & Alvarez, V. Polyhydroxyalkanoate (PHA): Review of synthesis, characteristics, processing and potential applications in packaging. *Express Polym. Lett.* **8**, 791–808 (2014).
36. Sun, Y. *et al.* Effect of microplastics on greenhouse gas and ammonia emissions during aerobic composting. *Sci. Total Environ.* **737**, 139856 (2020).
37. McKeen, L. W. Plastics Used in Medical Devices. in *Handbook of Polymer Applications in Medicine and Medical Devices* 21–53 (Elsevier Inc., 2014). doi:10.1016/B978-0-323-22805-3.00003-7
38. Jamshidian, M., Tehrani, E. A., Imran, M., Jacquot, M. & Desobry, S. Poly-Lactic Acid: Production, applications, nanocomposites, and release studies. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **9**, 552–571 (2010).
39. Mehta, R., Kumar, V., Bhunia, H. & Upadhyay, S. N. Synthesis of poly(lactic acid): A review. *J. Macromol. Sci. - Polym. Rev.* **45**, 325–349 (2005).
40. Farah, S., Anderson, D. G. & Langer, R. Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications — A comprehensive review. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **107**, 367–392 (2016).
41. Lasprilla, A. J. R., Martinez, G. A. R., Lunelli, B. H., Jardini, A. L. & Filho, R. M. Poly-lactic acid synthesis for application in biomedical devices - A review. *Biotechnol. Adv.* **30**, 321–328 (2012).
42. Auras, R., Harte, B. & Selke, S. An Overview of Polylactides as Packaging Materials.

- Macromol. Biosci.* **4**, 835–864 (2004).
43. Rasal, R. M., Janorkar, A. V. & Hirt, D. E. Poly(lactic acid) modifications. *Prog. Polym. Sci.* **35**, 338–356 (2010).
 44. Ruderman, R. J., Bernstein, E., Kairinen, E. & Hegyeli, A. F. Scanning electron microscopic study of surface changes on biodegradable sutures. *J. Biomed. Mater. Res.* **7**, 215–229 (1973).
 45. Woodland, J. H. R., Yolles, S., Blake, D. A., Helrich, M. & Meyer, F. J. Long-Acting Delivery Systems for Narcotic Antagonists. *J. Med. Chem.* **16**, 897–901 (1973).
 46. Anderson, J. M. & Gibbons, D. F. The New Generation of Biomedical Polymers. *Biomater. Med. Devices. Artif. Organs* **2**, 235–248 (1974).
 47. Gourlay, S. J. *et al.* Biocompatibility testing of polymers: In vivo implantation studies. *J. Biomed. Mater. Res.* **12**, 219–232 (1978).
 48. Hench, L. L. Biomaterials. *Science (80-.)*. **208**, 826–831 (1980).
 49. Leenslag, J. W., Gogolewski, S. & Pennings, A. J. Resorbable materials of poly(L-lactide). V. Influence of secondary structure on the mechanical properties and hydrolyzability of poly(L-lactide) fibers produced by a dry-spinning method. *J. Appl. Polym. Sci.* **29**, 2829–2842 (1984).
 50. Casalini, T., Rossi, F., Castrovinci, A. & Perale, G. A Perspective on Polylactic Acid-Based Polymers Use for Nanoparticles Synthesis and Applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* **7**, 259 (2019).
 51. Armentano, I. *et al.* Bio-based PLA-PHB plasticized blend films: Processing and structural characterization. *LWT - Food Sci. Technol.* **64**, 980–988 (2015).
 52. Burgos, N. *et al.* Functional Properties of Plasticized Bio-Based Poly(Lactic Acid)-Poly(Hydroxybutyrate) (PLA-PHB) Films for Active Food Packaging. *Food Bioprocess Technol.* **10**, 770–780 (2017).
 53. Aversa, C., Barletta, M., Puopolo, M. & Vesco, S. Cast extrusion of low gas permeability bioplastic sheets in PLA/PBS and PLA/PHB binary blends. *Polym. Technol. Mater.* **59**, 231–240 (2020).
 54. Fortunati, E. *et al.* Processing conditions, thermal and mechanical responses of stretchable poly (lactic acid)/poly (butylene succinate) films. *Materials (Basel)*. **10**, (2017).
 55. Ahmed, J. *et al.* Active Chicken Meat Packaging Based on Polylactide Films and Bimetallic Ag-Cu Nanoparticles and Essential Oil. *J. Food Sci.* **83**, 1299–1310 (2018).
 56. Bher, A., Unalan, I. U., Auras, R., Rubino, M. & Schvezov, C. E. Toughening of poly(lactic acid) and thermoplastic cassava starch reactive blends using graphene nanoplatelets. *Polymers (Basel)*. **10**, 1–18 (2018).
 57. Castro-Aguirre, E., Iñiguez-Franco, F., Samsudin, H., Fang, X. & Auras, R. Poly(lactic acid)—Mass production, processing, industrial applications, and end of life. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **107**, 333–366 (2016).
 58. Mochizuki, M. Textile Applications. *Poly(Lactic Acid) Synth. Struct. Prop. Process. Appl.* 469–476 (2010). doi:10.1002/9780470649848.ch29
 59. Wang, G., Zhang, D., Wan, G., Li, B. & Zhao, G. Glass fiber reinforced PLA composite with enhanced mechanical properties, thermal behavior, and foaming ability. *Polymer (Guildf)*. **181**, (2019).
 60. Kandola, B. K., Mistik, S. I., Pornwannachai, W. & Anand, S. C. Natural fibre-reinforced thermoplastic composites from woven-nonwoven textile preforms: Mechanical and fire performance study. *Compos. Part B Eng.* **153**, 456–464 (2018).
 61. Nam, S. *et al.* Comparison of biodegradation of low-weight hydroentangled raw cotton nonwoven fabric and that of commonly used disposable nonwoven fabrics in aerobic Captina silt loam soil. *Text. Res. J.* **86**, 155–166 (2016).
 62. Castro-Muñoz, R. & González-Valdez, J. New trends in biopolymer-based membranes for pervaporation. *Molecules* **24**, 1–17 (2019).
 63. Nofar, M., Sacligil, D., Carreau, P. J., Kamal, M. R. & Heuzey, M. C. Poly (lactic acid) blends: Processing, properties and applications. *Int. J. Biol. Macromol.* **125**, 307–360 (2019).

64. Rossi, V. *et al.* Life cycle assessment of end-of-life options for two biodegradable packaging materials: Sound application of the European waste hierarchy. *J. Clean. Prod.* **86**, 132–145 (2015).
65. Xu, J. & Guo, B. H. Poly(butylene succinate) and its copolymers: Research, development and industrialization. *Biotechnol. J.* **5**, 1149–1163 (2010).
66. Adams, R. Biographical Memoir of Wallace Hume Carothers, 1896–1937. *Natl. Acad. Sci.* **XX**, 293–309 (1939).
67. Song, H. & Lee, S. Y. Production of succinic acid by bacterial fermentation. *Enzyme Microb. Technol.* **39**, 352–361 (2006).
68. Mazière, A., Prinsen, P., García, A., Luque, R. & Len, C. A review of progress in (bio)catalytic routes from/to renewable succinic acid. *Biofuels, Bioprod. Biorefining* **11**, 908–931 (2017).
69. Bodor, Z. *et al.* Model Driven Analysis of the Biosynthesis of 1,4-butanediol from Renewable Feedstocks in *Escherichia coli*. *Rev. Chim.* **70**, 3808–3817 (2019).
70. Li, D. *et al.* A systematic study of dyeing polybutylene succinate fibres. *Color. Technol.* **136**, 87–96 (2020).
71. Barletta, M. & Puopolo, M. Thermoforming of compostable PLA/PBS blends reinforced with highly hygroscopic calcium carbonate. *J. Manuf. Process.* **56**, 1185–1192 (2020).
72. Vytejková, S. *et al.* Testing of polybutylene succinate based films for poultry meat packaging. *Polym. Test.* **60**, 357–364 (2017).
73. Llana-Ruiz-Cabello, M. *et al.* Molecular characterisation of a bio-based active packaging containing *Origanum vulgare* L. essential oil using pyrolysis gas chromatography-mass spectrometry. *J. Sci. Food Agric.* **96**, 3207–3212 (2016).
74. Ahmed, S. (Editor). *Bio-based Materials for Food Packaging. Bio-based Materials for Food Packaging* (2018). doi:10.1007/978-981-13-1909-9
75. Číhal, P. *et al.* Aroma scalping characteristics of polybutylene succinate based films. *Polym. Test.* **46**, 108–115 (2015).
76. Hu, C. *et al.* Synthesis of isosorbide based flame retardants: Application for polybutylene succinate. *Polym. Degrad. Stab.* **164**, 9–17 (2019).
77. Pramanik, A. & Garg, S. Design of diffusion-controlled drug delivery devices for controlled release of Paclitaxel. *Chem. Biol. Drug Des.* **94**, 1478–1487 (2019).
78. Abay, N., Gurel Pekozer, G., Ramazanoglu, M. & Kose, G. T. Bone Formation from Porcine Dental Germ Stem Cells on Surface Modified Polybutylene Succinate Scaffolds. *Stem Cells Int.* **2016**, (2016).
79. Chen, S., Cheng, L., Huang, H., Zou, F. & Zhao, H. P. Fabrication and properties of poly(butylene succinate) biocomposites reinforced by waste silkworm silk fabric. *Compos. Part A Appl. Sci. Manuf.* **95**, 125–131 (2017).
80. Sahoo, S., Misra, M. & Mohanty, A. K. Enhanced properties of lignin-based biodegradable polymer composites using injection moulding process. *Compos. Part A Appl. Sci. Manuf.* **42**, 1710–1718 (2011).
81. Patel, M. K. *et al.* Second-generation bio-based plastics are becoming a reality - Non-renewable energy and greenhouse gas (GHG) balance of succinic acid-based plastic end products made from lignocellulosic biomass. *Biofuels, Bioprod. Biorefining* **12**, 426–441 (2018).
82. Li, Y., Zhao, L., Han, C. & Yu, Y. Biodegradable blends of poly(butylene adipate-co-terephthalate) and stereocomplex polylactide with enhanced rheological, mechanical properties and thermal resistance. *Colloid Polym. Sci.* **298**, 463–475 (2020).
83. Musioł, M. *et al.* (Bio)degradable polymeric materials for a sustainable future – part 1. Organic recycling of PLA/PBAT blends in the form of prototype packages with long shelf-life. *Waste Manag.* **77**, 447–454 (2018).
84. Jian, J., Xiangbin, Z. & Xianbo, H. An overview on synthesis, properties and applications of poly(butylene-adipate-co-terephthalate)–PBAT. *Adv. Ind. Eng. Polym. Res.* **3**, 19–26 (2020).
85. Spiegel, S. *Recent advances in applied polymer science. Journal of Applied Polymer Science* **135**, (2018).

86. Jiang, L., Wolcott, M. P. & Zhang, J. Study of biodegradable polylactide/poly(butylene adipate-co-terephthalate) blends. *Biomacromolecules* **7**, 199–207 (2006).
87. Lule, Z. C., Oh, H. & Kim, J. Enhanced directional thermal conductivity of polylactic acid/polybutylene adipate terephthalate ternary composite filled with oriented and surface treated boron nitride. *Polym. Test.* **86**, 106495 (2020).
88. Freitas, A. L. P. de L., Tonini Filho, L. R., Calvão, P. S. & Souza, A. M. C. de. Effect of montmorillonite and chain extender on rheological, morphological and biodegradation behavior of PLA/PBAT blends. *Polym. Test.* **62**, 189–195 (2017).
89. Pawar, S. P., Misra, A., Bose, S., Chatterjee, K. & Mittal, V. Enzymatically degradable and flexible bio-nanocomposites derived from PHBV and PBAT blend: assessing thermal, morphological, mechanical, and biodegradation properties. *Colloid Polym. Sci.* **293**, 2921–2930 (2015).
90. Han, J. G. & Park, S. J. Fabrication of PBAT/polyethylene blends mulching film via blown film extrusion process. *Korea Aust. Rheol. J.* **32**, 79–86 (2020).
91. Grimaldo, E. *et al.* Comparison of fishing efficiency between biodegradable gillnets and conventional nylon gillnets. *Fish. Res.* **213**, 67–74 (2019).
92. Grimaldo, E., Herrmann, B., Tveit, G. M., Vollstad, J. & Schei, M. Effect of using biodegradable gill nets on the catch efficiency of greenland halibut. *Mar. Coast. Fish.* **10**, 619–629 (2018).
93. Green, D. S., Boots, B., O'Connor, N. E. & Thompson, R. Microplastics Affect the Ecological Functioning of an Important Biogenic Habitat. *Environ. Sci. Technol.* **51**, 68–77 (2017).
94. Zuo, L. Z. *et al.* Sorption and desorption of phenanthrene on biodegradable poly(butylene adipate co-terephthalate) microplastics. *Chemosphere* **215**, 25–32 (2019).
95. Dai, L., Li, C., Zhang, J. & Cheng, F. Preparation and characterization of starch nanocrystals combining ball milling with acid hydrolysis. *Carbohydr. Polym.* **180**, 122–127 (2018).
96. Jobling, S. Improving starch for food and industrial applications. *Curr. Opin. Plant Biol.* **7**, 210–218 (2004).
97. L. Santana, Á. & Angela A. Meireles, M. New Starches are the Trend for Industry Applications: A Review. *Food Public Heal.* **4**, 229–241 (2014).
98. Omoregie Egharevba, H. Chemical Properties of Starch and Its Application in the Food Industry. *IntechOpen* (2019). doi:10.5772/intechopen.87777
99. Association European Starch Industry. EU Starch market data. *European Starch Industry Association* (2018). Available at: <https://starch.eu/the-european-starch-industry/>.
100. Kennedy, H. M. Starch- and Dextrin-Based Adhesives. *Adhes. from Renew. Resour.* 326–336 (1989).
101. Janković-Častvan, I. *et al.* Improvement of the mechanical properties of paper by starch coatings modified with sepiolite nanoparticles. *Starch/Staerke* **67**, 373–380 (2015).
102. Basta, A. H., El-Saied, H. & Lotfy, V. F. Performance of rice straw-based composites using environmentally friendly polyalcoholic polymers-based adhesive system. *Pigment Resin Technol.* **42**, 24–33 (2013).
103. Lubis, M. A. R., Park, B. & Hong, M.-K. Tuning of Adhesion and Disintegration of Oxidized Starch Adhesives for the Recycling of Medium Density Fiberboard. *BioResources* **15**, 5156–5178 (2020).
104. Nuryawan, A., Ridwansyah, Mulya Alamsyah, E. & Widyorini, R. Starch Based Adhesives Made from Durian Seed Through Dextrinization. *J. Phys. Conf. Ser.* **1542**, (2020).
105. Wang, X., Yuan, Y. & Yue, T. The application of starch-based ingredients in flavor encapsulation. *Starch/Staerke* **67**, 225–236 (2015).
106. Mastalska-Popławska, J., Sikora, M., Izak, P. & Góral, Z. Applications of starch and its derivatives in bioceramics. *J. Biomater. Appl.* **34**, 12–24 (2019).
107. Garcia, M. A. V. T., Garcia, C. F. & Faraco, A. A. G. Pharmaceutical and Biomedical Applications of Native and Modified Starch: A Review. *Starch/Staerke* **72**, 1–15 (2020).
108. Reichert, C. L. *et al.* Bio-Based Packaging: Materials, Modifications, Industrial

- Applications and Sustainability. *Polymers (Basel)*. (2020).
109. Gonsalves, K. E., Patel, S. H. & Chen, X. Development of Potentially Degradable Materials for Marine Applications. II. Polypropylene-Starch Blends. *J. Appl. Polym. Sci.* **43**, 405–415 (1991).
 110. Griffin, G. J. L. Biodegradable Fillers in Thermoplastics. *Am Chem Soc Div Org Coatings Plast Chem Prepr* **33**, 88–96 (1973).
 111. Cunningham, R. L., Carr, M. E. & Bagley, E. B. Preparation and properties of rigid polyurethane foams containing modified cornstarches. *J. Appl. Polym. Sci.* **44**, 1477–1483 (1992).
 112. Booma, M., Selke, S. E. & Giacin, J. R. Degradable Plastics. *J. Elastomers Plast.* **26**, 104–142 (1994).
 113. Evangelista, R. L., Nikolov, Z. L., Sung, W., Jane, J. lin & Gelina, R. J. Effect of Compounding and Starch Modification on Properties of Starch-Filled Low-Density Polyethylene. *Ind. Eng. Chem. Res.* **30**, 1841–1846 (1991).
 114. Ayu, R. S. *et al.* Effect of Empty Fruit Brunch reinforcement in PolyButylene-Succinate/Modified Tapioca Starch blend for Agricultural Mulch Films. *Sci. Rep.* **10**, 1–7 (2020).
 115. Abdillahi, H., Chabrat, E., Rouilly, A. & Rigal, L. Influence of citric acid on thermoplastic wheat flour/poly(lactic acid) blends. II. Barrier properties and water vapor sorption isotherms. *Ind. Crops Prod.* **50**, 104–111 (2013).
 116. Wu, D. & Hakkarainen, M. Recycling PLA to multifunctional oligomeric compatibilizers for PLA/starch composites. *Eur. Polym. J.* **64**, 126–137 (2015).
 117. Olaiya, N. G. *et al.* Properties and characterization of a PLA-chitin-starch biodegradable polymer composite. *Polymers (Basel)*. **11**, (2019).
 118. Koh, J. J., Zhang, X. & He, C. Fully biodegradable Poly(lactic acid)/Starch blends: A review of toughening strategies. *Int. J. Biol. Macromol.* **109**, 99–113 (2018).
 119. Xu, P. *et al.* Interfacial modification on polyhydroxyalkanoates/starch blend by grafting in-situ. *Carbohydr. Polym.* **174**, 716–722 (2017).
 120. Parulekar, Y. & Mohanty, A. K. Extruded biodegradable cast films from polyhydroxyalkanoate and thermoplastic starch blends: Fabrication and characterization. *Macromol. Mater. Eng.* **292**, 1218–1228 (2007).
 121. Coltelli, M. B. *et al.* Skin-compatible biobased beauty masks prepared by extrusion. *J. Funct. Biomater.* **11**, (2020).
 122. Fourati, Y., Tarrés, Q., Mutjé, P. & Boufi, S. PBAT/thermoplastic starch blends: Effect of compatibilizers on the rheological, mechanical and morphological properties. *Carbohydr. Polym.* **199**, 51–57 (2018).
 123. Zanela, J., Casagrande, M., Reis, M. O., Grossmann, M. V. E. & Yamashita, F. Biodegradable Sheets of Starch/Polyvinyl Alcohol (PVA): Effects of PVA Molecular Weight and Hydrolysis Degree. *Waste and Biomass Valorization* **10**, 319–326 (2019).
 124. Raj, B. & Somashekar, R. Structure – Property Relation in Polyvinyl Alcohol / Starch Composites. (2003).
 125. Boonsuk, P. *et al.* Modified cassava starch/poly(vinyl alcohol) blend films plasticized by glycerol: Structure and properties. *J. Appl. Polym. Sci.* **137**, 1–13 (2020).
 126. Rosicka-Kaczmarek, J., Tkaczyk, M., Makowski, B., Komisarczyk, A. & Nebesny, E. The influence of non-starch polysaccharide on thermodynamic properties of starches from facultative wheat varieties. *Eur. Food Res. Technol.* **243**, 2243–2253 (2017).
 127. Bertoft, E. Understanding Starch Structure: Recent Progress. *Agronomy* **7**, 56 (2017).
 128. Yoshimoto, Y., Tashiro, J., Takenouchi, T. & Takeda, Y. Molecular structure and some physicochemical properties of high-amylose barley starches. *Cereal Chem.* **77**, 279–285 (2000).
 129. Song, Y. & Jane, J. Characterization of barley starches of waxy, normal, and high amylose varieties. *Carbohydr. Polym.* **41**, 365–377 (2000).
 130. Glaring, M. A., Koch, C. B. & Blennow, A. Genotype-specific spatial distribution of starch molecules in the starch granule: A combined CLSM and SEM approach. *Biomacromolecules* **7**, 2310–2320 (2006).

