

## OBTENCIÓN DE BIOPELICULAS A PARTIR DE LA GLICERINA PRODUCTO DEL PROCESO DE TRANSESTERIFICACIÓN DE ACEITE DE PIÑÓN BLANCO (*Jatropha curcas* L.)

### Obtaining of biopelículas from the glycerin product of the process of transesterificación of oil of white pinion (*Jatropha curcas* L.)

Alan Moreno<sup>(1,2)</sup>, Richer Garay<sup>(1)</sup>, Jaime Guerrero<sup>(2)</sup>

(1) Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) – Estación Experimental “El Porvenir”, Unidad Postcosecha y Agroindustria; Carr. Fernando Belaunde Terry Km.13.5, Juan Guerra, San Martín - Perú.

(2) Universidad Nacional de San Martín, Facultad de Ingeniería Agroindustrial.

(email: jaguema)

#### RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la adición de glicerina a diversas concentraciones (15, 25 y 35 %) en las propiedades físicas y mecánicas en la formulación de las biopelículas de almidón de maíz y caseinato de sodio. En 100 ml de agua se adicionó diferentes proporciones de almidón de maíz y caseinato de sodio, con glicerina en concentraciones de: 15%, 25%, 35% p/p. Se utilizó glicerina con el propósito de mejorar las características físicas y mecánicas, pues permite estructuras más uniformes para su uso en la industria. Diseño completamente al azar (DCA) se utilizó para el análisis de varianza y para la comparación de medias se usó la prueba de Duncan al 95% de probabilidad. Las variables de respuesta evaluadas fueron: espesor, el color, la solubilidad y la resistencia a la ruptura. Con respecto a las pruebas físicas se observó que a medida que aumenta la glicerina hay un aumento en el espesor el cual fue determinado con un micrómetro DDR-6000 modelo Suhl, para determinar el color se utilizó colorímetro digital CR – 400. Para solubilidad en agua, se evaluó la disolución de las biopelículas, mostrando que la formulación de almidón y de glicerina es la mejor resistencia que ofrece a todas las concentraciones. En cuanto a la fuerza de ruptura, se realizó una prueba de punción usando un texturómetro modelo Stentar II 11009 STR, llegándose a determinar que a medida que disminuye la concentración de glicerina aumenta la resistencia a la rotura de un punto entre 7,93 N a 15% de glicerina más almidón y 9.61 N para 35% de glicerina con caseinato de sodio. Concluyendo que la formulación de almidón de maíz más glicerina resulto ser más uniforme en espesor.

Palabras clave: glicerina, biopelícula, almidon de maíz y caseinato de sodio.

#### ABSTRACT

The objective this work was to evaluate the effect the addition of glycerol at various concentrations on the physical and mechanical properties in the formulation of biofilms of corn starch and sodium caseinate. In 100 ml of distilled water were added different proportions of corn starch and sodium caseinate, with glycerine in concentrations of: 15%, 25%, 35% p/p. Was used for the purpose of improve the physical and mechanical characteristics, as it allows more uniform structures for use in industry. Completely randomized design was used for analysis of variance and to comparison of means was used Duncan test at 95% probability. Response variables evaluated were thickness, color, solubility and rupture strength. With regarding physical tests it was observed that as you increase glycerin there is an increase in thickness which was determined with a micrometer DDR-6000 model Suhl, to determine the color was utilized digital colorimeter CR – 400. To water solubility, was evaluated the dissolution of the biofilms, showing that the

formulation of starch and glycerine is best resistance offered at all concentrations. As for the breaking strength, there was a puncture test using a texturometer Stentar II model 11009 STR, getting itself to determine that, as it decreases concentration of glycerin increases the rupture strength to a peak between 7.93 N to 15% glycerine more starch and 9.61 N for 35% glycerol with sodium caseinate. Concluding that the formulation of more glycerin corn starch proved to be more uniform in thickness.

Keywords: glycerine, biofilm, corn starch and sodium caseinate.

## INTRODUCCION

El creciente interés en el desarrollo de productos alimenticios de alta calidad, con mayor vida útil y con un impacto ambiental reducido ha fomentado el estudio y desarrollo de films y revestimientos basados en biopolímeros, que son producidos principalmente a partir de recursos renovables, proteínas y almidones. Estos materiales son utilizados para distintas aplicaciones y se caracterizan por un consumo total de energía menor que sus homólogos petroquímicos y un menor efecto sobre el medio ambiente (Pojanavaraphan T, 2010).

Los plastificantes son sustancias de bajo peso molecular que al ser incorporadas dentro de la matriz polimérica (proteína o polisacárido) incrementan la flexibilidad y elasticidad de la película (Gontard et al., 1993). Con la introducción de materiales hidrofóbicos y plastificantes, se ha tratado de mejorar las propiedades mecánicas de películas a base de polisacáridos (Sothornvit y Krochta, 2001).