131. Wang, S. & Copeland, L. Effect of Acid Hydrolysis on Starch Structure and Functionality: A Review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **55**, 1081–1097 (2015).
132. Nakamura, Y. *Starch book by Yasunori Nakamura*. (2015).
133. Takeda, Y., Shibahara, S. & Hanashiro, I. Examination of the structure of amylopectin molecules by fluorescent labeling. *Carbohydr. Res.* **338**, 471–475 (2003).
134. Fredriksson, H., Silverio, J., Andersson, R., Eliasson, A. C. & Åman, P. The influence of amylose and amylopectin characteristics on gelatinization and retrogradation properties of different starches. *Carbohydr. Polym.* **35**, 119–134 (1998).
135. Hizukuri, S. & Takagi, T. Estimation of the distribution of molecular weight for amylose by the low-angle laser-light-scattering technique combined with high-performance gel chromatography. *Carbohydr. Res.* **134**, 1–10 (1984).
136. Hanashiro, I. & Takeda, Y. Examination of number-average degree of polymerization and molar-based distribution of amylose by fluorescent labeling with 2-aminopyridine. *Carbohydr. Res.* **306**, 421–426 (1998).
137. Blazek, J. *et al.* Structural characterization of wheat starch granules differing in amylose content and functional characteristics. *Carbohydr. Polym.* **75**, 705–711 (2009).
138. Kozlov, S. S. *et al.* Structure of starches extracted from near-isogenic wheat lines : PPPart 2. Molecular organization of amylopectin clusters. *J. Therm. Anal. Calorim.* **87**, 575–584 (2007).
139. Varatharajan, V. *et al.* Impact of structural changes due to heat-moisture treatment at different temperatures on the susceptibility of normal and waxy potato starches towards hydrolysis by porcine pancreatic alpha amylase. *Food Res. Int.* **44**, 2594–2606 (2011).
140. Imberty, A., Buléon, A., Tran, V. & Péerez, S. Recent Advances in Knowledge of Starch Structure. *Starch - Stärke* **43**, 375–384 (1991).
141. Bogracheva, T. Y., Morris, V. J., Ring, S. G. & Hedley, C. L. The granular structure of C-type pea starch and its role in gelatinization. *Biopolymers* **45**, 323–332 (1998).
142. Bertoft, E., Piyachomkwan, K., Chatakanonda, P. & Sriroth, K. Internal unit chain composition in amylopectins. *Carbohydr. Polym.* **74**, 527–543 (2008).
143. Vamadevan, V., Bertoft, E. & Seetharaman, K. On the importance of organization of glucan chains on thermal properties of starch. *Carbohydr. Polym.* **92**, 1653–1659 (2013).
144. Pérez, S. & Bertoft, E. The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review. *Starch/Staerke* **62**, 389–420 (2010).
145. Pilling, E. & Smith, A. M. Growth ring formation in the starch granules of potato tubers. *Plant Physiol.* **132**, 365–371 (2003).
146. Gallant, D. J., Bouchet, B. & Baldwin, P. M. Microscopy of starch: Evidence of a new level of granule organization. *Carbohydr. Polym.* **32**, 177–191 (1997).
147. Tang, H., Mitsunaga, T. & Kawamura, Y. Molecular arrangement in blocklets and starch granule architecture. *Carbohydr. Polym.* **63**, 555–560 (2006).
148. Waduge, R. N., Xu, S., Bertoft, E. & Seetharaman, K. Exploring the surface morphology of developing wheat starch granules by using Atomic Force Microscopy. *Starch/Staerke* **65**, 398–409 (2013).
149. Baldwin, P. M., Adler, J., Davies, M. C. & Melia, C. D. High Resolution Imaging of Starch Granule Surfaces by Atomic Force Microscopy. *J. Cereal Sci.* **27**, 255–265 (1998).
150. Seetharaman, K. & Bertoft, E. Perspectives on the history of research on starch: Part I: On the linkages in starch. *Starch/Staerke* **64**, 677–682 (2012).
151. Buttrose, M. S. The Influence of Environment on the Shell Structure of Starch Granules. *Starch - Stärke* **15**, 213–217 (1963).
152. Huber, K. C. & BeMiller, J. N. Visualization of channels and cavities of corn and sorghum starch granules. *Cereal Chem.* **74**, 537–541 (1997).
153. Waterschoot, J., Gomand, S. V., Fierens, E. & Delcour, J. A. Production, structure, physicochemical and functional properties of maize, cassava, wheat, potato and rice starches. *Starch/Staerke* **67**, 14–29 (2015).
154. Luchese, C. L., Benelli, P., Spada, J. C. & Tessaro, I. C. Impact of the starch source on

- the physicochemical properties and biodegradability of different starch-based films. *J. Appl. Polym. Sci.* **135**, 1–11 (2018).
155. Luchese, C. L., Spada, J. C. & Tessaro, I. C. Starch content affects physicochemical properties of corn and cassava starch-based films. *Ind. Crops Prod.* (2017). doi:10.1016/j.indcrop.2017.09.020
 156. Deladino, L. *et al.* Corn starch systems as carriers for yerba mate (*Ilex paraguariensis*) antioxidants. *Food Bioprod. Process.* (2015). doi:10.1016/j.fbp.2014.07.001
 157. Hansen, P. I. *et al.* Starch phosphorylation - Maltosidic restrains upon 3'- and 6'-phosphorylation investigated by chemical synthesis, molecular dynamics and NMR spectroscopy. *Biopolymers* **91**, 179–193 (2009).
 158. Blennow, A. & Engelsen, S. B. Helix-breaking news: fighting crystalline starch energy deposits in the cell. *Trends in Plant Science* (2010). doi:10.1016/j.tplants.2010.01.009
 159. Blennow, A. & Svensson, B. Dynamics of starch granule biogenesis the role of redox-regulated enzymes and low-affinity carbohydrate-binding modules. *Biocatal. Biotransformation* **28**, 3–9 (2010).
 160. Kamasaka, H. *et al.* Inhibitory Effect of Phosphorylated Oligosaccharides Prepared from Potato Starch on the Formation of Calcium Phosphate. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **59**, 1412–1416 (1995).
 161. Hoover R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. *Carbohydr. Polym.* **45**, 253–267 (2001).
 162. Lim, S. T., Kasemsuwan, T. & Jane, J. L. Characterization of phosphorus in starch by ³¹P-nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Cereal Chem.* **71**, 488–493 (1994).
 163. Han, X. Z., Benmoussa, M., Gray, J. A., BeMiller, J. N. & Hamaker, B. R. Detection of proteins in starch granule channels. *Cereal Chem.* **82**, 351–355 (2005).
 164. El Halal, S. L. M., Kringel, D. H., Zavareze, E. da R. & Dias, A. R. G. Methods for Extracting Cereal Starches from Different Sources: A Review. *Starch/Stärke* **71**, 1–14 (2019).
 165. Cardoso, M. B., Putaux, J. L., Samios, D. & da Silveira, N. P. Influence of alkali concentration on the deproteinization and/or gelatinization of rice starch. *Carbohydr. Polym.* **70**, 160–165 (2007).
 166. Chaidez-Laguna, L. D. *et al.* Corn proteins solubility changes during extrusion and traditional nixtamalization for tortilla processing: A study using size exclusion chromatography. *J. Cereal Sci.* **69**, 351–357 (2016).
 167. Li, X. *et al.* Physicochemical properties of corn starch isolated by acid liquid and l-cysteine. *Food Hydrocoll.* **44**, 353–359 (2015).
 168. Xie, F., Halley, P. J. & Avérous, L. Rheology to understand and optimize processibility, structures and properties of starch polymeric materials. *Prog. Polym. Sci.* **37**, 595–623 (2012).
 169. Wang, S., Li, C., Copeland, L., Niu, Q. & Wang, S. Starch Retrogradation: A Comprehensive Review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **14**, 568–585 (2015).
 170. Yuan, R. C. & Thompson, D. B. Freeze-thaw stability of three waxy maize starch pastes measured by centrifugation and calorimetry. *Cereal Chem.* **75**, 571–573 (1998).
 171. Luchese, C. L., Garrido, T., Spada, J. C., Tessaro, I. C. & de la Caba, K. Development and characterization of cassava starch films incorporated with blueberry pomace. *Int. J. Biol. Macromol.* **106**, 834–839 (2018).
 172. Liu, Y., Mo, X., Pang, J. & Yang, F. Effects of silica on the morphology, structure, and properties of thermoplastic cassava starch/poly(vinyl alcohol) blends. *J. Appl. Polym. Sci.* **133**, (2016).
 173. Hornung, P. S. *et al.* Green Development of Biodegradable Films Based on Native Yam (*Dioscoreaceae*) Starch Mixtures. *Starch/Stärke* **70**, (2018).
 174. Oliveira, A. V. *et al.* Nanocomposite Films from Mango Kernel or Corn Starch with Starch Nanocrystals. *Starch - Stärke* **70**, 1800028 (2018).
 175. Cano, A. *et al.* Properties and ageing behaviour of pea starch films as affected by blend with poly(vinyl alcohol). *Food Hydrocoll.* **48**, 84–93 (2015).
 176. Chen, X. *et al.* Effect of molecular weight on crystallization, melting behavior and

- morphology of poly(trimethylene terephthalate). *Polym. Test.* **26**, 144–153 (2007).
177. Zhang, B. *et al.* Effects of amylose and phosphate monoester on aggregation structures of heat-moisture treated potato starches. *Carbohydr. Polym.* **103**, 228–233 (2014).
 178. Copeland, L., Blazek, J., Salman, H. & Tang, M. C. Form and functionality of starch. *Food Hydrocoll.* **23**, 1527–1534 (2009).
 179. Zhang, B. *et al.* Dissolution of Starch with Aqueous Ionic Liquid under Ambient Conditions. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **5**, 3737–3741 (2017).
 180. Matveev, Y. I., Grinberg, V. Y. & Tolstoguzov, V. B. The plasticizing effect of water on proteins, polysaccharides and their mixtures. Glassy state of biopolymers, food and seeds. *Food Hydrocoll.* **14**, 425–437 (2000).
 181. Malmir, S. *et al.* Effects of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) microparticles on morphological, mechanical, thermal, and barrier properties in thermoplastic potato starch films. *Carbohydr. Polym.* **194**, 357–364 (2018).
 182. Thakur, R. *et al.* Effect of starch physiology, gelatinization, and retrogradation on the attributes of rice starch- κ -carrageenan film. *Starch/Staerke* **70**, 1–10 (2018).
 183. Domene-López, D., García-Quesada, J. C., Martín-Gullon, I. & Montalbán, M. G. Influence of starch composition and molecular weight on physicochemical properties of biodegradable films. *Polymers (Basel)*. **11**, (2019).
 184. Domene-López, D., García-Quesada, J. C., Martín-Gullon, I. & Montalbán, M. G. Influence of starch composition and molecular weight on physicochemical properties of biodegradable films. *Polymers (Basel)*. **11**, 1–17 (2019).
 185. Mathew, A. P. & Dufresne, A. Plasticized waxy maize starch: Effect of polyols and relative humidity on material properties. *Biomacromolecules* **3**, 1101–1108 (2002).
 186. Abera, G., Woldeyes, B., Demash, H. D. & Miyake, G. The effect of plasticizers on thermoplastic starch films developed from the indigenous Ethiopian tuber crop Anchote (*Coccinia abyssinica*) starch. *Int. J. Biol. Macromol.* **155**, 581–587 (2020).
 187. Esmaeili, M., Pircheraghi, G. & Bagheri, R. Optimizing the mechanical and physical properties of thermoplastic starch via tuning the molecular microstructure through coplasticization by sorbitol and glycerol. *Polym. Int.* **66**, 809–819 (2017).
 188. Muscat, D., Adhikari, B., Adhikari, R. & Chaudhary, D. S. Comparative study of film forming behaviour of low and high amylose starches using glycerol and xylitol as plasticizers. *J. Food Eng.* **109**, 189–201 (2012).
 189. Colomines, G., Decaen, P., Lourdin, D. & Leroy, E. Biofriendly ionic liquids for starch plasticization: A screening approach. *RSC Adv.* **6**, 90331–90337 (2016).
 190. Ismail, S., Mansor, N., Majeed, Z. & Man, Z. Effect of Water and [Emim][OAc] as Plasticizer on Gelatinization of Starch. in *Procedia Engineering* **148**, 524–529 (Elsevier Ltd, 2016).
 191. Ismail, S., Mansor, N. & Man, Z. A Study on Thermal Behaviour of Thermoplastic Starch Plasticized by [Emim] Ac and by [Emim] Cl. in *Procedia Engineering* **184**, 567–572 (Elsevier Ltd, 2017).
 192. Zhang, B. *et al.* Different characteristic effects of ageing on starch-based films plasticised by 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate and by glycerol. *Carbohydr. Polym.* **146**, 67–79 (2016).
 193. Xie, F. *et al.* Characteristics of starch-based films plasticised by glycerol and by the ionic liquid 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate: A comparative study. *Carbohydr. Polym.* **111**, 841–848 (2014).
 194. El Seoud, O. A., Koschella, A., Fidale, L. C., Dorn, S. & Heinze, T. Applications of ionic liquids in carbohydrate chemistry: A window of opportunities. *Biomacromolecules* **8**, 2629–2647 (2007).
 195. Wilpiszewska, K. & Szychaj, T. Ionic liquids: Media for starch dissolution, plasticization and modification. *Carbohydrate Polymers* **86**, 424–428 (2011).
 196. Singh, S., Simmons, B. A. & Vogel, K. P. Visualization of biomass solubilization and cellulose regeneration during ionic liquid pretreatment of switchgrass. *Biotechnol. Bioeng.* **104**, 68–75 (2009).
 197. Sciarini, L. S. *et al.* Understanding the destructurement of starch in water-ionic liquid

- mixtures. *Green Chem.* **17**, 291–299 (2015).
198. Oosten, B. J. Interactions Between Starch and Electrolytes. *Starch - Stärke* **42**, 327–330 (1990).
199. Ning, W., Xingxiang, Z., Haihui, L. & Benqiao, H. 1-Allyl-3-methylimidazolium chloride plasticized-corn starch as solid biopolymer electrolytes. *Carbohydr. Polym.* **76**, 482–484 (2009).
200. Ning, W., Xingxiang, Z., Xuechen, W. & Haihui, L. Communications: Ionic liquids modified montmorillonite/ thermoplastic starch nanocomposites as ionic conducting biopolymer. *Macromol. Res.* **17**, 285–288 (2009).
201. Ávila-Orta, C. A. *et al.* Starch-graphene oxide bionanocomposites prepared through melt mixing. *J. Appl. Polym. Sci.* **135**, 1–8 (2018).
202. Li, R., Liu, C. & Ma, J. Studies on the properties of graphene oxide-reinforced starch biocomposites. *Carbohydr. Polym.* **84**, 631–637 (2011).
203. Mansour, G. *et al.* Characterization and properties of non-granular thermoplastic starch—Clay biocomposite films. *Carbohydr. Polym.* **245**, 116629 (2020).
204. Peidayesh, H., Ahmadi, Z., Khonakdar, H. A., Abdouss, M. & Chodák, I. Fabrication and properties of thermoplastic starch/montmorillonite composite using dialdehyde starch as a crosslinker. *Polym. Int.* **69**, 317–327 (2020).
205. Abdullah, A. H. D., Putri, O. D., Fikriyyah, A. K., Nissa, R. C. & Intadiana, S. Effect of microcrystalline cellulose on characteristics of cassava starch-based bioplastic. *Polym. Technol. Mater.* **59**, 1250–1258 (2020).
206. Granda, L. A. *et al.* Improved process to obtain nanofibrillated cellulose (CNF) reinforced starch films with upgraded mechanical properties and barrier character. *Polymers (Basel)*. **12**, 1–14 (2020).
207. Famá, L. M., Pettarin, V., Goyanes, S. N. & Bernal, C. R. Starch/multi-walled carbon nanotubes composites with improved mechanical properties. *Carbohydr. Polym.* **83**, 1226–1231 (2011).
208. Jose, J. *et al.* Compatibilizing role of carbon nanotubes in poly(vinyl alcohol)/starch blend. *Starch/Stärke* **67**, 147–153 (2015).
209. Mallakpour, S. & khodadadzadeh, L. Fructose functionalized MWCNT as a filler for starch nanocomposites: Fabrication and characterizations. *Prog. Org. Coatings* **114**, 244–249 (2018).
210. Mallakpour, S. & Rashidimoghadam, S. Application of ultrasonic irradiation as a benign method for production of glycerol plasticized-starch/ascorbic acid functionalized MWCNTs nanocomposites: Investigation of methylene blue adsorption and electrical properties. *Ultrason. Sonochem.* **40**, 419–432 (2018).
211. Mallakpour, S. & Nezamzadeh Ezhieh, A. Preparation and characterization of starch nanocomposite embedded with functionalized MWCNT: Investigation of optical, morphological, thermal, and copper ions adsorption properties. *Adv. Polym. Technol.* **37**, 2195–2203 (2018).
212. Aydin, A. A. & Ilberg, V. Effect of different polyol-based plasticizers on thermal properties of polyvinyl alcohol:starch blends. *Carbohydr. Polym.* **136**, 441–448 (2016).
213. Tian, H., Yan, J., Rajulu, A. V., Xiang, A. & Luo, X. Fabrication and properties of polyvinyl alcohol/starch blend films: Effect of composition and humidity. *Int. J. Biol. Macromol.* **96**, 518–523 (2017).
214. Jayasekara, R., Harding, I., Bowater, I., Christie, G. B. Y. & Lonergan, G. T. Preparation, surface modification and characterisation of solution cast starch PVA blended films. *Polym. Test.* **23**, 17–27 (2004).
215. Ramaraj, B. Crosslinked poly(vinyl alcohol) and starch composite films. II. Physicomechanical, thermal properties and swelling studies. *J. Appl. Polym. Sci.* **103**, 909–916 (2007).
216. Shi, R. *et al.* The effect of citric acid on the structural properties and cytotoxicity of the polyvinyl alcohol/starch films when molding at high temperature. *Carbohydr. Polym.* **74**, 763–770 (2008).
217. Moustafa, H., El Kissi, N., Abou-Kandil, A. I., Abdel-Aziz, M. S. & Dufresne, A.

- PLA/PBAT bionanocomposites with antimicrobial natural rosin for green packaging. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **9**, 20132–20141 (2017).
218. Narayanan, M., Loganathan, S., Valapa, R. B., Thomas, S. & Varghese, T. O. UV protective poly(lactic acid)/rosin films for sustainable packaging. *Int. J. Biol. Macromol.* **99**, 37–45 (2017).
219. Niu, X., Liu, Y., Song, Y., Han, J. & Pan, H. Rosin modified cellulose nanofiber as a reinforcing and co-antimicrobial agents in polylactic acid /chitosan composite film for food packaging. *Carbohydr. Polym.* **183**, 102–109 (2018).
220. Eaton, M. D. *et al.* Exploring the Effect of Humidity on Thermoplastic Starch Films using the Quartz Crystal Microbalance. *Submitt. to Carbohydr. Polym.* (2020).
221. Correa, C. A., de Santi, C. R. & Leclerc, A. Green-PVC with full recycled industrial waste and renewably sourced content. *J. Clean. Prod.* **229**, 1397–1411 (2019).
222. Kalmykova, Y., Sadagopan, M. & Rosado, L. Circular economy - From review of theories and practices to development of implementation tools. *Resour. Conserv. Recycl.* **135**, 190–201 (2018).
223. Europea, C. Informe de la comisión al parlamento europeo y al consejo sobre el impacto en el medio ambiente del uso de plásticos oxodegradables, incluidas las bolsas de plástico oxodegradables. (2018).



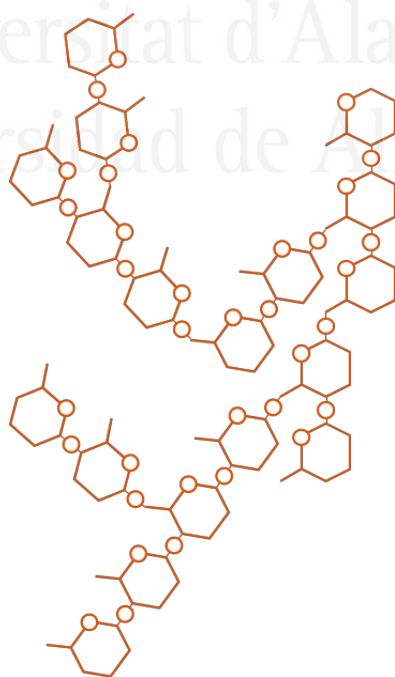
Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



SECCIÓN II

Artículos publicados

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



Influence of Starch Composition and Molecular Weight on Physicochemical Properties of Biodegradable films

Daniel Domene-López, Juan Carlos García-Quesada, Ignacio Martín-Gullón and Mercedes G. Montalbán

Chemical Engineering Department, University of Alicante, Apartado 99, 03080 Alicante, Spain

Abstract

Thermoplastic starch (TPS) films are considered one of the most promising alternatives for replacing synthetic polymers in the packaging field due to the starch biodegradability, low cost, and abundant availability. However, starch granule composition, expressed in terms of amylose content and phosphate monoesters, and molecular weight of starch clearly affects some film properties. In this contribution, biodegradable TPS films made from potato, corn, wheat, and rice starch were prepared using the casting technique. The effect of the grain structure of each starch on microstructure, transparency, hydration properties, crystallinity, and mechanical properties of the films, was evaluated. Potato starch films were the most transparent and corn starch films the most opaque. All the films had homogeneous internal structures—highly amorphous and with no pores, both of which point to a good starch gelatinization process. The maximum tensile strength (4.48–8.14 MPa), elongation at break (35.41–100.34%), and Young's modulus (116.42–294.98 MPa) of the TPS films were clearly influenced by the amylose content, molecular weight, and crystallinity of the film. In this respect, wheat and corn starch films, are the most resistant and least stretchable, while rice starch films are the most extensible but least resistant. These findings show that all the studied starches can be considered suitable for manufacturing resistant and flexible films with similar properties to those of synthetic low-density polyethylene (LDPE), by a simple and environmentally friendly process.

Keywords: TPS film; amylose content; molecular weight; crystallinity; mechanical properties

Reference: *Polymers* 2019, 11, 1084;

doi: 10.3390/polym11071084

Comparative study on properties of starch films obtained from potato, corn and wheat using 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate as plasticizer

Daniel Domene-López, J.J. Delgado-Marín, Juan Carlos García-Quesada, Ignacio Martín-Gullón and Mercedes G. Montalbán

Chemical Engineering Department, University of Alicante, Apartado 99, 03080 Alicante, Spain

Abstract

Starch films are gaining attention as substitutes of synthetic polymers due to their biodegradability and low-cost. Some ionic liquids have been postulated as alternatives to glycerol, one of the best starch plasticizers, due to their great capacity to form hydrogen bonds with starch and hence great ability of preventing starch retrogradation and increasing film stability. In this work, [Emim⁺][Ac⁻]-plasticized starch films were prepared from potato, corn and wheat starch. The effect of starch molecular structure in terms of granular composition (amylose and phosphate monoester contents) and molecular weight (Mw) on film properties was evaluated. Potato starch films were the most amorphous because of the higher Mw and phosphate monoester content of potato starch, both contributing to a lower rearrangement of the starch chains making the crystallization process difficult. In contrast, corn and wheat starches lead to more crystalline films because of their lower Mw, which may imply higher mobility and crystal growth rate, and lower phosphate monoester content. This more crystalline structure could be the responsible of their better mechanical properties. [Emim⁺][Ac⁻] can be considered suitable for manufacturing starch films showing corn and wheat starch films similar properties to synthetic low-density polyethylene, but involving a simple and environmentally friendly process.

Keywords: Starch film; 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate; mechanical properties

Reference: International Journal of Biological Macromolecules 135 (2019) 845–854

doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.004>

Electroconductive starch/multi-walled carbon nanotube films plasticized by 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate”

Daniel Domene-López, J.J. Delgado-Marín, Juan Carlos García-Quesada, Ignacio Martín-Gullón and Mercedes G. Montalbán

Chemical Engineering Department, University of Alicante, Apartado 99, 03080 Alicante, Spain

Abstract

Starch/multi-walled carbon nanotube (MWCNT) films were prepared by casting using an ionic liquid (1-ethyl-3-methylimidazolium acetate, [emim+][Ac-]) as plasticizer for the first time. The effect of the MWCNT content (0.25–5 wt%, with respect to the sum of starch and plasticizer mass) on thermal, mechanical and electro conductive behavior of the films was studied. Films containing 0.5 wt.% MWCNT showed increases of 327 % in maximum tensile strength, 2484 % in Young’s modulus and 82 % in elongation at break. The significant improvements are explained by the good MWCNT dispersion in the matrix and by the effect of [emim+][Ac-] as an efficient plasticizer, which leads to higher extensibility. The MWCNT/[emim+][Ac-] combination have a synergistic effect on film electrical conductivity, increasing a 130% (3 wt.% MWCNT). These films, easily prepared by a “green” process, have potential applications in the packaging industry but also in the field of lithium batteries, fuel cells and dye-sensitized solar cells.

Keywords: multi-walled carbon nanotube, 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate; electrical conductivity; mechanical properties

Reference: Carbohydrate Polymers 229 (2020) 115545

doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115545>

Study of the behavior of biodegradable starch/polyvinyl alcohol/rosin blends

Daniel Domene-López, María del Mar Guillén, Juan Carlos García-Quesada, Ignacio Martín-Gullón and Mercedes G. Montalbán

Chemical Engineering Department, University of Alicante, Apartado 99, 03080 Alicante, Spain

Abstract

Biodegradable potato starch/PVA samples containing different concentrations of rosin were prepared by melt mixing in order to study the enhancement of the properties of native starch films. Glycerol and polyvinyl alcohol (PVA) are commonly used as plasticizers of starch. Their relatively low molecular weight (compared with starch) contributes to a good processability. Rosin is a renewable product whose incorporation in the starch/PVA matrix induces processing aid and reinforcing effects. Its relatively high molecular weight might prevent its migration to the surface of the final product. Water content, solubility in water, mechanical properties, microstructure and dynamic mechanical analysis of the samples were studied. The addition of 8% rosin to starch/PVA blends led to tensile strength values higher than 10 MPa and elongation at break values close to 2000%, values comparable to those offered by conventional polymers used in food packaging, for example LDPE. Furthermore, starch compounds have low cost and high biodegradability.

Keywords: potato starch, polyvinyl alcohol, rosin, melt-mixing, polymer blend

Reference: Carbohydrate Polymers 202 (2018) 299-305

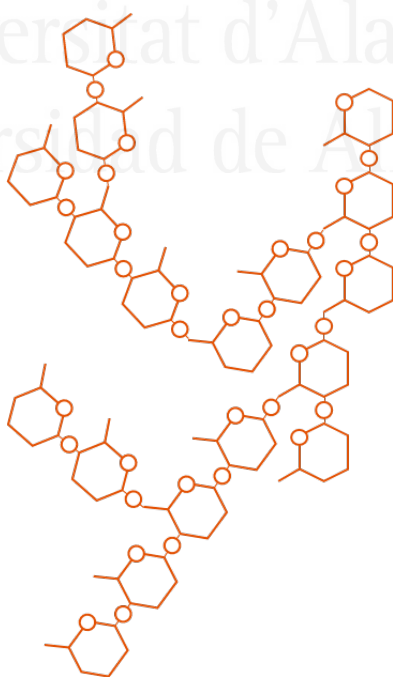
doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.08.137>



SECCIÓN III


Anexos

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



Sección III: Anexos

ANEXO I: Análisis de los granos de almidón mediante diferentes técnicas de caracterización	149
1. Análisis morfológico y tamaño de partícula de los granos de almidón	150
2. Determinación del contenido en amilosa y amilopectina en los granos de almidón	151
3. Determinación del contenido en fósforo en los granos de almidón	152
4. Determinación del peso molecular medio de las muestras de almidón	154
5. Contenido en Humedad de los granos	155
6. Estudio de la estructura cristalina de los diferentes granos de almidón	155
ANEXO II: Análisis y caracterización de los filmes de almidón termoplástico.....	157
1. Determinación de la humedad, solubilidad y migración en simulantes.....	158
2. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).....	159
3. Propiedades mecánicas.....	161
4. Transparencia	162
5. Análisis Termogravimétrico (TGA).....	163
6. Espectroscopia Infrarroja (ATR-FTIR).....	163
6.1. Determinación del grado de reordenamiento de los filmes.....	164
7. Difracción de rayos X (XRD).....	164
7.1. Características del ensayo	164
7.2. Ajuste del difractograma y deconvolución de los picos.....	165
7.3. Código para la determinación de la anchura a mitad de altura en los picos.....	166
8. Conductividad	169
ANEXO III: Introducción al AFM, preparación y ensayo de muestras de TPS	171
1. Introducción	172
1.1. Componentes principales y funcionamiento del AFM	173
1.2. Modos de operación.....	174
2. Materiales.....	177
3. Preparación de la muestra para su observación en el AFM	178
4. Obtención de las imágenes.....	178
ANEXO IV: Introducción al DMA, preparación y ensayo de muestras de TPS	181
1. Introducción a la técnica ³¹⁻³³ ,	182
2. Preparación de las muestras y ensayos realizados	187
ANEXO 5: Determinación de la concentración de MWCNT mediante espectroscopia Raman	189
1. Espectroscopia Raman	190
2. Obtención de las imágenes del mapeo Raman	191
3. Código para la obtención de los histogramas	192
Referencias	195



**ANEXO I: Análisis de los
granos de almidón
mediante diferentes
técnicas de caracterización**

Para llevar a cabo los estudios reflejados en este trabajo se han seleccionado los tipos de almidón más empleados en Europa según “*The European Starch Industry Association, Starch Europe*”^a: trigo, maíz y patata; además de incluir en el estudio el almidón procedente de arroz, debido a su gran disponibilidad, aunque de uso menos extendido. Estos almidones proceden de dos fuentes botánicas diferentes: tubérculo y cereal. De la primera, es característico el almidón de patata (Across Organics, Geel, Bélgica); mientras que, en la segunda, se incluyen el maíz, trigo y arroz (Sigma Aldrich, Madrid, España). Estos almidones tienen diferentes características: humedad, morfología, contenido en amilosa, etc., aspectos que serán estudiados con la finalidad de llevar a cabo una amplia caracterización de los materiales empleados.

1. Análisis morfológico y tamaño de partícula de los granos de almidón

Los granos de almidón se organizan en forma de capas (de una manera similar a una cebolla), siendo su estructura final dependiente tanto de las características de las moléculas que lo componen como de la fuente botánica del propio grano¹.

El estudio de la morfología de los granos puede llevarse a cabo con ayuda de la microscopía electrónica de barrido (SEM). Para ello, se ha empleado el microscopio ubicado en los Servicios Técnicos de Investigación de la Universidad de Alicante (SSTTI-UA), de la marca Hitachi (Modelo S3000N, Tokio, Japón), Figura I.1, que puede operar a diferentes potenciales de aceleración de los electrones. Para el estudio de los granos de almidón es posible trabajar a un voltaje de aceleración de 15 kV, suficiente para observar con claridad la morfología de las diferentes muestras.



Figura I.1. Disposición horizontal del microscopio de barrido situado en los Servicios Técnicos de Investigación de la Universidad de Alicante. Imagen reproducida literalmente de su página web.

^a *Starch Europe* es una asociación que representa los intereses de los productores de almidón, tanto en Europa como en el resto del ámbito internacional, con la finalidad de asegurar un suministro sostenible y confiable en un entorno competitivo justo. Información ampliada en su web: <https://starch.eu>

Para tener una buena calidad de las imágenes, es imprescindible que las muestras sean conductoras, por lo que ha sido necesario recubrir los granos de almidón con una fina capa de oro. Para ello se ha empleado un metalizador (Au) de la marca Balzers, modelo MED 020.

El tamaño medio de partícula se ha estudiado mediante difracción láser. Esta es una técnica ampliamente utilizada en la determinación de la granulometría de partículas con tamaños comprendidos entre los nanómetros y las micras. Con esta técnica se obtiene la distribución de tamaño medio de partícula a partir de la variación angular de la intensidad de la luz dispersada cuando un láser atraviesa una dispersión de partículas. De esta manera, las partículas de mayor tamaño dispersan la luz en ángulos pequeños; mientras que las pequeñas, lo hacen en ángulos grandes, respecto al haz de rayo láser. Con la teoría de Mie^b sobre la dispersión de la luz y el patrón de dispersión obtenido en el experimento, se puede determinar el tamaño de partícula como un diámetro de esfera equivalente al volumen de la partícula. El equipo utilizado para realizar este análisis es un difractómetro láser de la casa Malvern Instruments (modelo 2000, Worcestershire, UK) situado en la Universidad de Murcia.

2. Determinación del contenido en amilosa y amilopectina en los granos de almidón

La determinación del contenido en amilosa y amilopectina puede realizarse de diferentes maneras. Algunos autores realizan esta determinación mediante ensayos colorimétricos^{2,3} basados en la creación de un complejo coloreado entre el yodo y la amilosa que contiene el grano. Este procedimiento, además de laborioso, requiere de la realización de un calibrado y de reactivos de elevada pureza o, de lo contrario, puede estar sujeto a interferencias en el ensayo y a una baja reproducibilidad de los resultados. Además, el yodo también puede formar un complejo coloreado con la amilopectina, lo que es una fuente importante de errores⁴.

Recientemente se ha investigado la determinación del contenido en amilosa mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) operando en modo dinámico⁵. Esta técnica se basa en la formación de un complejo reversible entre la fracción de amilosa que contiene el grano de almidón con el dodecilsulfato de sodio (SDS). En una primera etapa de calentamiento, se puede observar un pico de energía en el gráfico del DSC, correspondiente a todas las reacciones (reversibles y no reversibles) que tienen lugar debido al aumento de la temperatura en el sistema. Después de esta etapa, se enfría la muestra, consiguiendo que las reacciones reversibles devuelvan los materiales

^b También conocida como Teoría de Lorenz-Mie-Debye, es una solución analítica de las Ecuaciones de Maxwell, considerando la dispersión de la radiación electromagnética por partículas esféricas. Si el tamaño de las partículas está en el rango de los micrones, se puede aproximar empleando la Teoría de Fraunhofer. Por el contrario, para partículas de rango de menos de decenas de nanómetros, ocurre lo que se conoce como dispersión de Rayleigh, y estas teorías no pueden utilizarse para determinar el tamaño de estas partículas. Como curiosidad, este tipo de dispersión es la responsable de que el cielo se observe de color azul.

a su estado inicial. Finalmente, se vuelve a aplicar un ciclo de calentamiento. En este segundo ciclo solo se obtiene la energía de formación del complejo amilosa/SDS que, al ser reversible, se había recuperado en la etapa de enfriamiento. Sin embargo, dicho procedimiento requiere tiempos de análisis elevados, además de los problemas de reproducibilidad que conlleva la medida del área de pequeños picos en una curva calorimétrica, la baja cantidad de muestra empleada por ensayo y la necesidad de realizar un calibrado del procedimiento con amilosa pura.

Por todo ello, finalmente, en el presente trabajo, se optó por la determinación del contenido en amilosa/amilopectina con un ensayo estandarizado empleando un kit comercial de la empresa Megazyme. Este ensayo está basado en el trabajo de Yun y Matheson⁶, conocido como el método del Concavalín A (ConA). Este procedimiento consiste, básicamente, en la hidrólisis de las macromoléculas que componen el almidón hasta conseguir D-glucosa, la que puede ser cuantificada, y con ello, determinar la contribución de D-glucosa obtenida por la hidrólisis de la amilosa frente a la aportada por el conjunto de ambas, obteniendo de esa manera el porcentaje de amilosa en el almidón. El procedimiento consiste en la disolución del almidón en DMSO (dimetil sulfóxido) empleando calor, y una posterior precipitación del almidón con etanol, con el objetivo de eliminar los lípidos que aquel pudiera contener. El precipitado obtenido se disuelve en una solución salina, y a una alícuota de esta disolución se añade ConA, que forma un complejo insoluble con la amilopectina, que puede separarse mediante centrifugación. De esta manera, se obtiene en el sobrenadante una fase rica en amilosa, que se hidroliza enzimáticamente para obtener D-glucosa, que puede ser cuantificada colorimétricamente empleando glucosa oxidasa^c. De la misma manera, una alícuota del almidón disuelto en la disolución salina también es hidrolizado hasta conseguir D-glucosa, cuantificada colorimétricamente empleando también glucosa oxidasa/peroxidasa. De esta manera, se conoce la contribución de D-glucosa aportada por la amilosa contenida en el almidón, así como la contribución de D-glucosa total, con lo que la concentración de amilosa contenida en el almidón se puede estimar como la ratio entre las absorbancias de estas dos fases medidas en un espectrómetro a 510 nm.

3. Determinación del contenido en fósforo en los granos de almidón

El contenido en fósforo de los almidones puede ser determinado mediante diferentes técnicas. Una de las más empleadas es la digestión de los granos de almidón con ácido nítrico, empleando método de vanado-molibdato para determinar la absorbancia de las muestras a una longitud de onda determinada⁷. Otros autores prefieren técnicas y metodologías más sencillas para la cuantificación de fósforo en las muestras, como la fluorescencia de rayos X⁸, que presenta algunas

^c Enzima de uso común, empleada en la determinación y cuantificación de la glucosa en sangre y orina, en vegetales y en la industria de la alimentación. Esta enzima contribuye a la degradación de los azúcares en sus metabolitos.

ventajas frente a las demás, como los cortos tiempos de ensayo, y el no empleo de productos químicos peligrosos.

Recientemente se están empleando otro tipo de técnicas para la determinación del contenido en fósforo, como la inducción de plasma acoplado (ICP), basándose en los mismos métodos de detección del fósforo en proteínas⁹. El ICP puede acoplarse con diferentes equipos para determinar la concentración de fósforo en las muestras, como un espectrómetro de emisión atómica (ICP-AES), también conocido como espectrómetro de emisión óptica (ICP-OES)¹⁰; o un espectrómetro de masas (ICP-MS)^{11,12}, siendo esta última la técnica escogida para la determinación del contenido en fósforo de los diferentes granos de almidón estudiados.



Figura I.2. Equipo ICP-MS empleado para la determinación del contenido en fósforo en las muestras de almidón, situado en los Servicios Técnicos de Investigación de la Universidad de Alicante. Imagen reproducida literalmente de su página web.

La espectrometría de masas por plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) es una técnica capaz de determinar cuantitativamente casi cualquier elemento de la tabla periódica, siempre que tenga un potencial de ionización por debajo del que presenta el argón a concentraciones bajas. En una primera etapa se generan los iones (ICP) y, en una segunda, se detectan (MS). La muestra (en este caso, una disolución de almidón digerido previamente en ácido nítrico) se introduce en el equipo, y es impulsada hasta un nebulizador donde es transformada en aerosol con ayuda de argón. La muestra entonces circula por la parte del ICP, donde alcanza temperaturas superiores a 8000K, lo que provoca la ionización de los átomos contenidos en la muestra. Estos iones pasan por el filtro cuadrupolar de la parte del MS, donde son separados según su relación de carga y masa y, una vez llegados al detector, se evalúan su abundancia en la muestra objeto. El equipo empleado para el estudio es un ICP-MS modelo 7700x (Agilent) situado en los Servicios Técnicos de Investigación de la Universidad de Alicante.

4. Determinación del peso molecular medio de las muestras de almidón

Para la determinación del peso molecular medio en polímeros es común el empleo de la cromatografía de permeación de geles (GPC)¹³, con la que se pueden separar las cadenas de los polímeros atendiendo a su tamaño o a su radio hidrodinámico^d. En esta técnica, la columna del cromatógrafo tiene un empaquetamiento de un gel poroso, que permite retener las moléculas más pequeñas en el interior de sus poros, aumentando su tiempo de residencia en la columna; sin embargo, las moléculas más grandes no tendrán acceso a dichos poros, y continuarán atravesando el lecho junto con el eluyente. A la salida de la columna se encuentran diferentes detectores, empleados para la determinación de los diferentes parámetros que se pueden obtener mediante esta técnica.

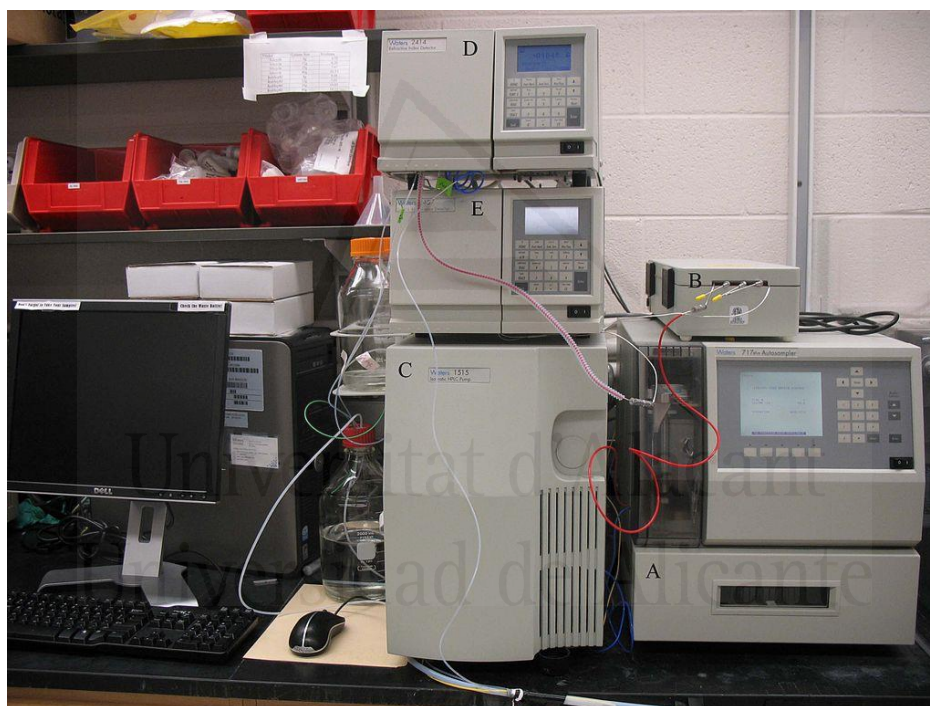


Figura I.3. Equipo para realizar GPC. Imagen extraída de la web:

https://www.wikiwand.com/en/Gel_permeation_chromatography, en el que se observa una instrumentación típica para este tipo de técnicas.

Para este trabajo se ha empleado un GPC acoplado con un dispersor de luz multi-ángulo (MALS). El equipo utilizado es un cromatógrafo de exclusión SECURITY 1260 con doble detector MALS, que la empresa *Polymer Standard Service* tiene en sus laboratorios en Mainz, Alemania. Como

^d Una partícula en movimiento en una dispersión puede provocar la adhesión de una pequeña capa eléctrica dipolar de eluyente sobre su superficie. Debido a la influencia que tiene esta capa en el movimiento de la partícula, el radio medio obtenido en la dispersión de luz dinámica (DLS) será mayor al medido con otras técnicas, como la microscopía electrónica de transmisión (TEM).

fase móvil se emplea dimetil sulfóxido (DMSO) con LiCl 0.1M. Antes de introducir la muestra en el GPC, se disuelve en la fase móvil a 80°C y se filtra.

5. Contenido en humedad de los granos

El contenido en humedad se determina directamente por pesada. Las muestras en polvo se introducen en una estufa a una temperatura de 110 °C durante 5 horas^e. Las diferentes muestras son pesadas previamente a su introducción en la estufa y justamente después de la finalización del proceso de secado. La humedad de las muestras se calcula de acuerdo con la ecuación I.1, y es expresada en forma de porcentaje. La Figura I.4 muestra un esquema de este proceso.

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{m_0 - m_1}{m_0} \cdot 100 \quad \text{I.1}$$

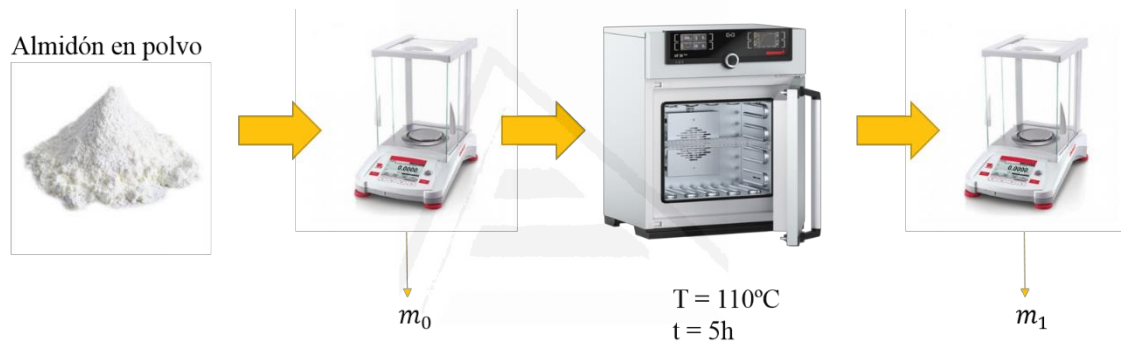


Figura I.4. Esquema que muestra los pasos para la determinación de la cantidad de humedad en los granos de almidón.

6. Estudio de la estructura cristalina de los diferentes granos de almidón

El almidón es un polímero semicristalino que puede ser estudiado mediante difracción de rayos X (XRD)¹⁴. Dependiendo de la fuente botánica puede presentar diferente polimorfismo, principalmente de dos tipos: A y B. El primero de ellos, el tipo A, es común en los almidones procedentes de cereales y legumbres, en los que las cadenas de glucosa se agrupan en cristallitos que conforman celdas unidad compactas. Por otro lado, el tipo B, es común en los almidones procedentes de tubérculos y raíces, en los que las cadenas de glucosa se agrupan también en forma de cristallitos, pero en este caso, el empaquetamiento es menos denso, formando una unidad estructural con forma hexagonal, lo que permite que las moléculas de agua se introduzcan en ella. También existe un tercer tipo, el C, que consiste en una cristalinidad mixta entre los tipos A y B¹⁵.

^e Se ha comprobado que en estas condiciones se consigue una pérdida completa de la humedad del material, no siendo preciso el aumento de temperatura (podríamos dañar los granos), ni el incremento del tiempo de secado.

La cristalinidad de tipo A en muestras de almidón presenta unos picos característicos para valores de 2θ entre 12° y 27° ; mientras que en la de tipo B también aparecen picos por debajo de 12° ¹⁶.

La estructura cristalina de los diferentes granos de almidón se ha llevado a cabo en un difractorómetro Bruker D8-Advance (Ettlingen, Alemania), situado en los SSTTI-UA, equipado con un Kristalloflex K 760-80F y un ánodo de cobre ($\lambda = 1.54056\text{\AA}$). El equipo trabaja a 40kV y 40mA, variando el ángulo desde 3° hasta 60° con un tamaño de paso de 0.05° .

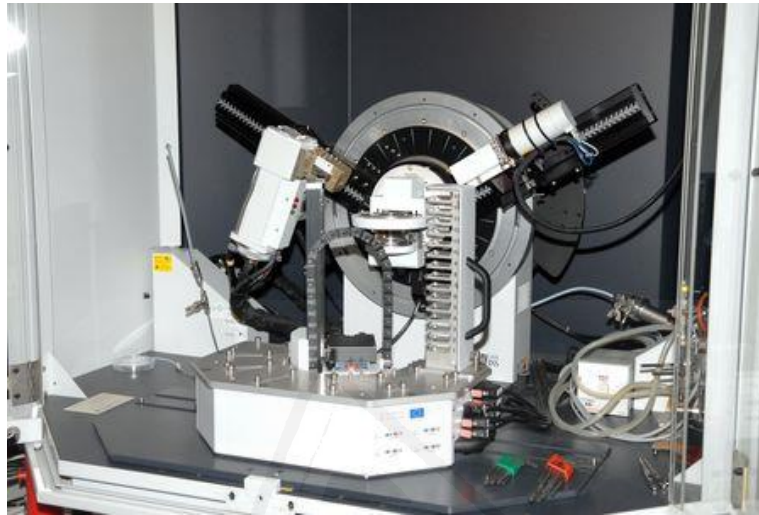


Figura I.5. Difractorómetro de rayos X ubicado en los Servicios Técnicos de Investigación de la Universidad de Alicante. Imagen reproducida literalmente de su web.