La región San Martín cuenta con un área instalada de cultivo de piñón blanco de 580 has en 9 provincias, con 268 beneficiarios, siendo la Empresa Verdal RSM Perú SAC con la mayor extensión del cultivo con 157.4 has instaladas y la provincia de Picota es la que cuenta con la mayor extensión en áreas; con 353.5 has, lo que va el mes de Mayo 2011 se han cosechado 5230 Kg de semillas (Proyecto Piñón – DRASAM 2011). Ante esta problemática, se ve necesaria la presente investigación, que estará enmarcada en la elaboración de sub-productos a partir de la glicerina obtenida a partir de la preparación del biodiesel a partir de este cultivo.

Por ello el trabajo de investigación tuvo por finalidad evaluar el efecto de la concentración de la glicerina después de la elaboración de biodiesel como plastificante para la elaboración de films a partir de almidón de maíz y proteína de leche a escala de laboratorio determinando la solubilidad de las películas de almidón y proteína de leche formuladas a diferentes condiciones, además de determinar la fuerza de ruptura de las películas de almidón y proteína de leche formuladas estableciendo la mejor composición de los biofilms como empaque para la utilización en la industria alimentaria.

## MATERIALES Y METODOS

### Lugar de Ejecución

El trabajo de investigación se llevó a cabo en la Estación Experimental Agraria “El Porvenir” y la parte de análisis se realizó en el Laboratorio Pos cosecha y Agroindustrias y de Suelos de la misma Institución. La Estación Experimental Agraria “El Porvenir” está localizada en el distrito de Juan Guerra, Provincia San Martín, Departamento de San Martín

### Muestra

La muestra fue la glicerina purificada obtenida del proceso de transesterificación de aceite crudo de *Jatropha curcas* L, de la planta piloto de biodiesel perteneciente a la Unidad de Postcosecha y Agroindustria en la Estación Experimental Agraria “El Porvenir” – INIA; Juan Guerra.

## Obtención de los biofilms

Se purificó la glicerina adicionando metanol al 50% del peso de glicerina a utilizar. Después de diluir la glicerina con metanol se realizó el proceso de neutralización tomando como punto de referencia el pH, cantidad de metanol y ácido sulfúrico. Posteriormente se realizaron operaciones de filtración con papel filtro y evaporación en rotavapor, a la glicerina ya purificada, la denominamos Glicerina Refinada (GR) y el cual fue caracterizado de acuerdo a la Norma Técnica Colombiana NTC 1274. Después de obtener la glicerina purificada (separando glicerina del metanol) y determinándose que la glicerina este al 90% de pureza; el cual es importante, se verifica su densidad, la cual no debe ser inferior a  $1.24910 = 90\%$  de pureza. El 10% no purificado estaría conformado por sales inorgánicas y residuos orgánicos (jabones, ácidos grasos, glicéridos etc.). Luego, se pesaron las cantidades necesarias a utilizar de almidón de maíz (AM) y de proteína de leche (PL), para después realizar la incorporación de agua destilada al proceso con la finalidad de humedecer y disolver tanto el AM y PL. Todo esto debe estar bien homogenizado. Enseguida se calentó a temperatura aproximadamente de  $60^{\circ}$  a  $70^{\circ}$  C, para ayudar a la formulación y disolución total que se hace en el homogenizado. Es después de esto que se adicionó la glicerina purificada con el fin de hacer más firme nuestro biofilms y lo utilizamos como plastificante. Se homogenizó nuevamente para formar disolución y hacerlo más manejable, en este paso se unen los tres componentes para formar el biofilms y calentando nuevamente se logra ayudar la unión de la concentración a temperatura de  $90^{\circ}$  por un tiempo aproximado de 30 minutos. Finalmente se moldeó utilizando placas Petri de vidrio de 15 cm y se secó a temperatura constante de  $25^{\circ}$  C. Las películas se almacenaron al medio ambiente con una humedad relativa (HR) de aproximadamente el 50% manteniéndolas a una temperatura constante de  $25^{\circ}$ C durante 96 horas. Se sacaron los biofilms con mucho cuidado de no dañarlos utilizando pinzas y se realizó el control de calidad respectivo.

Paralelamente se prepararon las soluciones de AM y de PL.

Para la preparación de las películas de AM, se preparó solución del mismo pesando 5 g de almidón en 95 g de agua destilada, homogenizando a una temperatura de  $70^{\circ}$  a  $80^{\circ}$  C para facilitar su solubilidad, el proceso dura aproximadamente 10 minutos. Tras la disolución total del polímero, se adicionó glicerina a diferentes concentraciones (15%, 25% y 35%), el proceso de mezcla dura un promedio de 30 minutos hasta punto de ebullición

Para la preparación de las películas de PL, se disolvieron 5 g de caseinato de sodio en 95 g de agua destilada y fue calentado hasta  $65^{\circ}$  C para facilitar su solubilidad. Tras la disolución total del polímero, se dejó enfriar la solución a temperatura ambiente. Para obtener las distintas formulaciones, se añadieron diferentes porcentajes de glicerina (15%, 25% y 35%).