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

**ANEXO II: Análisis y
caracterización de los
filmes de almidón
termoplástico**

1. Determinación de la humedad, solubilidad y migración en simulantes

Para la determinación del contenido en humedad y solubilidad de los filmes se siguen procedimientos previamente descritos en la literatura^{17,18}, pero con algunas modificaciones. Estas características del material se miden en serie, esto es, primero se determina la humedad del material y, con esa misma muestra seca, se determina la solubilidad de este. Para ello, en primer lugar, se cortan los filmes en probetas cuadradas de aproximadamente 1 cm². Estas probetas se pesan y se introducen en una estufa durante 5 horas a 110°C^f, tiempo tras el cual, se vuelven a pesar y, con la ecuación (II.1) se determina la humedad de las muestras, donde m_0 y m_1 son las masas antes y después del secado respectivamente.

$$\text{Humedad (\%)} = \left(\frac{m_0 - m_1}{m_0} \right) \cdot 100 \quad \text{II.1}$$

Seguidamente, las muestras secas se introducen independientemente en un tubo de ensayo que contienen 9 mL de agua destilada. Estos tubos se tapan y se almacenan a temperatura ambiente (aprox. 25°C) durante 24h. Finalizado este tiempo, se extrae el filme del agua y se eliminan las gotas de sobrenadante y se introducen de nuevo en la estufa durante otras 5 horas a 110°C, tiempo tras el cual se vuelven a pesar y, utilizando la ecuación (II.2) se determina la solubilidad de las muestras, donde m_f es la masa al final del experimento.

$$\text{Solubilidad (\%)} = \left(\frac{m_0 - m_f}{m_0} \right) \cdot 100 \quad \text{II.2}$$

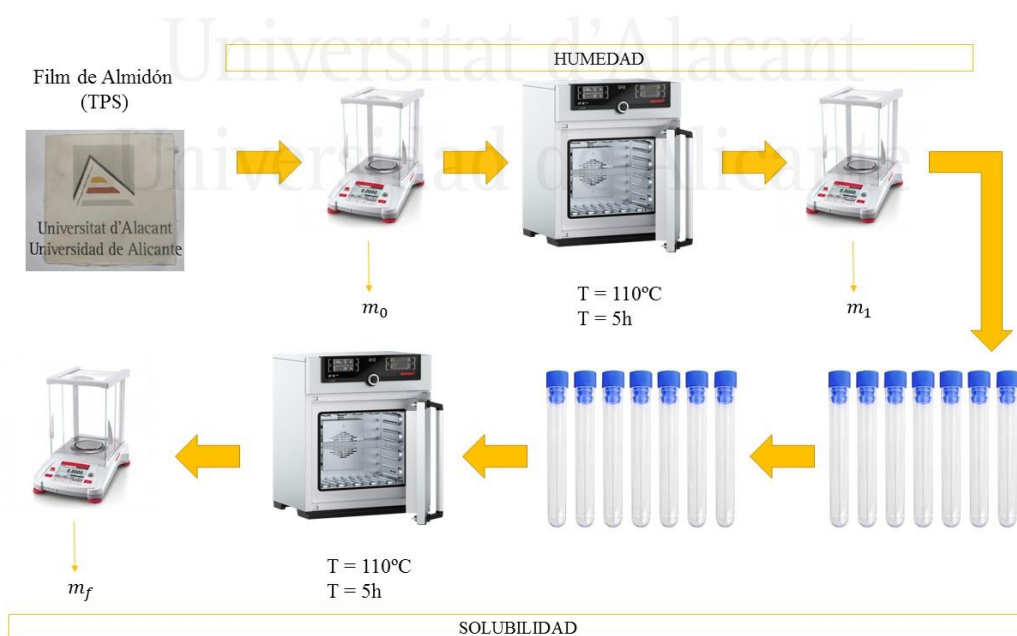


Figura II.1. Representación de las etapas para la determinación de la humedad y la solubilidad.

^f Se ha comprobado que 5 horas en estufa es tiempo suficiente para eliminar toda la humedad de la muestra y conseguir peso constante en la muestra.

El ensayo de migración en simulantes sigue un procedimiento independiente a la determinación de la humedad y la solubilidad, aunque se basa en el mismo principio de inmersión y pérdida de masa. Este método se realiza siguiendo la legislación vigente¹⁹ en el momento de la puesta en marcha de los experimentos, siendo el objetivo el de conseguir observar el comportamiento que tendría un film, en lo que ha migración se refiere, si estuviera en contacto con diferentes tipos de alimentos. Para ello se emplean diferentes simulantes: etanol (10% v/v simulando alimentos hidrofílicos), ácido acético (3% w/v, simulando alimentos ácidos) e isooctano (simulando alimentos lipofílicos con grasas libres en su superficie). Las muestras se sumergen en 9 mL del simulante (previamente depositado en un tubo de ensayo independiente para cada una de las muestras) con una ratio de 6 dm² de filme por kilo de simulante. De acuerdo con la normativa, los filmes estuvieron 10 días a una temperatura de 20°C, tras los que las muestras son lavadas secadas y pesadas. La diferencia entre la masa inicial y final se corresponde con los mg de filme liberados por dm² de superficie de contacto.

Todas las muestras se ensayan por cuadruplicado.

2. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

La microscopía electrónica de barrido (SEM) permite observar la microestructura de los filmes de almidón, con lo que es posible determinar de manera cualitativa la calidad de estos, atendiendo a la existencia, o no, de defectos superficiales como grietas, burbujas o, en el caso en el que existieran, granos de almidón sin gelatinizar. Se pueden llevar a cabo observaciones de la superficie de los filmes, así como del interior de estos, para lo que habrá que realizar una preparación especial de las muestras.

La preparación de muestras para la observación de la superficie es sencilla, pues es suficiente con la colocación directa del filme sobre el portamuestras del microscopio (consistente en un cilindro de acero con el tamaño preciso para poder introducirse en el SEM), al que se fija utilizando una cinta de carbono de doble cara. Posteriormente, se sopla suavemente la superficie con aire, empleando un soplador de goma, con la finalidad de eliminar cualquier resto de polvo que hubiera quedado en su superficie. Finalmente, las muestras se recubren con oro, mediante un proceso de metalización, con la finalidad de convertir la superficie de estas en conductoras, lo que permitirá realizar las observaciones en el microscopio. La Figura II.2 muestra un esquema de este proceso.

Para la observación del interior de la muestra, se ha de realizar un corte transversal a la superficie del filme. Si se hiciera este corte con una cuchilla, podría modificarse el material, y con ello, la interpretación posterior. Para evitarlo, se realiza un corte frágil en la muestra empleando nitrógeno líquido. De esta manera, se corta un rectángulo de muestra, que se introducirá unos segundos en nitrógeno líquido, tiempo tras el cual se extrae la muestra y se aplica un esfuerzo en flexión, provocando la rotura del material. Una vez completado este paso, la muestra se monta en el

portamuestras, en este caso, utilizando silicona termofusible para ello, procurando que el filme quede dispuesto de manera ortogonal a la superficie del portamuestras, lo que permitirá la observación del interior del film. Al igual que en el caso anterior, una vez montada la muestra, esta se recubre con oro para hacer conductora su superficie. La Figura II.3 muestra un esquema de este procedimiento.

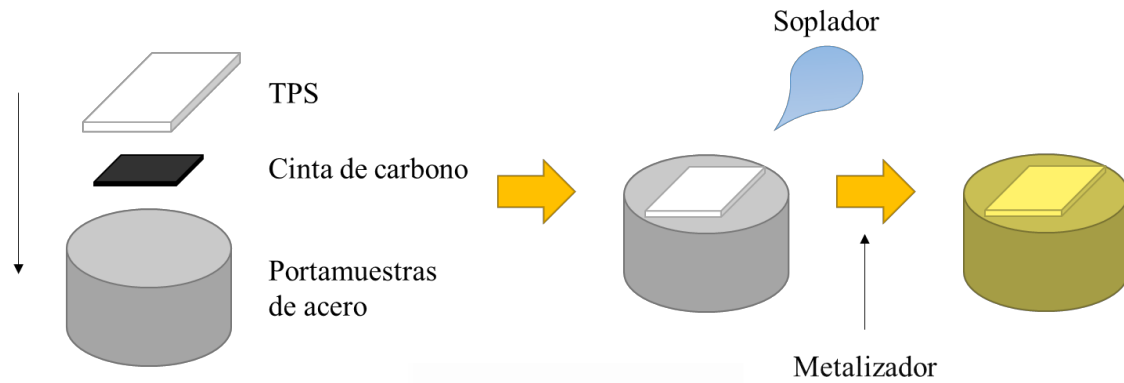


Figura II. 2. Esquema de la preparación de la muestra para la observación de la superficie del film: un trozo de filme se fija con cinta de doble cara de carbono sobre el portamuestras de acero; se limpia con aire la superficie para eliminar restos de polvo; y, finalmente, se recubre con una capa de oro.

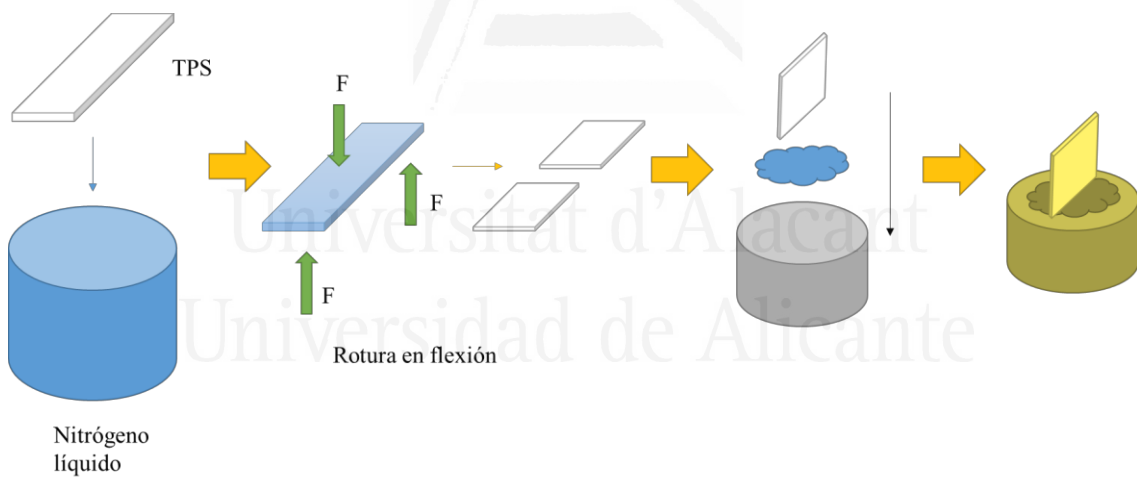


Figura II. 3. Esquema de la preparación de la muestra para la observación de su interior. En primer lugar, se rompe la probeta criogénicamente utilizando nitrógeno líquido y aplicando un esfuerzo en flexión. Posteriormente, con ayuda de silicona termofusible, se dispone la muestra en posición vertical en el portamuestras, con la finalidad de observar la rotura realizada. Finalmente, el conjunto se recubre con una capa de oro.

El microscopio utilizado para la toma de las imágenes es un SEM Hitachi S3000N (Tokio, Japón) operado con un voltaje de aceleración de los electrones de 5kV. Este voltaje no es el voltaje óptimo de operación del microscopio, pero el empleo de voltajes superiores⁸ a este provoca la degradación de la muestra, con la consecuente modificación de la superficie. Asimismo, este hecho provoca que no podamos tomar imágenes nítidas para aumentos superiores a x1000,

⁸ De manera habitual, si las muestras soportan la radiación, un aumento en el voltaje de trabajo implica un incremento en la resolución de la imagen.

observando el mismo fenómeno de degradación del material. En cualquier caso, estos matices no impiden que se puedan realizar imágenes de los filmes con la finalidad de estudiar la morfología de la superficie de los films.

3. Propiedades mecánicas

Para la determinación de las propiedades mecánicas de los filmes se emplea una máquina multiensayo Instron 3344 Universal Test Instrument (Norwood, MA. USA), con una celda de carga de 2000N, operando en el modo de ensayo a tensión. Debido a las características de los materiales estudiados, los ensayos se realizan siguiendo las recomendaciones de la normativa ASTM D882 (similar, aunque no equivalente a la ISO 527), que se puede emplear para la identificación y caracterización de materiales, para su control y especificación de propiedades, teniendo en cuenta que las probetas deben tener un espesor inferior a 1mm^h. Las probetas se cortan en forma de halterio empleando una troqueladora, con la finalidad minimizar los defectos en la probeta provocados por el corte. Previo a su ensayo, las probetas se acondicionan a una temperatura aproximada de 25°C por un tiempo mínimo de 48h (en el caso de las probetas de casting, se ha comprobado que es preferible acondicionarlas durante una semana antes de su ensayo). La velocidad del ensayo se fija en 25 mm/min.

De este ensayo se obtiene la curva de tensión frente a deformación. De esta representación se puede determinar los parámetros de tensión máxima a rotura, deformación máxima y módulo de elasticidad (como la pendiente de la curva en su zona lineal). La Figura II. 4, muestra un ejemplo de una curva de tensión frente a deformación.

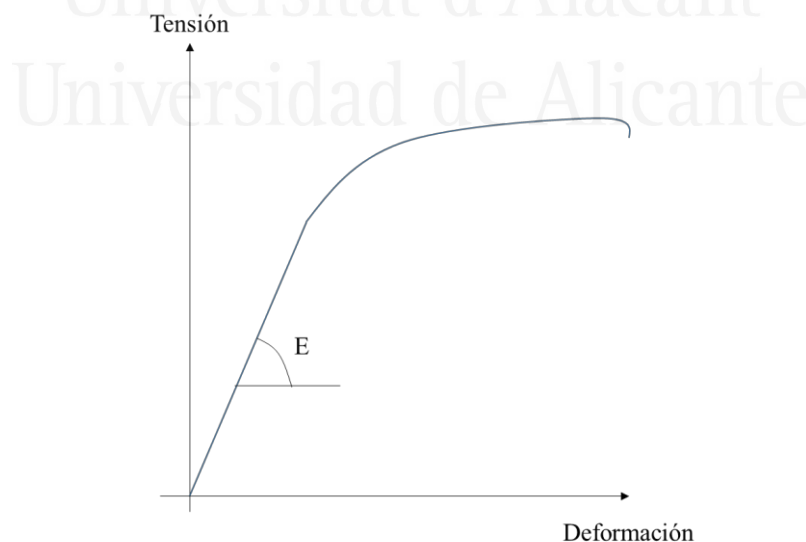


Figura II. 4. Representación de una curva tensión frente a deformación obtenida en un ensayo a tracción.

^h Los filmes procesados mediante casting tienen espesores en el rango de las micras, mientras que las láminas procesadas mediante mezcla en fundido tienen 1 mm de espesor, por lo que en ambos casos aplicarían estas recomendaciones. Para probetas con un espesor mayor no aplicarían estas recomendaciones.

4. Transparencia

Una propiedad óptica que puede medirse en los filmes de almidón es la transparencia. Para ello es preciso que la muestra no tenga un espesor elevado. En el caso de las muestras ensayadas, el espesor se encuentra en el entorno de las 200 micras, lo que hace que se pueda llevar a cabo este tipo de medición. La técnica se basa en el empleo de la espectrometría visible utilizando un espectrómetro básico VIS V-1200 (VWR, Barcelona, Spain) y una longitud de onda de 600 nm, tal y como lo describe Luchese et. al.²⁰. Para ello, se corta un rectángulo de muestra y se coloca sobre un portaobjetos de vidrio, al que se fija utilizando cinta aislante en sus extremos, asegurándose de que el filme está bien pegado al vidrio en toda su superficie y que no quedan burbujas de aire entre ellos. Una vez preparada la muestra, se procede al ensayo, introduciendo el portamuestras en un adaptador especial con el que cuenta el equipo para realizar ensayos de muestras sólidas tipo filme. Una vez completado el ensayo, se procede a la determinación de la Transparencia (“Transparency”) de las muestras, realizando los ensayos por cuadruplicado. Según Luchese et. al., la transparencia se define como se muestra en la ecuación (II.3), donde A_{600} es la absorción de la muestra para la longitud de onda descrita (en este caso, 600 nm); y x es el espesor de la muestra expresado en mm.

$$Transparency = \frac{A_{600}}{x} \quad \text{II.3}$$

Esta definición de la transparencia puede generar confusión pues, si se observa con atención, se verá que, cuanto mayor sea el valor de la transparencia (definida previamente), menor será la transparencia real del filme. Esto es debido a que, para que el término transparencia pueda ser mayor, o se disminuye el espesor de la muestra manteniendo constante la absorción, o viceversa, lo que en cualquier caso lleva aparejado que la cantidad de luz que puede atravesar la muestra es menor. Es decir, definiendo la transparencia como Luchese et. al. se puede llegar a una interpretación confusa, pues el parámetro y el término físico son contradictorios: a mayor transparencia (término) menor transparencia (filme). Por este motivo, para ajustar la definición en castellano del término transparencia y que sea coherente con el parámetro a determinar, se propone la siguiente definición:

$$\frac{1}{Transparency} = Opacity = \frac{A_{600}}{x} \quad \text{II.4}$$

De esta manera, sin menoscabar las interpretaciones de Luchese et. al., se entiende que transparencia y opacidad son términos inversos: cuando mayor es uno, menor es el otro, es decir, a mayor transparencia, menor opacidad, y viceversa; por lo que la definición planteada en la ecuación (II.4) describe mejor la realidad.

5. Análisis Termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico es de utilidad para el estudio de la estabilidad térmica de las muestras cuando están expuestas a una atmósfera controladaⁱ. Para llevar a cabo estos ensayos, se emplea un equipo TGA (TGA/SDTA851e/SF/1100, Mettler Toledo, Barcelona, España) situado en los Servicios Técnicos de Investigación de la Universidad de Alicante. Las muestras se introducen en una cápsula de cerámica, que es el portamuestras que se introducirá en el equipo. Una vez allí, se aplica una rampa de temperatura, desde 30°C a 700°C, con una velocidad de calentamiento de 5°C/min, empleando un flujo de corriente gaseosa de nitrógeno de 100 mL/min. El equipo recoge la masa de la muestra en función del tiempo, a la vez que la temperatura, con lo que se puede realizar una representación del porcentaje de pérdida de masa frente a la temperatura. Esta representación da información sobre la descomposición del material afectado por esta evolución. Esta información puede derivarse matemáticamente (DTG) con el objetivo conocer la velocidad de descomposición de la muestra dependiendo de la temperatura a la que se encuentre y, con ello, extraer la información necesaria para estudiar las diferentes muestras. Para el cálculo de la curva DTG se ha de utilizar la ecuación (II.5), dónde m_i es la masa registrada por el equipo para cada Temperatura T_i .

$$DTG(T_i) = \frac{m_i - m_{i+1}}{T_i - T_{i+1}} \quad \forall i = [0, i_f] \quad \text{II.5}$$



Figura II.5. Equipo TGA situado en los Servicios Técnicos de Investigación de la Universidad de Alicante con el que se han llevado a cabo los análisis.

6. Espectroscopia Infrarroja (ATR-FTIR)

La espectroscopia infrarroja es una técnica de espectroscopia de interacción cercana, esto es, la energía aplicada a la muestra por el equipo tiene influencia a nivel de unos pocos átomos, permitiendo tener información acerca de los enlaces de las moléculas que constituyen la muestra.

ⁱ Dependiendo del tipo de ensayo a realizar, y las propiedades que se precisen medir, las corrientes gaseosas pueden tener muy variada composición: desde contener solo N₂, a tener la composición del aire, pasando por otro tipo de mezclas N₂/O₂)

Existen varios tipos de espectrómetros y modos de operación, pero en este caso se trabaja con un espectrómetro Bruker (IF 66/S model, Ettlingen, Alemania) con un accesorio ATR (“*Attenuated Total Reflection*”), que permite la caracterización de muestras sólidas sin necesidad de una preparación especial.

6.1. Determinación del grado de reordenamiento de los filmes

Gracias a la información obtenida por la interacción entre los átomos, López-Rubio et. al.²¹ han empleado esta técnica para determinar el grado de reordenamiento en los granos de almidón. La literatura expone que, en la región característica, el almidón presenta 3 picos máximos de absorbancias para longitudes recíprocas^j de 995, 1022, 1047 cm^{-1} . La banda localizada en 1022 cm^{-1} está asociada con los modos de vibración relativos a la fase amorfa del almidón, mientras que la banda localizada a 995 cm^{-1} se relaciona con modos de vibración de dominios más ordenados. Considerando lo anterior Zhang et. al.²² utilizan el ratio $R_{995/1022}$ para determinar el grado de reagrupamiento en films de almidón, y es la referencia para el cálculo de este parámetro en los films plastificados con $[\text{Emim}^+][\text{Ac}^-]$ mostrado en la Sección II.

Para la determinación del parámetro $R_{995/1022}$ se utiliza el software FITYK (versión 0.9.8). En primer lugar, se aplica una línea base sobre el espectro de cada filme y se eliminan los puntos de datos que se encuentran fuera del intervalo 800-1200 cm^{-1} . Seguidamente se deconvoluciona el espectro de manera que se pueda obtener el valor de absorbancia de los picos a 995 y 1022 cm^{-1} , con lo que se puede determinar el parámetro $R_{995/1022}$.

7. Difracción de rayos X (XRD)

Los granos de almidón pierden su estructura cristalina tras sufrir los procesos de gelatinización y fabricación de los filmes. El estudio de los filmes mediante XRD aporta información sobre estos procesos, al mismo tiempo que se pueden observar picos de cristalinidad residual, que puede ser debida, por un lado, a la no pérdida de cristalinidad de algunas partes del almidón y, por otro, al reordenamiento de las cadenas tras el proceso de gelatinización. La identificación de los picos de cristalinidad residual en los filmes puede ayudar a comprender más este proceso, además de ayudar con la comparación entre los filmes procedentes de diferente fuente botánica. Para ello, se puede determinar la anchura a mitad de altura de los picos característicos del almidón.

7.1. Características del ensayo

Los difractogramas se obtienen empleando un equipo Bruker (modelo D8-Advance, Ettlingen, Germany) equipado con un generador de rayos X KRISTALLOFLEX K 760-80F. Los ensayos

^j Esta es una medida de energía. Atendiendo a la relación de Planck-Einstein, la frecuencia de un fotón se relaciona con una cierta energía, por lo que, por ejemplo, un centímetro recíproco (cm^{-1}), es una unidad de energía equivalente a la energía que tendría un fotón con una frecuencia de onda de 1 cm. En esta aplicación (ATR-FTIR) se le conoce como número de onda.

se realizan con un voltaje de operación de 40 kV y 40 mA, con una variación de los ángulos de barrido 2θ entre 10° y 60° con un tamaño de paso de 0.05° . El ajuste y deconvolución de los difractogramas se realiza con el software FITYK (versión 0.9.8) y el tratamiento posterior de los datos se realiza empleando el lenguaje de programación Python.

7.2. Ajuste del difractograma y deconvolución de los picos

En primer lugar, se carga la información obtenida del equipo en el software FITYK, con el que se aplicará una línea base y se procederá a deconvolucionar el espectro atendiendo a los picos característicos de cada polimorfo de almidón, tal y como se muestra en la Figura II.6. La deconvolución de los picos se realiza con funciones lorentzianas. En esta figura se muestra el difractograma de un polvo de almidón de trigo, que se empleará a modo de ejemplo para ilustrar el proceso debido a la claridad de los picos, pero, en cualquier caso, el procedimiento es exactamente el mismo para los difractogramas de los filmes. Con la información obtenida con la aplicación FITYK se puede determinar la anchura a mitad de altura de los picos.

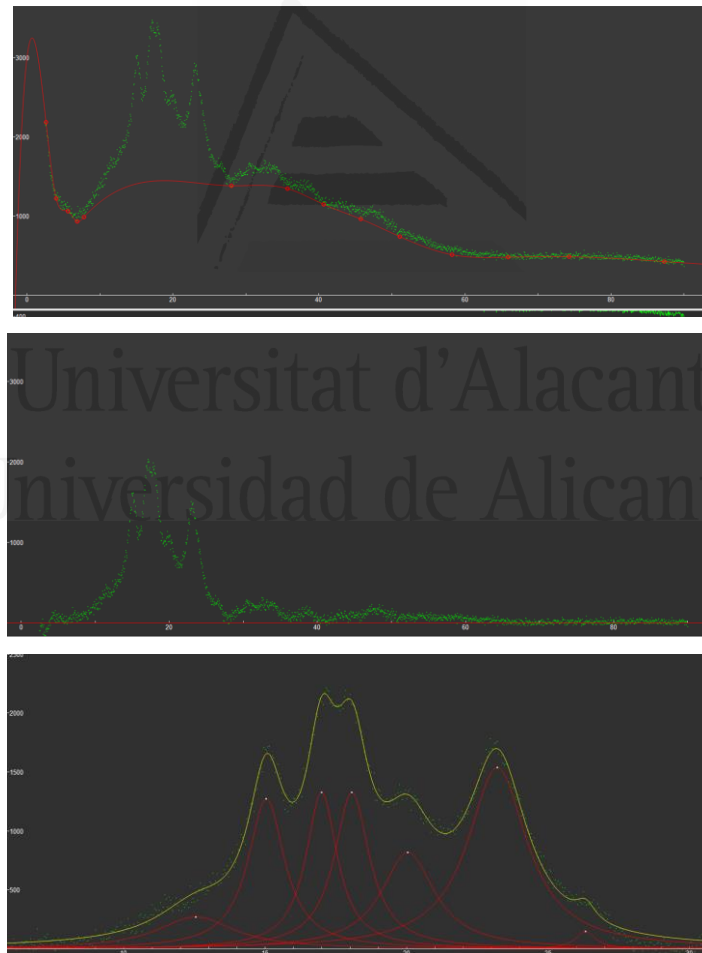


Figura II.6. Representación del proceso de deconvolución de los picos para un difractograma XRD de almidón de trigo. En primer lugar, a los datos obtenidos del equipo se aplica y se sustrae la línea base, para después deconvolucionar los picos en la zona característica del almidón.

7.3. Código para la determinación de la anchura a mitad de altura en los picos

El tratamiento de los datos exportados, así como las operaciones posteriores con ellos, se realizan utilizando la librería Pandas del lenguaje de programación Python. De esta manera, en primer lugar, se lleva a cabo la preparación de los datos para poder ser empleados en el programa, tal y como se muestra en la Figura II.7.

```
In [89]: df2 = pd.read_csv('Patata_deconvolucion_ftyk.csv')
df2
```

```
Out[89]:
```

0	2.5;-78.9323;5.37069;2.36593;3.34968;10.39440;1.56833;2.06055;0.58458;1.31658;0.05785;27.06860
1	2.55;-138.9866;5.40753;2.37791;3.37862;10.74360
2	2.65;-112.014;5.48238;2.40213;3.43763;11.49630

```
In [90]: df2 = pd.read_csv('Patata_deconvolucion_ftyk.csv', delimiter = ';',
names = [r'$2\theta$', 'Base_corrected_Data', 'Peak_1', 'Peak_2',
'Peak_3', 'Peak_4', 'Peak_5', 'Peak_6', 'Peak_7', 'Peak_8', 'Peak_9', 'Curve_Fitted', 'NP_1'])
df2
```

```
Out[90]:
```

	2θ	Base_corrected_Data	Peak_1	Peak_2	Peak_3	Peak_4	Peak_5	Peak_6	Peak_7	Peak_8	Peak_9	Curve_Fitted	NP_1
0	2.50	-78.93230	5.37069	2.36593	3.34968	10.39440	1.56833	2.06055	0.58458	1.31658	0.05785	27.068600	0
1	2.55	-138.98600	5.40753	2.37791	3.37862	10.74360	1.57746	2.07688	0.58729	1.33191	0.05809	27.539300	0
2	2.60	-127.00000	5.44476	2.38997	3.40793	11.11040	1.58667	2.09340	0.59002	1.34750	0.05834	28.029000	0

Figura II.7. La imagen superior muestra los datos en bruto, procedentes del software FITYK, mientras que la imagen inferior muestra los datos convenientemente ordenados.

El siguiente paso es comprobar que los datos se han exportado correctamente, para lo que simplemente será suficiente con dibujar los datos experimentales junto con la deconvolución obtenida en FITYK, tal y como se muestra en la Figura II.8.

```
In [94]: df2.plot(x = r'$2\theta$',
y = ['Base_corrected_Data', 'Curve_Fitted',
'Peak_1', 'Peak_2', 'Peak_3', 'Peak_4', 'Peak_5',
'Peak_6', 'Peak_7', 'Peak_8', 'Peak_9'],
style = ['--', 'r'], figsize = (15,5), ylim = (0,2600), xlim = (4, 30)
ax1 = plt.axes()
y_axis = ax1.axes.get_yaxis()
y_axis.set_visible(False)
```

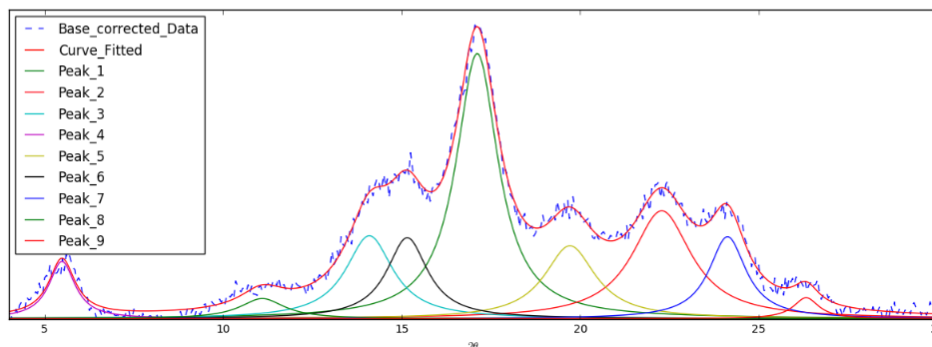


Figura II.8. Representación de los datos experimentales obtenidos del difractograma de la muestra junto con la deconvolución de los diferentes picos con la finalidad de comprobar la correcta exportación de los datos del software FITYK.

El siguiente paso es ajustar los picos a una función con la que poder operar y determinar la anchura de los picos. De esta manera, se puede realizar una interpolación mediante esplines cúbicos a los datos de cada pico con el comando `inter.interpld()`, con lo que se obtiene una función que ajusta los datos del pico y, de esta manera, se puede identificar la altura a mitad de pico con el máximo de dicha función (ecuación II.6), tal y como se muestra en la Figura II.9.

$$h_i = \frac{f_{max_i}(2\theta)}{2} \quad \text{II.6}$$

```
In [95]: f_1 = inter.interpld( df2[r'$2\theta$'] , df2['Peak_1'], kind = 'cubic',
                             bounds_error = False )
```

```
In [97]: h_1 = max(f_1(df2[r'$2\theta$'])) / 2
```

Figura II.9. Comando para la interpolación por esplines cúbicos de los datos de los picos y operación para la determinación de la altura a mitad de pico.

Una vez se conoce esta altura, se tendrán que localizar en la función las dos imágenes de los datos que sean iguales, para lo que se tiene que establecer una función objetivo (ecuación II.7), de la manera en la que se muestra en la Figura II.10.

$$f_i = h_i \quad \text{II.7}$$

```
In [99]: def Peak_1(x):
         return f_1(x) - h_1
```

Figura II.10. Definición de la función objetivo.

Para localizar los dos valores de la función que tienen la misma imagen se ha de utilizar un método de optimización no lineal, que se ve muy influenciado por el valor inicial de la optimización. Por este motivo, una manera muy sencilla para seleccionar el valor inicial para la optimización es situarse en el valor del pico y desplazarse un poco hacia la izquierda, o hacia la derecha, dependiendo del punto que se calcule que cada momento. En primer lugar, se ha de localizar el valor del ángulo 2θ en el que se sitúa el centro del pico, o lo que es lo mismo, el punto del eje de abscisas correspondiente con la altura calculada anteriormente, tal como se muestra en la Figura II.11.

```
In [100]: df2[df2['Peak_1'] == round(max(f_1(df2[r'$2\theta$'])),5)]
```

```
Out[100]:
```

2θ	Base_corrected_Data	Peak_1	Peak_2	Peak_3	Peak_4	Peak_5	Peak_6	Peak_7	Peak_8	Peak_9	Curve_Fitted	NP_1	
292	17.1	2429.54	2231.09	33.2799	46.7243	0.70109	61.4126	77.6583	5.49838	2.67752	0.38499	2459.43	0

Figura II.11. Comando que encuentra el valor del ángulo 2θ correspondiente con el valor máximo de altura.

De esta manera, se puede utilizar el comando `opt.root()` para obtener las imágenes de la función correspondientes a la altura a mitad de pico. Los parámetros de entrada de este comando son la

función objetivo definida anteriormente (Figura II.10) y el valor de la abscisa correspondiente a la altura máxima (Figura II.11) desplazado a la izquierda y a la derecha, tal y como se muestra en la Figura II.12.

```
In [101]: sol_1_1 = opt.root(Peak_1,
                        df2[df2['Peak_1'] ==
                            round(max(f_1(df2[r'$2\theta$']),5)].values[0,0] - 1.0)
sol_1_2 = opt.root(Peak_1,
                        df2[df2['Peak_1'] ==
                            round(max(f_1(df2[r'$2\theta$']),5)].values[0,0] + 1.0)
sol_1_1

Out[101]:  fjac: array([[ -1.]])
           fun: array([-1.59843694e-10])
           message: 'The solution converged.'
           nfev: 8
           qtf: array([ 1.62200195e-05])
           r: array([-1554.17903526])
           status: 1
           success: True
           x: array([ 16.39701746])
```

Figura II.12. Comando utilizado para la obtención de los valores de los ángulos correspondientes a la altura a mitad de pico.

La anchura a media altura de pico se puede calcular directamente restando los valores obtenidos de la optimización. De manera adicional, se puede dibujar el resultado obtenido con la finalidad de comprobar que el proceso se ha realizado de manera satisfactoria, tal y como se muestra en la Figura II.13.

```
In [104]: plt.figure(figsize = (15,5))
plt.plot( df2[r'$2\theta$'] , f_1(df2[r'$2\theta$']), [sol_1_1['x'] , sol_1_2['x']]
df2[r'$2\theta$'] , f_2(df2[r'$2\theta$']), [sol_2_1['x'] , sol_2_2['x']]
df2[r'$2\theta$'] , f_3(df2[r'$2\theta$']), [sol_3_1['x'] , sol_3_2['x']]
df2[r'$2\theta$'] , f_4(df2[r'$2\theta$']), [sol_4_1['x'] , sol_4_2['x']]
df2[r'$2\theta$'] , f_5(df2[r'$2\theta$']), [sol_5_1['x'] , sol_5_2['x']]
df2[r'$2\theta$'] , f_6(df2[r'$2\theta$']), [sol_6_1['x'] , sol_6_2['x']]
df2[r'$2\theta$'] , f_7(df2[r'$2\theta$']), [sol_7_1['x'] , sol_7_2['x']]
df2[r'$2\theta$'] , f_8(df2[r'$2\theta$']), [sol_8_1['x'] , sol_8_2['x']]
df2[r'$2\theta$'] , f_9(df2[r'$2\theta$']), [sol_9_1['x'] , sol_9_2['x']]
)
plt.xlim(4,30)

Out[104]: (4, 30)
```

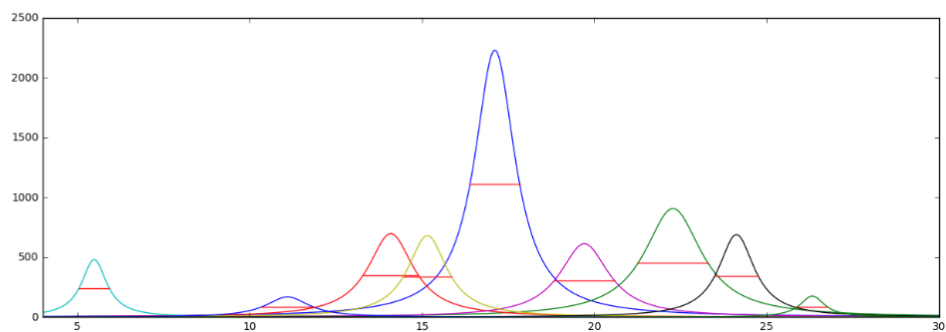


Figura II.13. Representación de las anchuras a mitad de pico para comprobar que la optimización se ha realizado correctamente.

8. Conductividad

La conductividad de los materiales es una propiedad que puede ser medida mediante el método de las cuatro puntas. Para ello, se preparan 5 probetas rectangulares de cada una de las muestras. Sobre cada una de las probetas, se realizan cuatro marcas equidistantes con tinta de plata (Alfa Aesar, Alemania), de tal manera que dos de las marcas estén situadas en los extremos de la probeta rectangular. Se emplea tinta de plata con el objetivo de aumentar el contacto entre la muestra y el equipo de medición. Sobre estas marcas, se pega una tira de cinta autoadhesiva de cobre y se vuelve a aplicar la pintura de plata sobre la misma. Para secar la pintura se colocan las muestras sobre una corriente de aire comprimido durante unos minutos. Una vez seca la pintura, se miden las dimensiones, de acuerdo con el esquema de la Figura II.6. y se conecta la probeta al multímetro digital (Keithley 02, 100 6 ½, Tektronix Company, Estados Unidos), con el que se mide la resistencia promedio de manera automática (R_m). Con este valor, y los parámetros geométricos de la muestra se puede determinar el resto de magnitudes, como la resistencia superficial (R_s , ecuación II.8) y, con ella, la resistividad del material (ρ , ecuación II.9). Finalmente, la conductividad eléctrica se calcula como la inversa de la resistividad (σ , ecuación II.10).

$$R_s = R_m \cdot \left(\frac{W}{S}\right) \quad \text{II.8}$$

$$\rho = R_s \cdot t \quad \text{II.9}$$

$$\sigma = \frac{1}{\rho} \quad \text{II.10}$$

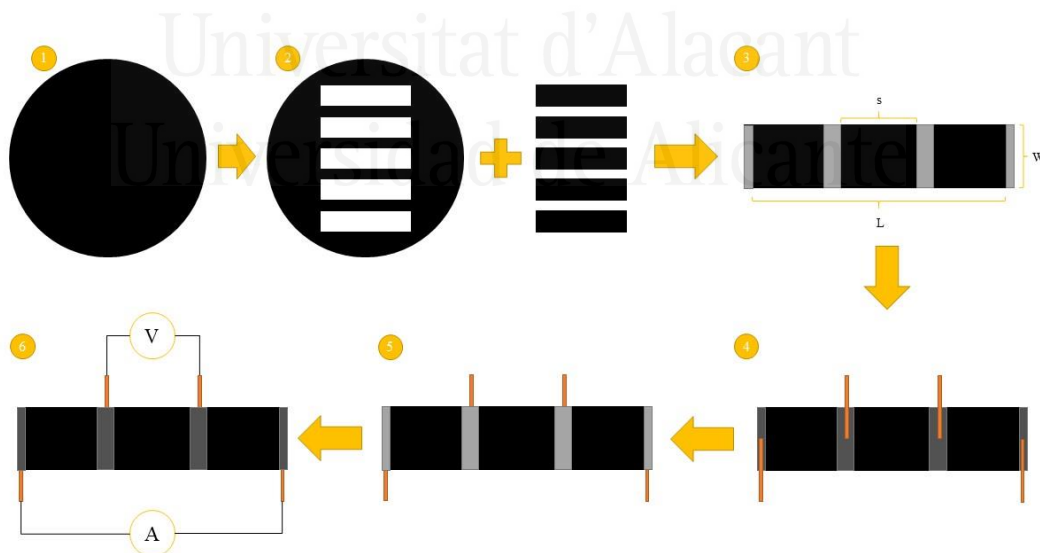


Figura II.14. Esquema para la fabricación de las probetas: 1) preparación del film de TPS; 2) rectángulos para la preparación del método de las cuatro puntas; 3) pintar 4 electrodos de plata equidistantes entre ellos; 4) pegar sobre los electrodos unas tiras de cobre; 5) pintar de nuevo los electrodos con plata y dejar secar; 6) finalmente, conectar la probeta al multímetro digital y realizar la medición de la resistencia media del material.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

**ANEXO III: Introducción
al AFM, preparación y
ensayo de muestras de TPS**

Universidad de Alicante

1. Introducción

La microscopía es el conjunto de métodos para la investigación por medio del microscopio, siendo el primero de ellos desarrollado por Zacharias Janssen en 1590. Desde entonces, científicos de todas las culturas han trabajado para mejorarlo y emplearlo en sus investigaciones. Uno de los primeros fue Robert Hooke^k, que en 1665 analizó un delgado corte de caucho y consiguió observar cavidades poco profundas con forma de celdillas, convirtiéndose en la primera persona en observar células muertas²³.

A partir de ese descubrimiento se han desarrollado una multitud de microscopios: el óptico, el simple, de luz ultravioleta, de fluorescencia, de campo oscuro, de luz polarizada, confocal, electrónico de transmisión, electrónico de barrido y de sonda de barrido, entre otros.

Los microscopios basados en sonda de barrido (SPM) permiten la obtención de imágenes en tiempo real, si bien, no harán incidir radiación sobre la muestra a observar. En este caso, la exploración consiste en la monitorización de la superficie de la muestra con una sonda (punta), como si de un bastón de ciego se tratara. Esto permite trabajar en atmósfera ambiente, lo que también provoca que este tipo de equipos sean más económicos que otros microscopios convencionales, como los electrónicos, que requieren operar en alto vacío.

El primer microscopio de este tipo es el conocido como microscopio de efecto túnel (*scanning tunneling microscope*, STM), en el que su sonda aprovecha el efecto túnel para componer imágenes de la superficie de la muestra estudiada. Este fenómeno viene acompañado de la aparición de la mecánica cuántica, en la que una partícula tiene una probabilidad finita de entrar en una región clásicamente prohibida, esto quiere decir que, una partícula (por ejemplo, un electrón), puede atravesar una barrera de potencial establecida entre dos regiones^l. Este es el mismo fenómeno que se observa en los transistores de efecto campo^m.

La microscopía de fuerza atómica tiene su origen en los años 80, convirtiéndose en la técnica líder entre las SPMⁿ. Se trata de una técnica que permite medir la topografía de una superficie con resolución nanométrica, y a tiempo real, debido a la interacción entre la sonda (punta soportada

^k Robert Hooke fue un reputado científico inglés, considerado uno de los más importantes de la historia de la ciencia. Fue uno de los fundadores de la Royal Society of London, llegando a participar en su consejo rector. Dos de sus descubrimientos por lo que es más conocido es por enunciar la Ley de Hooke, que explica el comportamiento elástico lineal en cuerpos elásticos; así como por ser la primera persona en observar y describir las células o celdillas en una muestra de corcho.

^l Para ampliar información sobre esta temática se recomienda la lectura del libro: “Introducción a la nanotecnología”, de Charles P. Poole Jr. y Frank J. Owens, publicado por la Editorial Reverté, 2007.

^m Es un transistor que emplea el campo eléctrico para controlar la conductividad que transporta un portador de carga. Se trata de un semiconductor con tres terminales y, dependiendo del material se dividen en tipo N y tipo P.

ⁿ En 1981, Binnig y Rohrer inventaron el STM, siendo las primeras personas en observar átomos después de conseguir generar una imagen utilizando su invención. En el 1986 recibieron el Premio Nobel de física y, en 1988 se comenzaron a comercializar los primeros AFM.

sobre un *cantilever*^o) y la superficie²⁴. Esta interacción ha permitido el desarrollo de una multitud de técnicas para evaluar diferentes propiedades de los materiales^{25,26,27}, que van desde la dureza superficial hasta interacciones eléctricas e, incluso, magnéticas. Con este tipo de microscopios se pueden realizar mediciones de fuerza magnética (MFM), asociadas a la variación espacial de las fuerzas magnéticas en una superficie; fuerza lateral (LFM), empleada para la determinación de coeficientes de fricción en las superficies; fuerza eléctrica (MEF), capaz de evaluar las características eléctricas de la muestra; espectroscopia de fuerzas (FS), en la que la sonda se aproxima a la superficie de la muestra y realiza una nanoindentación en la misma, con lo que se puede determinar la dureza y el módulo de elasticidad del material de estudio; y nanolitografía (NL), que incluye el grabado mecánico, escritura termomecánica, manipulación atómica y nanolitografía *dip-pen*, entre otras.

1.1. Componentes principales y funcionamiento del AFM

El AFM basa sus mediciones en la interacción entre una punta (“*Probe*” o “*tip*”) que se encuentra colocada en el final de un cantilever. La Figura III.1 muestra una imagen SEM de la punta utilizada para la realización de los ensayos. Se trata de una punta fabricada en silicio, con forma de tipo Berkovich (forma tetragonal) (modelo Tap300DLC, BudgetSensors, Sofía, Bulgaria), soportada sobre un cantilever de acero y recubierta con una capa de diamante. Existe una gran variedad de formas (esféricas, piramidales...) y materiales (silicio, carbono, oro...) para la fabricación de este tipo de instrumental, lo que se deberá tener muy en cuenta dependiendo del tipo de mediciones que se estén realizando y el material con el que se trabaje^p.



Figura III.1. Imágenes SEM de una punta de AFM tipo Berkovich recubierta de diamante, soportada en un cantilever de acero.

^o Traducido como “viga voladiza”.

^p Por ejemplo, para la determinación de las propiedades mecánicas de los materiales, como la dureza o las propiedades de resistencia al rayado o a la abrasión, la forma de la punta es esencial, debiéndose de conocer parámetros específicos de la misma (para puntas tipo Berkovich como la empleada es característico el parámetro $\beta = 2.13$). Si se quiere determinar el módulo de elasticidad del material, adicionalmente a esto se tendrá que conocer el radio de contacto entre la punta y la muestra, su evolución con el tiempo, y realizar un calibrado previo para conocer cuál es el modelo matemático que mejor ajusta los datos obtenidos.

Para obtener una imagen con el AFM, un láser refleja su haz sobre la parte superior del cantilever, que finalmente llegará a un detector, de manera que el movimiento del cantilever se registra por el movimiento del haz del láser en el detector. Estos tres elementos (láser, detector y cantilever) se encuentran en una pieza común, denominada cabeza, mientras que el piezoeléctrico (componente que contiene los elementos necesarios para realizar los movimientos para el escaneo de la superficie de la muestra) se encuentra debajo de ésta, formando un conjunto independiente. Al contrario de lo que cabría pensar, es el piezoeléctrico el que realiza los movimientos en vertical y en horizontal, y no el cantilever con la punta, que permanecen acoplados en la cabeza del microscopio, que reposa fija sobre los resortes acoplados a la estructura²⁴. La Figura III.2 muestra un esquema de esta configuración.

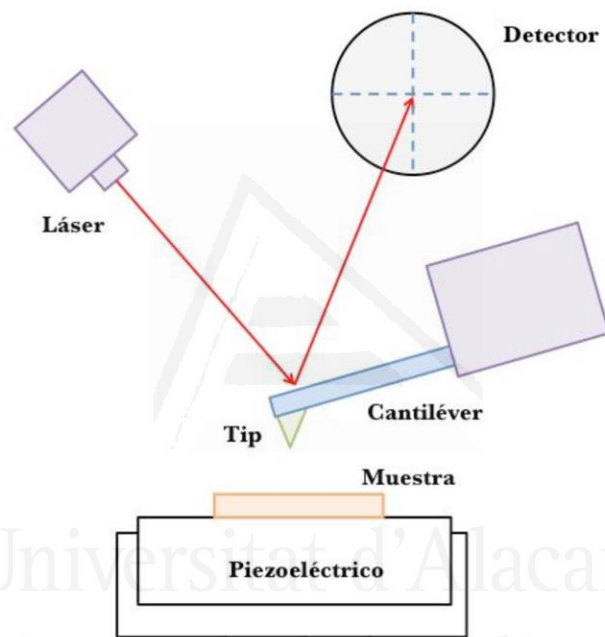


Figura III.2. Representación habitual de la configuración típica de un AFM, en la que se observa, en la parte superior los componentes de la cabeza del microscopio: detector, láser y conjunto punta/cantilever; mientras que en la parte inferior se encuentra el piezoeléctrico sobre el que reposa la muestra a estudiar.

1.2. Modos de operación

Dependiendo del tipo de información que se quiera obtener de las muestras, existen diferentes modos de operación en los que puede operar el AFM:

- **Modo contacto:** En este modo, la punta barre la muestra en contacto con la superficie. Fue el primero de los métodos desarrollados. Operando de esta manera, la deflexión del cantilever es detectada en un amplificador de retroalimentación y, finalmente, es comparada respecto a un valor concreto (valor objetivo o “*SetPoint*”). Si la deflexión medida del cantilever es diferente del valor objetivo, se aplica un voltaje que provoca un movimiento en el piezoeléctrico hasta que consiga corregir la desviación, con lo que se consigue elaborar una imagen topográfica de la superficie. Esto se consigue debido a que el voltaje aplicado al piezoeléctrico es directamente proporcional a la medida de la altura

asociada al contorno de la superficie. La Figura III.3 muestra una representación de este modo de operación para la construcción de la topografía de la superficie. Como se observa, en primer lugar, el sistema está en equilibrio sobre un punto, y el láser apunta al centro del detector. Entonces el piezoeléctrico se desplaza hacia la izquierda (escaneando la muestra hacia la derecha), quedando registrada su señal. En el momento en el que la punta encuentra un obstáculo, el cantilever se curva, provocando que el láser no apunte al objetivo. Esto genera una respuesta en el piezoeléctrico, que hace que se mueva hacia abajo (escaneando la superficie hacia arriba) hasta conseguir que el láser apunte de nuevo al objetivo, lo que queda representado con un salto. De esta manera continúa el proceso hasta conseguir escanear la superficie deseada.

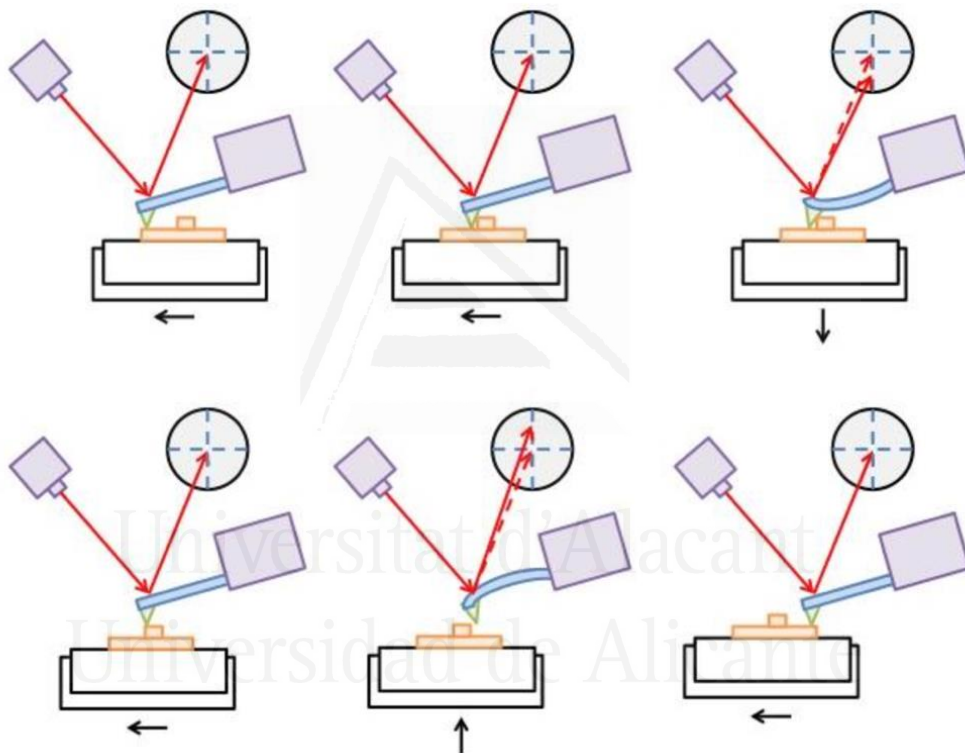


Figura III.3. Representación del tipo de operación en el modo contacto del AFM. En la imagen, de izquierda a derecha, se representa como el piezoeléctrico se mueve, con lo que la punta va tocando la superficie, hasta que encuentra un obstáculo, que provoca la curvatura del cantilever, lo que acciona un efecto inmediato en el piezoeléctrico, quedando registrada dicha interacción, que servirá para componer la imagen final.

- **Modo no-contacto:** este método es utilizado cuando la punta, debido al contacto con la superficie, puede quedar dañada o, incluso, dañar la propia superficie. En este modo, la punta se sitúa a una distancia de entre 50 a 150 Angstrom de distancia sobre la superficie. En este caso, la imagen se compone debido a la detección de interacciones debidas a fuerzas de Van Der Waals entre la punta y la superficie de la muestra. Estas fuerzas son muy inferiores a las generadas en modo contacto, por lo que la medida de estas ha de realizarse de manera indirecta, para lo que se hace oscilar el cantilever, consiguiendo un

efecto amplificador de la señal. La topografía de la superficie provocará variaciones en la oscilación y, con estas pequeñas variaciones, se compondrá la imagen final. La Figura III.4 muestra una representación de este proceso.

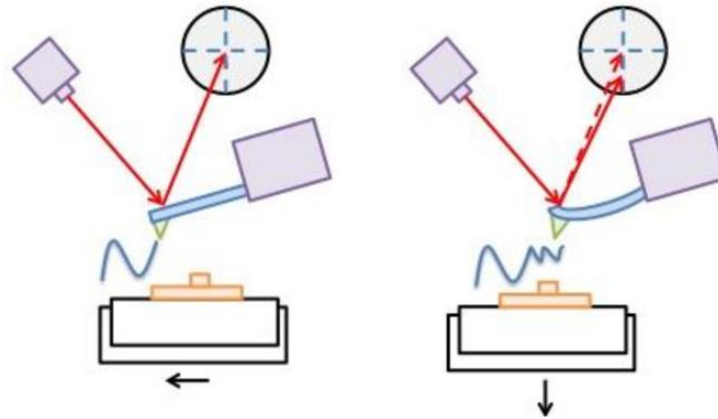


Figura III.4. Representación del tipo de operación en el modo no-contacto, en la que se observa cómo, al encontrarse la punta con un obstáculo, se produce un cambio en la amplitud de oscilación del cantilever, provocando una respuesta automática para compensar esta desviación, que queda registrada y será utilizada para componer la imagen final.

- **Modo semi-contacto o “Tapping”:** es el modo de operación más avanzado, y uno de los más empleados, aunque tiene asociados problemas de fricción y adhesión, entre otros. Este método permite construir imágenes en muestras que pueden dañarse con facilidad. Para trabajar en este modo de operación, también se precisa la oscilación del cantilever, haciendo que la punta toque la muestra en cada ciclo, pero con una amplitud de oscilación suficientemente grande para minimizar la influencia de las fuerzas de adhesión que se pudieran dar, procurando que estas perturbaciones afecten lo mínimo posible a la señal. Es útil para el análisis de compuestos poliméricos heterogéneos, pues el desfase existente entre una señal perturbadora y la señal de respuesta debe cambiar al pasar de un dominio con unas propiedades mecánicas definidas a otro diferente, siendo las fases blandas las que mayor desfase aporten al registro.

En la Tabla III.1 se muestran las ventajas e inconvenientes que tiene cada uno de estos modos, lo que resulta de utilidad para escoger el mejor modo de operación para el tipo de muestra a ensayar. En el caso de las matrices de almidón empleadas en este trabajo, el método escogido es el modo semi-contacto, pues las muestras son blandas y, además, se precisa de buena resolución lateral para conseguir unas imágenes de fase de calidad.

De manera habitual, los ensayos con el AFM se realizan en condiciones de atmósfera ambiente, aunque, en esta situación, la mayoría de las superficies cuentan con una capa de agua y/o nitrógeno adsorbida, lo que puede llevar a la generación de fuertes fuerzas de adhesión cuando se trabaja en

modo contacto, llegando incluso a formarse meniscos entre la superficie y la punta, como se representa en la Figura III.5. Este tipo de problemas se soluciona realizando los ensayos sumergiendo la muestra y la punta en un líquido. Bajo estas condiciones, la resolución de la imagen obtenida puede disminuir, siendo el agua el medio más común para estos ensayos, por lo que, al trabajar con una matriz plástica hidrosoluble, es completamente inviable y se ha de operar el AFM en condiciones atmosféricas. Para minimizar la introducción de errores en las imágenes debido a perturbaciones del entorno, todo el sistema se coloca sobre una mesa antivibraciones.

Tabla III.1. Ventajas e inconvenientes de los modos de operación en el AFM.

Modo	Ventajas	Inconvenientes
Contacto	Alta velocidad Resolución atómica Buena resolución en superficies rugosas	Influencia de las fuerzas laterales y capilaridad Puede dañar las muestras blandas Mayor probabilidad de rotura del cantilever
Semi-contacto	Alta resolución lateral Poco daño superficial en muestras blandas	Menor velocidad de barrido
No-contacto	No se ejercen fuerzas sobre la superficie	Menor resolución lateral Menor velocidad de barrido

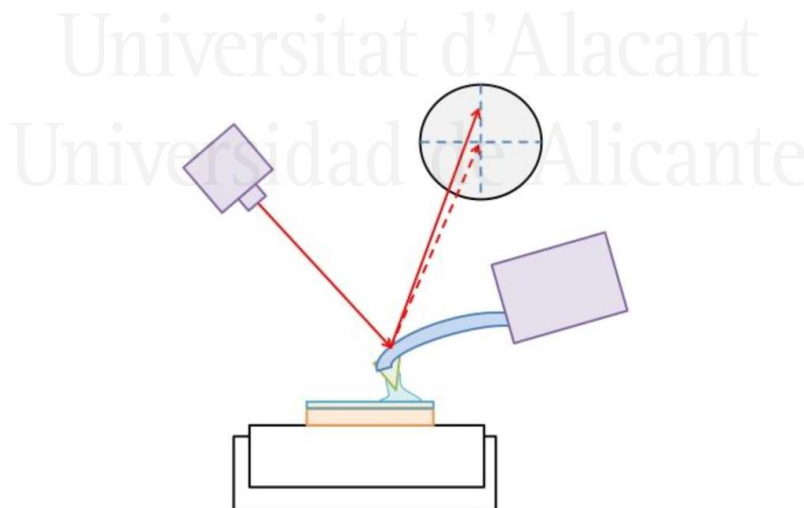


Figura III.5. Representación del menisco provocado por el agua adsorbida sobre la superficie de la muestra que puede tener lugar operando en el modo contacto del AFM.

2. Materiales

El microscopio utilizado es un AFM NT-DMT (NTEGRA Prima, Moscú, Rusia), que operará en el modo semi-contacto (“*Tapping*”). Posteriormente, las imágenes son procesadas utilizando el

software Nova PX (NT-MDT Co., Moscú, Rusia, 2013). La punta utilizada es una punta recubierta de diamante soportada sobre cantilever de acero (modelo Tap300DLC, BudgetSensors, Sofía, Bulgaria). En este caso, la punta utilizada no es adecuada para la determinación de las propiedades mecánicas de materiales blandos, como lo son las matrices de almidón ensayadas, pero sí lo es para la obtención de imágenes topográficas y de fase.

3. Preparación de la muestra para su observación en el AFM

Las matrices de almidón termoplástico se preparan mediante el método de casting, siguiendo el procedimiento descrito previamente por Medina-Jaramillo²⁸⁻³⁰, en el que la proporción adecuada entre almidón y plastificante se mezclan en exceso de agua, en agitación constante y empleando calor. Una vez completado el procedimiento, la mezcla se vierte sobre una placa Petri y se procede con su secado.

Antes de introducir la muestra en el microscopio, esta tiene que ser preparada en el portamuestras de este. Para ello, se recortan trozos rectangulares de la muestra con un tamaño adecuado para no sobrepasar el tamaño de un portaobjetos de vidrio, sobre el que se deposita la muestra. En este punto es importante prestar atención a la posición de la muestra, pues, la cara del film que toca con el vidrio ha de ser la que previamente tocaba la placa Petri. Una vez colocada la muestra en el portaobjetos de vidrio, se fija al mismo con cinta adhesiva en sus bordes. A continuación, se limpia la muestra con un soplador de goma, haciendo circular aire sobre la misma, con la finalidad de eliminar las motas de polvo que pudieran haberse depositado sobre ella. Finalmente, en la cara del portaobjetos en la que no hay muestra, se fija una arandela de hierro, empleando para ello una cinta de carbono doble cara. Una vez preparado el montaje con la muestra, se coloca en la base del piezoeléctrico, al que quedará fijada magnéticamente.

Una vez completado el procedimiento anterior, se puede llevar a cabo el análisis de la muestra.

4. Obtención de las imágenes

Previamente al rastreo de la superficie de la muestra, la punta ha de ser calibrada, asegurándose que el detector está operando correctamente. Este paso previo se tendrá que realizar cada vez que se cambie de muestra, y siempre antes de comenzar una nueva sesión de trabajo con el microscopio⁹. Una vez la muestra está colocada en el soporte del piezoeléctrico se procede con el acercamiento de la muestra hasta que hace contacto con la superficie (modo contacto) o se alcanza el punto objetivo previamente fijado (modo no-contacto y modo tapping). Con la muestra y la

⁹ En este sentido, se deberá tener especial cuidado con muestras que puedan interactuar con el haz de láser (como las muestras carbonosas), pues pueden ocasionar problemas una vez el equipo está calibrado, induciendo a error en las magnitudes recogidas por el detector.

punta preparadas, se puede rastrear la superficie y así obtener los dos tipos de imágenes que recogen la información de la muestra:

- **Imagen de topografía:** Este tipo de imágenes muestran información sobre la orografía de la superficie que se está estudiando. En este sentido, se pueden observar valles, picos, defectos superficiales y cualquier otro tipo de perturbación morfológica que pudiera contener la superficie. La construcción de estas imágenes se realiza directamente por el incremento de variación del detector, sobre su eje vertical, por lo que también se le conoce como imagen de alturas. De esta manera, se pueden conseguir imágenes en 2D y 3D. A partir de este tipo de imágenes es posible determinar otro tipo de características de la superficie de los materiales, como la rugosidad de estas, que puede evaluarse mediante dos estadísticos: rugosidad promedio (R_a , ecuación III.1), como el promedio de las desviaciones de altura de una superficie media; y rugosidad cuadrática promedio (R_q , ecuación III.2), como el promedio cuadrado de las desviaciones de altura tomadas del plano medio. Estas rugosidades pueden obtenerse con las siguientes expresiones:

$$R_a = \frac{\sum_{i=1}^N (Z_i - Z)}{N} \quad \text{III.1}$$

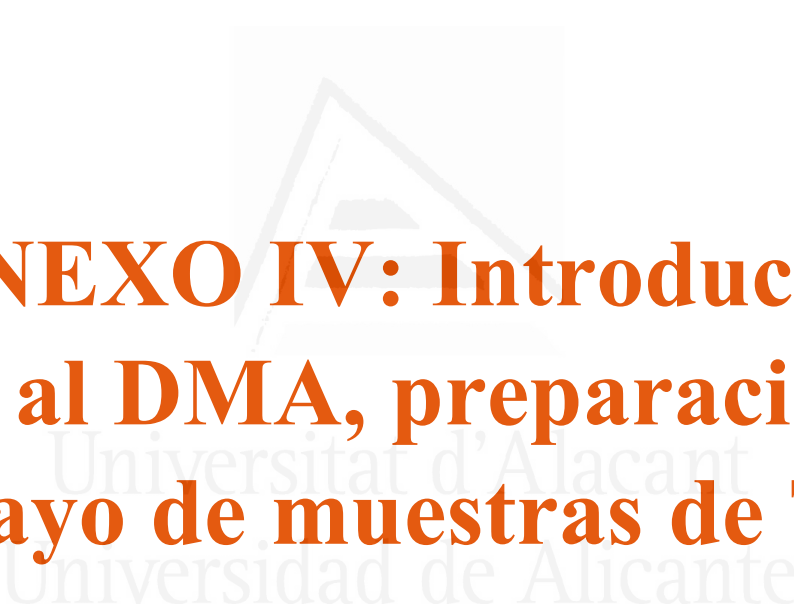
$$R_q = \sqrt{\sum_{i=1}^N \frac{(Z_i - Z)^2}{N}} \quad \text{III.2}$$

donde Z es la media aritmética de las alturas, expresada en nm; y Z_i es la altura del punto de datos, expresado también en nm; y N es el número de puntos que componen la imagen.

- **Imagen de fase:** Este tipo de imágenes dan información sobre la heterogeneidad de la muestra, en lo que se refiere a variaciones en los dominios de propiedades mecánicas, que normalmente se corresponden con variaciones en la composición de las diferentes fases del material. Son construidas por la variación del desfase que se registra en la oscilación del cantilever cuándo este cambia entre dominios. Al contrario que sucede con las imágenes de topografía, las de fase, no muestran directamente la realidad física del material (una altura, una grieta, una burbuja...), sino que son un constructo útil que permite evaluar la homogeneidad del material. Por este motivo, estas imágenes solo se recogen en 2D, pues su proyección en 3D no aporta ningún tipo de información pues, como se ha comentado, los datos recogidos hacen referencia a desfases en la resonancia del cantilever, no ha una propiedad medible de la muestra.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



**ANEXO IV: Introducción
al DMA, preparación y
ensayo de muestras de TPS**

1. Introducción a la técnica^{31-33,r}

La complejidad del comportamiento de los polímeros se debe a su carácter viscoelástico. Los materiales clásicos exhiben un comportamiento elástico o viscoso cuando son sometidos a un esfuerzo. La respuesta elástica es común de los materiales sólidos: cuando una tensión es aplicada en un sistema elástico, se obtiene una deformación proporcional al esfuerzo aplicado, pudiéndose expresar este fenómeno con la ecuación IV.1, donde σ es el esfuerzo en cizalla, G es el módulo de cizalla (o módulo de corte) y γ es la deformación del sistema. La respuesta elástica de un sistema es instantánea y completamente recuperable, por este motivo, se dice que el material almacena energía, que “liberará” en el momento en el que cese el esfuerzo.

$$\sigma = G \cdot \gamma \quad \text{IV.1}$$

Por otro lado, el comportamiento viscoso es característico de los fluidos, en los que la deformación se incrementa proporcionalmente con el tiempo hasta que cesa la tensión aplicada. En este tipo de sistemas, la deformación no es recuperable, por lo que se dice que la energía se ha disipado en el sistema. Newton describió este comportamiento con la ecuación (IV.2), donde σ es la tensión, η es la viscosidad y $\dot{\gamma}$ es la velocidad de deformación.

$$\sigma = \eta \cdot \dot{\gamma} \quad \text{IV.2}$$

Estas dos categorías son idealizaciones, si bien es cierto que muchos sólidos se aproximan a la ley de Hooke para deformaciones infinitesimales; mientras que muchos líquidos se aproximan a la ley de Newton para velocidades de deformación bajas. Hay materiales que presentan un comportamiento intermedio entre estos dos extremos, considerándose materiales viscoelásticos, como es el caso de los materiales plásticos. De esta manera, la ecuación relativa a los sistemas viscoelásticos queda descrita en la ecuación IV.3, donde $G(t)$ se corresponde con el módulo de relajación.

$$\sigma = G(t) \cdot \gamma \quad \text{IV.3}$$

En la Figura IV.1 se muestra una representación de estos fenómenos cuando se aplica un esfuerzo a un material elástico (a), viscoso (b) y viscoelástico (c). En la figura se observa como la aplicación de un esfuerzo sobre el material elástico, durante un cierto tiempo, provoca una deformación, que es completamente recuperada cuando cesa el esfuerzo; mientras que en el caso de la aplicación del esfuerzo sobre el material viscoso provoca una deformación que no se recupera al cesar dicho esfuerzo. En el caso del material viscoelástico, como se ha comentado, el

^r Apartado basado principalmente en el trabajo “Dynamic Mechanical Analysis for Plastics Engineering” de Michael P. Sepe para la Editorial PDL (Plastics Design Library); el Tema 3: Viscoelasticidad de “Introducción a la Reología” de Juan Carlos García-Quesada, publicado en el repositorio institucional de la Universidad de Alicante; y la Tesis Doctoral de Albert Serra titulada “Propuesta de nuevos modelos constitutivos para la caracterización viscoelástica de materiales” de la Universidad Ramón Llull.

comportamiento es intermedio, en el que cuando cesa la aplicación del esfuerzo, el material no recuperará completamente su estado inicial y mantendrá parte de la deformación obtenida. De esta manera, se puede determinar un parámetro que será indicativo de cuán elástico, o viscoso, es un material. Este es el número de *Deborah* ($De = \tau/t$), definido como el cociente entre el tiempo de relajación (τ), característico de la sustancia, y el tiempo característico del proceso de deformación al que se somete al material (t). Bajo esta premisa, un sólido de Hooke tendrá un número de *Deborah* infinito mientras que, para un fluido de Newton, será cero. Con este parámetro se puede considerar que aquellos materiales que tengan un número de *Deborah* cercano a 1 tendrán un comportamiento viscoelástico, los que tengan un valor superior tendrán un comportamiento elástico y, los que tengan un valor inferior a 1, se comportarán de manera viscosa. Para el caso de los polímeros comunes, este valor suele ser cercano a la unidad, por lo que se puede suponer que tendrán un comportamiento viscoelástico.

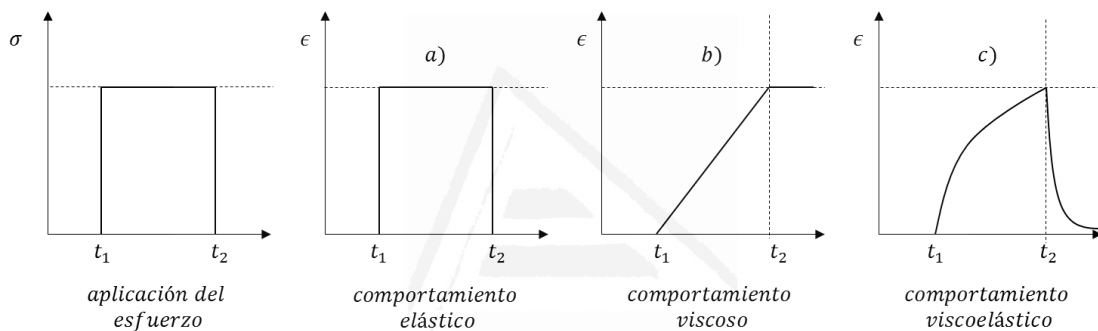


Figura IV.1. Representación de la respuesta ante la aplicación de un esfuerzo para un material elástico (a), viscoso (b) y viscoelástico (c).

En los materiales viscoelásticos se puede encontrar que la relación entre el esfuerzo y la deformación sea lineal (zona de viscoelasticidad lineal) o que esta relación no sea así (zona de viscoelasticidad no lineal). La primera de ellas se localiza para deformaciones del material muy pequeñas, casi infinitesimales, cercanas al equilibrio, de manera que la respuesta del material se encuentra condicionada por su estructura molecular, por lo que estudiar el material en esta zona es una buena herramienta de caracterización del mismo. De esta manera, el desarrollo matemático considera que la deformación es directamente proporcional al esfuerzo para cualquier tiempo, pudiendo describir este comportamiento con ecuaciones diferenciales con coeficientes constantes si se cumple que tanto la deformación y la velocidad de deformación son infinitesimales, como que la relación entre el esfuerzo y la propia deformación sea dependiente del tiempo. Para un material sometido a un esfuerzo de cizalla simple se puede definir la ecuación constitutiva (o ecuación reológica de estado) como se muestra en la ecuación IV.4, donde t es el tiempo actual; t' hace referencia a un instante anterior; y $G(t)$ es el módulo de relajación.

$$\sigma(t) = - \int_{-\infty}^t G(t-t') \frac{d\gamma(t')}{dt'} dt' \quad \text{IV.4}$$

Pero el comportamiento de los materiales es complejo de modelizar, por lo que se emplean modelos mecánicos, en los que el comportamiento viscoso (fluido de Newton) viene representado por un pistón, representando la disipación de energía en forma de calor almacenada en el sistema; mientras que el comportamiento elástico (sólido de Hooke) se representa como un muelle, haciendo referencia al almacenamiento de energía en el sistema, tal y como se representa en la Figura IV.2.

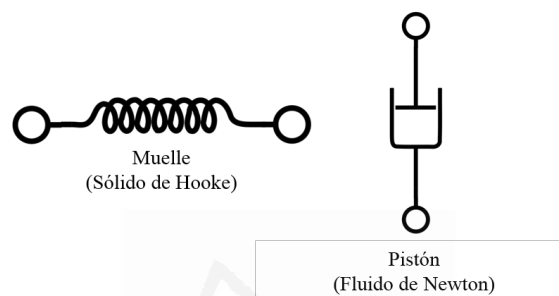


Figura IV.2. Representación clásica de un sólido de Hooke como un muelle; y un fluido de Newton como un pistón.

De esta manera, se pueden realizar diferentes combinaciones entre los muelles y los pistones con el objetivo de obtener un conjunto de ecuaciones matemáticas que representen el comportamiento del sistema de estudio. Maxwell y Kelvin propusieron las combinaciones más sencillas, basadas en la consideración mecánica para el comportamiento viscoelástico como un muelle conectado en serie con un pistón (para el caso de Maxwell) y un muelle conectado en paralelo con un pistón (para el caso de Kelvin), tal y como se muestra en la Figura IV.3. Estos modelos son muy sencillos para correlacionar sistemas complejos, por lo que se puede emplear también una combinación de ambos modelos, como propuso Burgers, o se pueden ir superponiendo los elementos anteriores tanto en serie como en paralelo para conseguir un ajuste mejor de los datos experimentales al modelo, como propusieron Weichert y Becker, tal y como se muestra en la Figura IV.4.

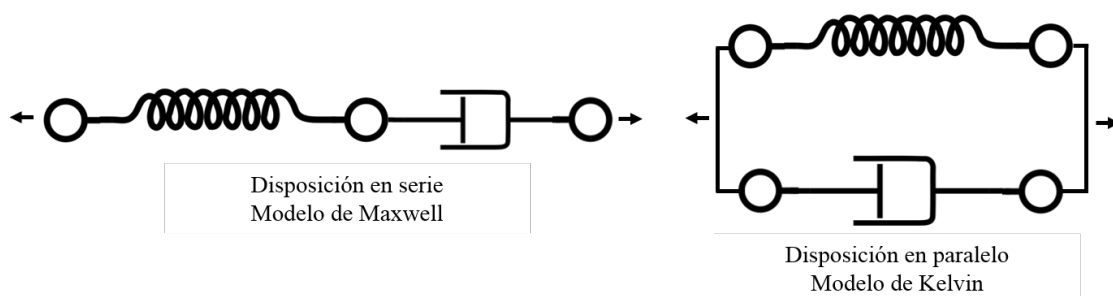


Figura IV.3. Representación del modelo de Maxwell y modelo de Kelvin.

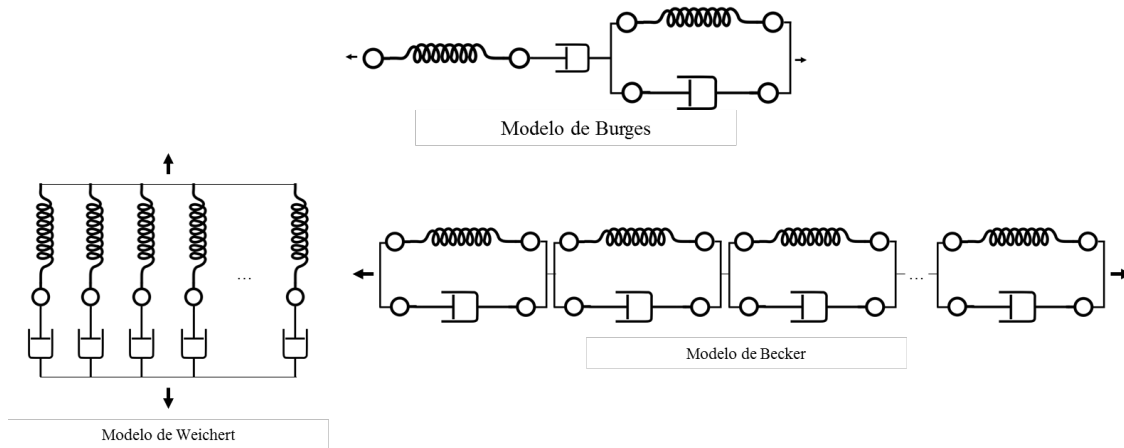


Figura IV.4. Representación de los modelos de Burgues, Weichert y Becker.

Los datos experimentales con los que ajustan los diferentes modelos se pueden obtener mediante diferentes experimentos basados en la zona de viscoelasticidad lineal: relajación de esfuerzos, ensayos de fluencia, recuperación elástica o, los empleados en este trabajo, experimentos dinámicos u oscilatorios. Estos últimos experimentos pueden realizarse en un equipo de análisis dinámico mecánico (DMA), en el que se aplica una deformación sobre la muestra y que varía de manera sinusoidal, con lo que el esfuerzo también lo hará pero, en este caso, con un desfase (δ), tal y como se muestra en las ecuaciones IV.5 y IV.6 y representado en la Figura IV.5.

$$\gamma = \gamma^0 \text{sen}(\omega t) \tag{IV.5}$$

$$\sigma = \sigma^0 \text{sen}(\omega t + \delta) \tag{IV.6}$$

Teniendo en cuenta las ecuaciones anteriores, se puede desarrollar la ecuación constitutiva (ecuación IV.4) hasta conseguir las expresiones mostradas en la ecuación IV.7 y IV.8, en la que $G'(\omega)$ hace referencia al módulo elástico (o de almacenamiento); mientras que $G''(\omega)$ hace referencia al módulo viscoso (o de pérdidas)^s.

$$\sigma = \gamma^0 (G' \text{sen}(\omega t) + G'' \text{cos}(\omega t)) \tag{IV.7}$$

$$\left[\begin{array}{l} G'(\omega) = \omega \int_0^\infty G(s) \text{sen}(\omega s) ds \\ G''(\omega) = \omega \int_0^\infty G(s) \text{cos}(\omega s) ds \end{array} \right]_{s = t - t'} \tag{IV.8}$$

Desarrollando la ecuación IV.6^t y comparando con la ecuación constitutiva desarrollada en la ecuación IV.7, se pueden definir los módulos elástico y viscoso como una función del ángulo de desfase, como se muestra en la ecuación IV.9 y IV.10. Si se dividen estas dos expresiones, se

^s Esta nomenclatura, G' y G'' , es la utilizada cuando se trabaja en el modo cizalla, mientras que si se trabaja en tensión o flexión se emplea E' y E'' respectivamente.

^t Aplicando trigonometría: $\text{sen}(a + b) = \text{sen}(a) \text{cos}(b) + \text{cos}(a) \text{sen}(b)$

puede definir la tangente de delta (ecuación IV.11) como el cociente entre módulo viscoso y elástico, siendo un parámetro indicativo de la relación que existe entre la energía disipada y la almacenada por el material cuando es sometido a un esfuerzo. Esto es, si un material es completamente elástico, el esfuerzo y la deformación están en fase ($\delta = 0$); si es viscoso, el esfuerzo y la deformación están desfasados completamente ($\delta = \frac{\pi}{2}$); por tanto, los materiales viscoelásticos tendrán un desfase intermedio ($0 < \delta < \frac{\pi}{2}$).

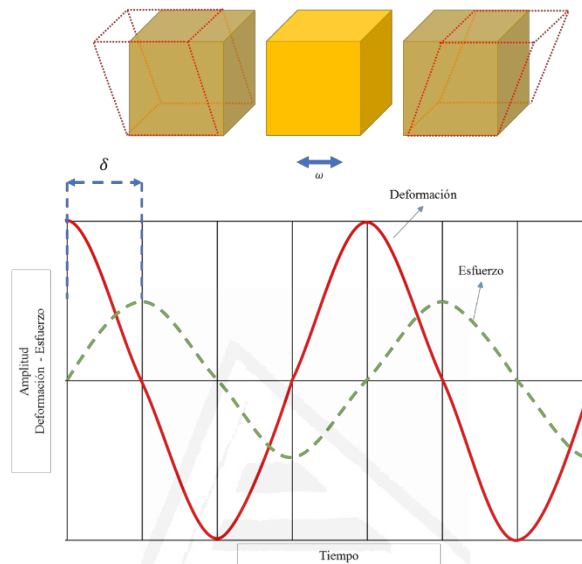


Figura IV.5. Representación de un infinitesimal de material al que se aplica una deformación oscilatoria (parte superior) y su respuesta en el tiempo (parte inferior) en la que se observa el desfase (δ) de la señal del esfuerzo respecto a la deformación.

$$G' = \left(\frac{\sigma^0}{\gamma^0} \right) \cdot \cos(\delta) \quad \text{IV.9}$$

$$G'' = \left(\frac{\sigma^0}{\gamma^0} \right) \cdot \text{sen}(\delta) \quad \text{IV.10}$$

$$\tan(\delta) = \frac{G''}{G'} \quad \text{IV.11}$$

La $\tan(\delta)$ es un parámetro muy interesante pues, debido a que expresa la relación entre los módulos de una manera adimensional, permite comparar polímeros en los que las condiciones de operación y composición pueden variar estos parámetros. En este sentido, se puede considerar a la $\tan(\delta)$ como un índice de viscoelasticidad. Además, con este parámetro también se pueden estudiar las transiciones sólido-sólido más importantes en los plásticos, como la transición vítrea, además de cualquier tipo de movilidad en la estructura del polímero debido a relajaciones secundarias. Si el polímero estudiado es una mezcla, la representación de la $\tan(\delta)$ frente a la temperatura puede presentar más de un pico característico. En este caso, cuanto mayor sea la

heterogeneidad del material, los picos se aproximarán más a las temperaturas de transición vítrea (T_g) del polímero individual correspondiente.

Debido a las definiciones mostradas en las ecuaciones anteriores (IV.9, IV.10 y IV.11) se puede definir el módulo complejo como la suma de las contribuciones de los módulos elástico y viscoso (ecuación IV.12)^u.

$$G^* = G' + iG'' \quad \text{IV.12}$$

De manera análoga se puede definir la viscosidad compleja del material (ecuación IV.13), considerándose una medida de respuesta ante un esfuerzo de corte oscilatorio.

$$\eta^* = \eta' + i\eta'' \quad \text{IV.13}$$

Así, con los datos obtenidos del DMA tras la realización de diferentes ensayos, se pueden estudiar varios aspectos del material. Existen diferentes tipos de experimentos, destacando aquellos que se basan en un barrido de temperaturas o en un barrido de frecuencias. Para el caso de los primeros, los ensayos se realizan con una frecuencia de oscilación constante y se emplean para el estudio de la miscibilidad de los polímeros, de su proceso de gelatinización, curado, cristalización, etc., observando los máximos en la representación de la tangente de pérdidas frente a la temperatura, observando los picos correspondientes a la absorción de energía durante las transiciones primarias y secundarias. Para el caso de los barridos de frecuencia se realizan los ensayos manteniendo la temperatura constante, permitiendo la determinación de la viscosidad del material. Con esta viscosidad se puede estudiar la procesabilidad del material en términos de la regla de Cox-Merz, la cual establece que la viscosidad dinámica medida en experimentos oscilatorios empleando diferentes frecuencias es igual a la viscosidad estacionaria en cizalla para diferentes velocidades de cizalla, reemplazando de esta manera a los experimentos para la determinación de la viscosidad estacionaria, que suelen tener mayores limitaciones.

2. Preparación de las muestras y ensayos realizados

Los datos obtenidos del equipo de DMA son muy sensibles a las condiciones de operación (rango de temperaturas, oscilación, fuerza aplicadas en las mordazas, simetría de la probeta...). En este sentido, los filmes obtenidos mediante el método de casting no presentan las condiciones necesarias para poder realizar ensayos suficientemente confiables (principalmente por el poco espesor que presentan los filmes). Por este motivo, en este trabajo, las muestras ensayadas con el DMA son las que están procesadas mediante mezcla en fundido, en la que el post-procesado en prensa de platos calientes permite la obtención de probetas de calidad con un espesor suficiente que minimice estos errores: 8.5x25x1mm.

^u Resolviendo la forma trigonométrica a binómica para un número complejo: $a + ib = r(\cos(\alpha) + i\sin(\alpha))$.

Con la finalidad de poder emplear el tratamiento matemático de los datos del DMA en el marco de la teoría de la viscoelasticidad lineal es imprescindible comprobar que los ensayos se llevan a cabo para este rango reológico del material, para lo que se puede realizar un barrido de deformaciones. Para ello, se dispone la muestra en el equipo de DMA y se somete a una deformación de entre 10 a 150 micras en modo flexión, repitiendo el ciclo de deformación para 30, 50, 70 y 90 °C con una frecuencia de 1 Hz. Para todas las temperaturas se observa que, para deformaciones por debajo de 75 micras, el equipo no tiene suficiente sensibilidad para determinar de una manera clara la información de los módulos (Figura IV.6); mientras que, para deformaciones mayores, se observa como sí se consigue la estabilización de los módulos (sin llegar a observar en ningún caso la caída del módulo de pérdidas, lo que sería claro indicativo del cambio a una zona de viscoelasticidad no lineal, en la que no se podrían aplicar los modelos explicados en el punto anterior). Se realiza este ensayo para las diferentes muestras, obteniéndose un resultado similar, por lo que se decide operar con una amplitud de deformación de 100 micras.

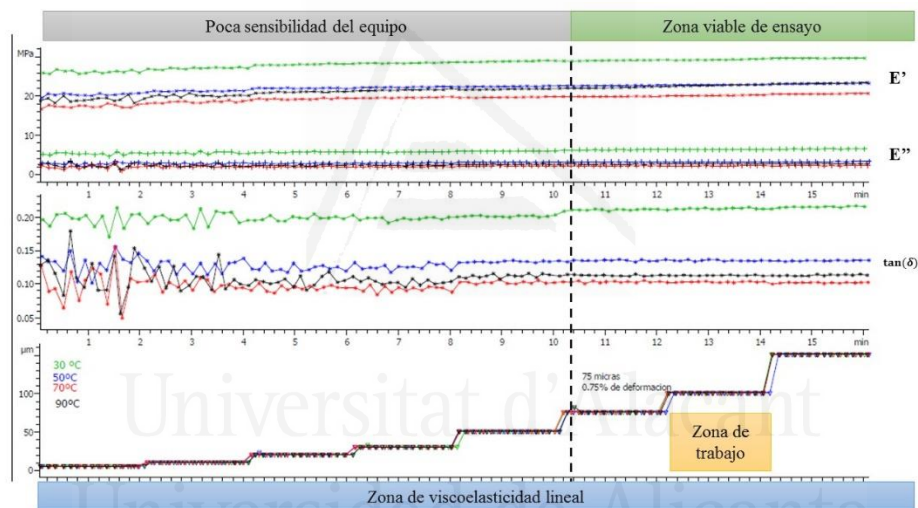
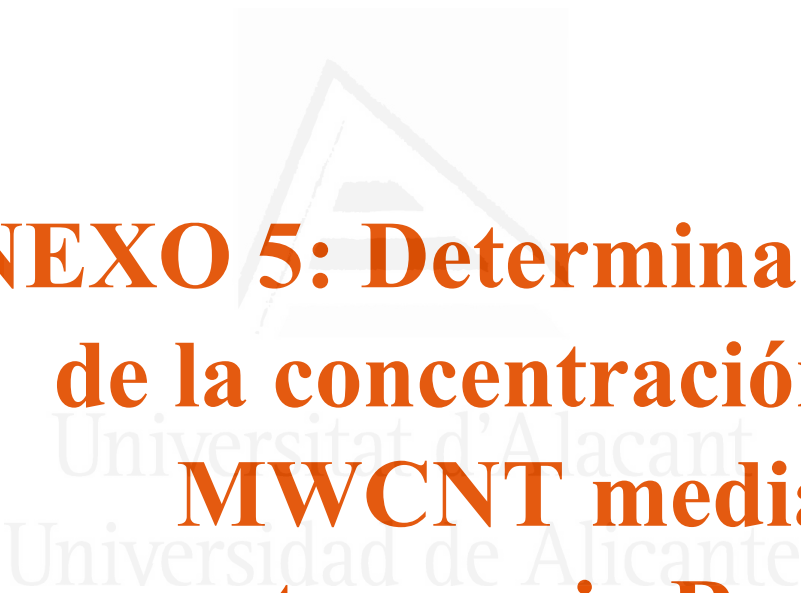


Figura X.1. Ensayo de Deformación para la muestra R0 en la que se observan los módulos de almacenamiento (E') y pérdidas (E''), así como la $\tan(\delta)$ y la deformación aplicada en cada momento. Se observa como para todos los valores del ensayo la muestra se encuentra en su zona de viscoelasticidad lineal, pero, que es solo por encima de las 75 micras deformación, cuando el equipo tiene la suficiente precisión para detectar los valores sin ruido, por lo que se ha de trabajar por encima de este valor.

Una vez obtenida la amplitud de deformación, se realizan los ensayos de barrido de temperatura, en los que se estudian la respuesta de las muestras para un rango entre -100 y 60°C, con una rampa de 3°C/min y, de nuevo, una frecuencia de 1 Hz. Con este ensayo se pretende obtener la $\tan(\delta)$ de las muestras, con lo que se podrán estudiar las transiciones asociadas a los movimientos de las cadenas del polímero, además de estudiar la miscibilidad y compatibilidad de las muestras.

Finalmente se realiza el ensayo de barrido de frecuencias, con el que se ensayan las muestras a una temperatura de 100°C variando la frecuencia de operación desde 0.9 a 50 Hz. Con este ensayo se determina la viscosidad compleja de cada una de las muestras, que dará información sobre la procesabilidad de estas.



**ANEXO 5: Determinación
de la concentración de
MWCNT mediante
espectroscopia Raman**

La mejora de las propiedades de una matriz polimérica cuando es dopada con una carga, o nanocarga, se deben principalmente a dos factores: i) la afinidad entre la carga utilizada y la propia matriz; y ii) a la dispersión de la carga en la matriz. Así, estudiar la dispersión de los MWCNT en las matrices de TPS es importante, pues ayuda a comprender las propiedades del material. Lamentablemente, observar directamente la dispersión de las nanocargas en las matrices de TPS es muy complicado debido a que: i) las técnicas convencionales empleadas para la observación de la dispersión en matrices poliméricas, como la microscopía electrónica de transmisión (TEM), destruyen el material debido a la elevada energía aplicada sobre la matriz durante su observación; y ii) las mediciones directas utilizando otro tipo de microscopio no son capaces de distinguir la matriz de la nanocarga. Por este motivo, la dispersión de los MWCNT en la matriz de TPS se ha de evaluar indirectamente empleando la espectroscopia Raman, por ejemplo, lo que permite observar los nanotubos en la matriz tras la realización de una exploración de la superficie del filme. A continuación, se realiza una introducción a la técnica y al procedimiento seguido para la determinación de la dispersión de MWCNT utilizado en el Artículo 3 (véase la Sección II).

1. Espectroscopia Raman

Cuando un haz de luz monocromática incide sobre una muestra, los fotones pueden ser absorbidos por la misma y, posteriormente, emitidos. Si la frecuencia de los fotones no cambia al interactuar con la muestra, se conoce como dispersión de Rayleigh, siendo esta la manera de interacción más abundante entre la luz y la muestra. Por el contrario, si los fotones cambian su frecuencia al interactuar con la muestra, fenómeno denominado como dispersión Raman, puede producirse un cambio hacia arriba o hacia abajo respecto de la frecuencia de la luz de láser, pudiéndose detectar. Esta variación en la frecuencia puede dar información sobre los estados vibratorios de las moléculas, que además serán característicos para cada una de ellas. La Figura V.1 muestra un ejemplo visual de estos fenómenos.

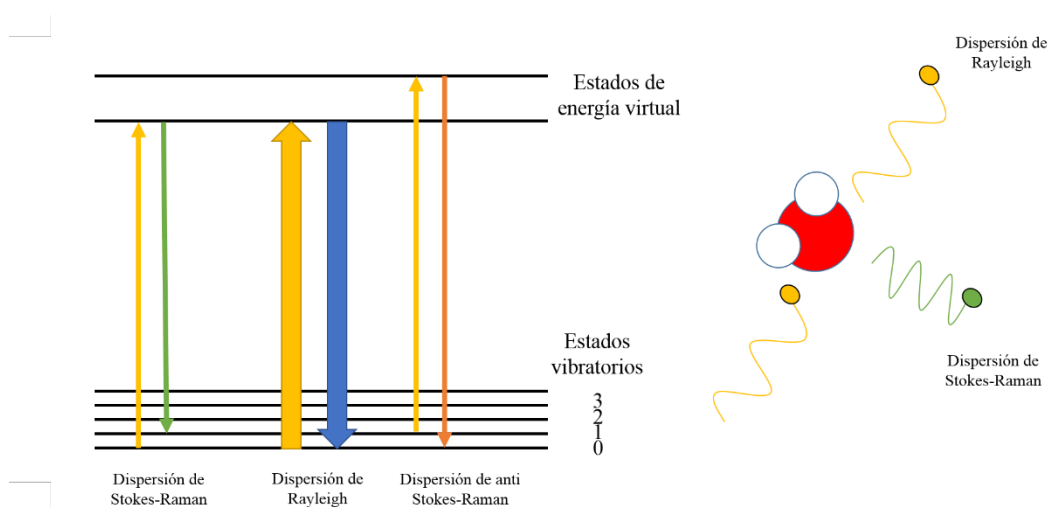


Figura V.1. Representación de los estados vibratorios para la dispersión Rayleigh y Stokes-Raman, en la que se muestra como un fotón incide en una molécula de agua y cambia o no su frecuencia dependiendo del tipo de interacción con ella.

De esta manera, con la espectroscopia Raman se puede realizar un “mapeo” de la superficie de las muestras, identificando la matriz de almidón y con la finalidad de detectar la dispersión de los MWCNT en ella.

2. Obtención de las imágenes del mapeo Raman

Para la adquisición de los espectros de las muestras se emplea un equipo Raman Jasco NR-5100 (Jasco Inc. Easton, MD) con un láser con longitud de onda de 532 nm. La señal Raman se adquirió usando 600 líneas/mm con la rejilla centrada entre 132 y 3819 cm^{-1} , con 1 cm^{-1} de resolución. Cada exploración espectral se recogió durante 10 segundos utilizando 2 acumulaciones. El mapeo Raman se registra mediante el escaneo de $60 \times 60 \mu\text{m}^2$ con un tamaño de paso de $2 \mu\text{m}$ a lo largo del eje x e y, lo que implica la obtención de más de 900 espectros Raman por cada análisis. Las muestras se analizaron por triplicado. Una vez se obtuvieron los espectros, con el software del equipo se suavizaron con la finalidad de reducir el ruido y se identificaron los picos correspondientes a los MWCNT (alrededor de 1585 cm^{-1}) y del almidón (cerca de 2910 cm^{-1}). De esta manera, para cada uno de los espectros se puede determinar el área de los picos característicos y calcular así una relación entre el área del pico de los MWCNT y el área del pico de la matriz de almidón, tal y como se muestra en la ecuación V.1. A cada uno de los valores obtenidos anteriormente se le asigna un color en una escala de grises, dónde cuánto mayor es el valor de la relación de las áreas, más oscuro es el color asignado. De esta manera, en las imágenes obtenidas, las zonas más oscuras se corresponderán con una mayor concentración de MWCNT respecto de matriz de almidón. Un esquema de este procedimiento se muestra en la Figura V.2.

$$A = \frac{A_{MWCNT}}{A_{Matriz}} \quad \text{V.1}$$

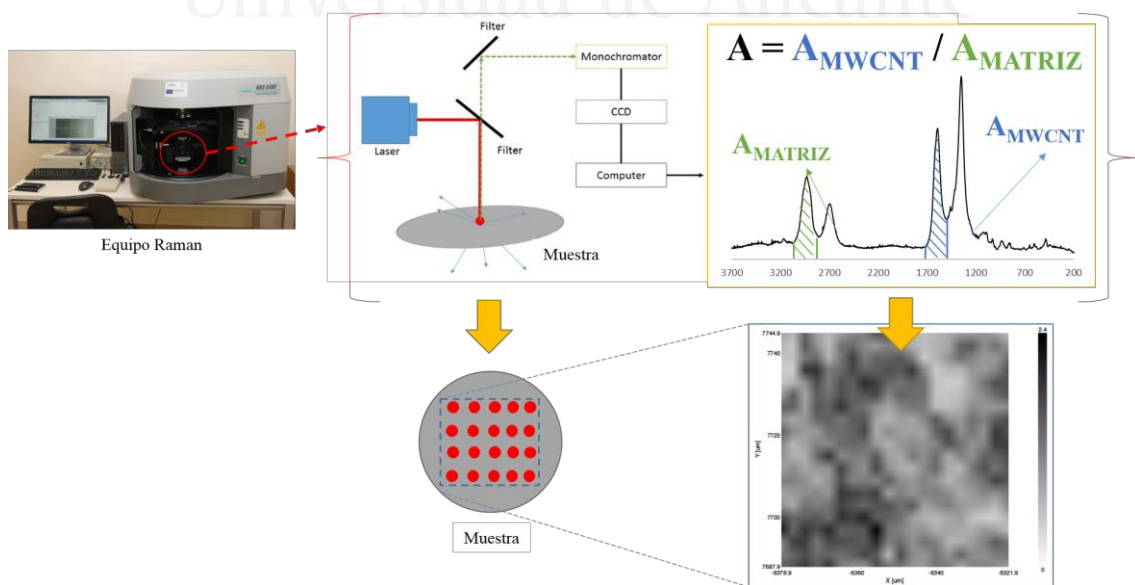


Figura V. 2. Esquema del procedimiento para la elaboración de las imágenes del mapeo Raman.

Con la finalidad de poder evaluar la dispersión de los MWCNT en la matriz, las imágenes obtenidas en el mapeo Raman se transforman en histogramas, utilizando el lenguaje de programación Python, con lo que se puede observar la distribución de colores. Si esta distribución sigue una gaussiana, quiere decir que la dispersión de los MWCNT es adecuada, mientras que, si se observan una distribución compleja, quiere decir que la dispersión de los MWCNT no es homogénea y, por tanto, no hay una buena dispersión de los nanotubos. En el siguiente apartado se muestra el código para realizar la conversión de las imágenes a histogramas.

3. Código para la obtención de los histogramas

Las imágenes provenientes del mapeo Raman ya lo hacen en escala de grises, pero podría resultar que esto no fuera así, por lo que el primer paso siempre será convertir cualquier imagen utilizada en el programa a escala de grises, con lo que quedará asegurado que no hay ningún tipo de error en la traducción e interpretación de los resultados. Para ello, en primer lugar, han de importarse las librerías necesarias para la realización de los cálculos, y asignar unas variables auxiliares que serán de utilidad para trabajar con el programa, tal y como se muestra en la Figura V.3. La variable *Raman_data* hace referencia al nombre del archivo original de la imagen, mientras que la variable *Raman_data_to_WB* será el nombre que recibirá la imagen RGB procedente del Raman convertida a escala de grises; y, finalmente, *Histogram_name* define el nombre del archivo dónde se guardará el histograma obtenido a partir de la imagen anterior.

```
from PIL import Image
import matplotlib.pyplot as plt
%matplotlib inline
Raman_data = '2__il_5.jpg'
Raman_data_to_WB = '3__il_5_b.jpg'
Histogram_name = '3__il_5_h.jpg'
```

Figura V. 3. Importación de librerías y variables auxiliares.

El siguiente paso es cargar la imagen en el programa y obtener la información de la misma. Esta información se presenta en forma de matriz bidimensional en la que por cada uno de los puntos de la imagen (pixel) se tienen 3 valores numéricos diferentes, correspondientes cada uno de ellos con el valor RGB (*Red, Green, Blue*). Existen varios métodos para la transformación de los valores RGB a escala de grises, dependiendo del tipo de imagen a tratar, pero en este caso es suficiente con la aplicación de la media aritmética de los 3 valores, tal y como se muestra en ecuación V.2. El código para llevar a cabo este proceso se muestra en la Figura V.4.

$$Average = \frac{R + G + B}{3} \quad V.2$$

Una vez se tienen los valores de la imagen en escala de grises, se ha de construir un nuevo archivo en el que incluirlos y se guardará una imagen con el nombre seleccionado en la variable auxiliar *Raman_data_to_WB* previamente nombrada, tal y como se muestra en la Figura V.5. A partir de

ese archivo se pueden calcular los valores del histograma, pero hay que tener en cuenta que en el paso anterior solo se ha generado y guardado el archivo en el directorio de trabajo, por lo que para utilizarlo será preciso cargarlo de nuevo en el programa, como se muestra en la Figura V.6, y con un comando simple obtener los datos del histograma de la imagen.

```
Image_to_process = Image.open(Raman_data)

Image_data = Image_to_process.getdata()

average = [(Image_data[x][0] + Image_data[x][1] + Image_data[x][2]) // 3 for x in range(len(Image_data))]
R Image_data[x][0]
G Image_data[x][1]
B Image_data[x][2]
```

Figura V. 4. Carga de la imagen en el programa y obtención de los datos RGB de la misma con la finalidad de obtener el valor en la escala de grises (*average*) de la misma.

```
Grayscale_Image = Image.new('L', Image_to_process.size)
Grayscale_Image.putdata(average)
Grayscale_Image.save(Raman_data_to_WB)
```

Figura V. 5. Asignación de los valores en escala de grises a un nuevo archivo de imagen.

```
Image_to_histogram = Image.open(Raman_data_to_WB)
Histogram = Image_to_histogram.histogram()
```

Figura V. 6. Carga de la imagen y obtención de los datos de su histograma.

Para dibujar el histograma hay que valerse de una función, en la que se introducirán los datos almacenados en la variable *Histogram* y el nombre del archivo, guardado previamente en la variable *Histogram_name*. La función, como el comando con la orden para generar el histograma, se muestran en la Figura V.7 y, en la Figura V.8, se muestra un ejemplo de los resultados obtenidos con esta metodología.

```
def Plot_histogram(DATA, NAME):
    plt.figure(1)
    x = range(len(DATA))
    plt.xticks([0, 50, 100, 150, 200, 255],
               [0, 50, 100, 150, 200, 255])
    plt.bar(x, DATA, align='center')
    plt.title('Histogram')
    plt.xlabel('Pixel')
    plt.ylabel('Pixel Counts')
    plt.ylim([0, 255])
    plt.ylim([0, 50000])
    plt.savefig(NAME)
    return None
```

```
Plot_histogram(Histogram, Histogram_name)
```

Figura V. 7. Función para la representación de los histogramas.

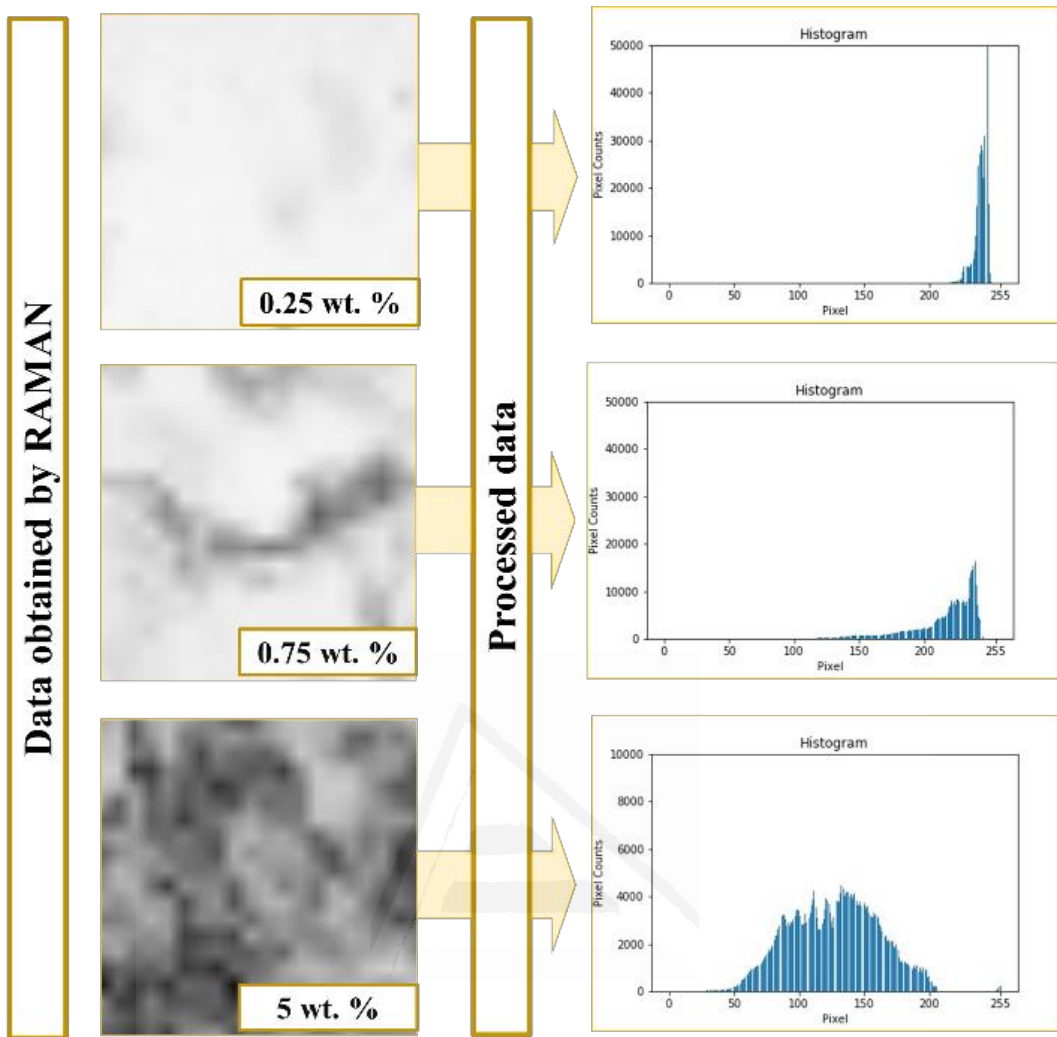


Figura V. 8. Imágenes de Raman transformadas en histogramas para las muestras de TPS plasticadas con líquido iónico.



Referencias

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

1. Pilling, E. & Smith, A. M. Growth ring formation in the starch granules of potato tubers. *Plant Physiol.* **132**, 365–371 (2003).
2. Segura-Campos, M. R., López-Sánchez, S. M., Castellanos-Ruelas, A., Betancur-Ancona, D. & Chel-Guerrero, L. Physicochemical and Functional Characterization of Mucuna pruriens Depigmented Starch for Potential Industrial Applications. *Int. J. Org. Chem.* **05**, 1–10 (2015).
3. Knutson, C. A. A Simplified Colorimetric Procedure for Determination of Amylose in Maize Starches. 89–92 (1986).
4. Chrastil, J. Improved colorimetric determination of amylose in starches or flours. *Carbohydr. Res.* **159**, 154–158 (1987).
5. Moorthy, S. N., Andersson, L., Eliasson, A. C., Santacruz, S. & Ruales, J. Determination of amylose content in different starches using modulated differential scanning calorimetry. *Starch/Stärke* **58**, 209–214 (2006).
6. Yu, J. Production of green bioplastics from agri-food chain residues and co-products. *Handb. Waste Manag. Co-Product Recover. Food Process.* **2**, 515–536 (2009).
7. Noda, T. *et al.* The effect of harvest dates on the starch properties of various potato cultivars. *Food Chem.* **86**, 119–125 (2004).
8. Noda, T. *et al.* Determination of the phosphorus content in potato starch using an energy-dispersive X-ray fluorescence method. *Food Chem.* **95**, 632–637 (2006).
9. Becker, J. S. *et al.* Determination of phosphorus in small amounts of protein samples by ICP-MS. *Anal. Bioanal. Chem.* **375**, 561–566 (2003).
10. Hwang, J. *et al.* Determination of Phosphorus in Foods by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES). *Food Eng. Prog.* **19**, 161–166 (2015).
11. Zhu, F. & Hao, C. Molecular structure of Maori potato starch. *Food Hydrocoll.* **80**, 206–211 (2018).
12. Li, D. & Zhu, F. Physicochemical properties of kiwifruit starch. *Food Chem.* **220**, 129–136 (2017).
13. Hoyos-Leyva, J. D., Bello-Pérez, L. A., Alvarez-Ramirez, J. & Agama-Acevedo, E. Structural characterization of aroid starches by means of chromatographic techniques. *Food Hydrocoll.* (2017). doi:10.1016/j.foodhyd.2017.01.034
14. Frost, K., Kaminski, D., Kirwan, G., Lascaris, E. & Shanks, R. Crystallinity and structure of starch using wide angle X-ray scattering. *Carbohydr. Polym.* (2009). doi:10.1016/j.carbpol.2009.05.018
15. Martens, B. M. J., Gerrits, W. J. J., Bruininx, E. M. A. M. & Schols, H. A. Amylopectin structure and crystallinity explains variation in digestion kinetics of starches across botanic sources in an in vitro pig model. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* **9**, 1–13 (2018).
16. Luchese, C. L., Benelli, P., Spada, J. C. & Tessaro, I. C. Impact of the starch source on the physicochemical properties and biodegradability of different starch-based films. *J. Appl. Polym. Sci.* **135**, 1–11 (2018).
17. Hornung, P. S. *et al.* Green Development of Biodegradable Films Based on Native Yam (Dioscoreaceae) Starch Mixtures. *Starch - Stärke* **70**, 1700234 (2018).
18. Medina-Jaramillo, C., Ochoa-Yepes, O., Bernal, C. & Famá, L. Active and smart biodegradable packaging based on starch and natural extracts. *Carbohydr. Polym.* **176**, 187–194 (2017).
19. Commission, E. *Commission Regulation (EU) No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food Text with EEA relevance.* 1–89 (2011).
20. Luchese, C. L., Garrido, T., Spada, J. C., Tessaro, I. C. & de la Caba, K. Development and characterization of cassava starch films incorporated with blueberry pomace. *Int. J. Biol. Macromol.* **106**, 834–839 (2018).
21. Lopez-Rubio, A., Flanagan, B. M., Shrestha, A. K., Gidley, M. J. & Gilbert, E. P. Molecular rearrangement of starch during in vitro digestion: Toward a better understanding of enzyme resistant starch formation in processed starches. *Biomacromolecules* **9**, 1951–1958 (2008).
22. Zhang, B. *et al.* Facile Preparation of Starch-Based Electroconductive Films with Ionic

- Liquid. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **5**, 5457–5467 (2017).
23. Urtubia, C. Aportacion a la optica de Robert Hooke. *Ver y Oir. Optometría infantil* 36–38 (1988).
 24. Habibullah, H. 30 Years of atomic force microscopy: Creep, hysteresis, cross-coupling, and vibration problems of piezoelectric tube scanners. *Meas. J. Int. Meas. Confed.* **159**, 107776 (2020).
 25. Domene-López, D., Carlos García-Quesada, J. & Martín-Gullón, I. A correlation between the Wolf-Wilburn scale and atomic force microscopy for anti-scratch resistance determination. *Prog. Org. Coatings* **125**, 325–330 (2018).
 26. Domene-López, D., Sarabia-Riquelme, R., García-Quesada, J. C. & Martin-Gullon, I. Custom-Made Chemically Modified Graphene Oxide to Improve the Anti-Scratch Resistance of Urethane-Acrylate Transparent Coatings. *Coatings* **9**, 408 (2019).
 27. Kolluru, P. V. *et al.* AFM-based Dynamic Scanning Indentation (DSI) Method for Fast, High-resolution Spatial Mapping of Local Viscoelastic Properties in Soft Materials. *Macromolecules* **51**, 8964–8978 (2018).
 28. Medina Jaramillo, C., González Seligra, P., Goyanes, S., Bernal, C. & Famá, L. Biofilms based on cassava starch containing extract of *yerba mate* as antioxidant and plasticizer. *Starch - Stärke* **67**, 780–789 (2015).
 29. Domene-López, D., Delgado-Marín, J. J., Martin-Gullon, I., García-Quesada, J. C. & Montalbán, M. G. Comparative study on properties of starch films obtained from potato, corn and wheat using 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate as plasticizer. *Int. J. Biol. Macromol.* **135**, 845–854 (2019).
 30. Domene-López, D., García-Quesada, J. C., Martin-Gullon, I. & Montalbán, M. G. Influence of starch composition and molecular weight on physicochemical properties of biodegradable films. *Polymers (Basel)*. **11**, (2019).
 31. Sepe, M. *Dynamic Mechanical Analysis for Plastics Engineering*. (William Andrew, 1998).
 32. Serra Aguila, A. Propuesta de Nuevos Modelos Constitutivos para Caracterización Viscoelástica de Materiales Termoplásticos. (2013).
 33. Garcia, J. C. Introducción a la Reología. Tema 3: Viscoelasticidad. *Repos. Inst. la Univ. Alicant.* 33 (2008).