Una vez preparadas las soluciones formadoras de las biopelículas, se colocaron 30 ml. de cada disolución en placas Petri de vidrio (15 cm de diámetro) posteriormente se secó en condiciones de temperatura y humedad relativa controlada ( $25^{\circ}$  C y 50 % HR) durante 48 horas. Utilizando el método de moldeo y deshidratación se obtendrá nuestro producto final (biofilms).

## Determinación de parámetros físicos y mecánicos

Se determinó el espesor utilizando un micrómetro modelo DDR – 6000 Suhl, donde las muestras de las películas fueron de 2 x 5 cm. Lo cual se tomó cinco mediciones en varios puntos de la película para calcular el promedio de cada muestra. Otro parámetro que se midió fue el color, y se realizó en un colorímetro Minolta (CR 400, Osaka, Japón), calibrado con un standard ( $Y=93.80$ ,  $x=0.3133$ ,  $y= 0.3193$ ), donde las muestras de las películas fueron de 2 x 5 cm. Se registraron las coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  de la escala CIE; en este sistema el parámetro  $a^*$ , representa la variación rojo-verde, tomando valores positivos para el primero y negativos para el segundo; el parámetro  $b^*$ , representa la variación amarillo-azul, siendo positivo para el primero y negativo para el segundo y el parámetro  $L^*$  de luminosidad varía entre 0, para el negro y 100 para

el blanco. También se midió la fuerza de ruptura mediante una prueba de punción usando un texturómetro modelo Stentar II 11009 STR, donde la fuerza de tensión o ruptura se aplicó a las muestras. Las muestras de las películas fueron de 2 x 5 cm. y se reportó la medición de 8 determinaciones y por último, se midió la solubilidad en agua, esta condición simula las condiciones de digestión gástrica, ya que las películas además de ser biodegradables son comestibles. Las muestras se pesaron (peso seco inicial) y se colocaron en vasos de precipitados que contenían 50 ml. de agua destilada. Las muestras fueron mantenidas con agitación constante a 200 rpm durante 24 horas a temperatura correspondiente (25 ° C y 100 ° C). Luego, fueron recuperadas por filtración y secadas en una estufa a 90°C hasta peso constante (peso seco final). El porcentaje total de materia soluble (% de solubilidad), fue calculado de la siguiente manera:

$$\% \text{ Solubilidad} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso inicial}} \times 100 \quad \text{Ec... (1)}$$

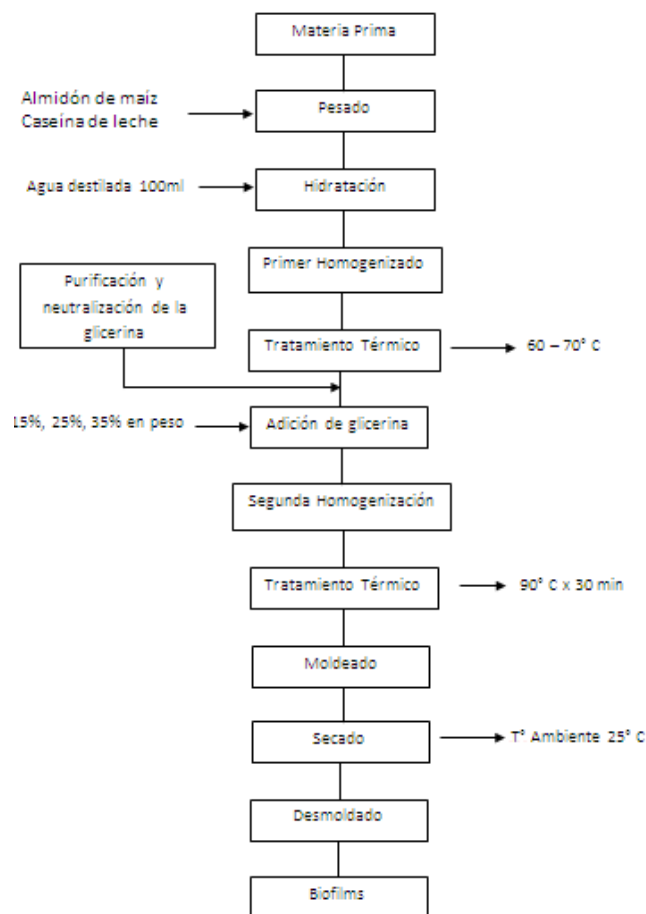


Fig. 1 Flujoograma del proceso

Adicionalmente, se determinaron parámetros sensoriales mediante la prueba hedónica, el cual estudia el nivel posible de aceptación y mide cuanto agrada o desagrade un producto. Para estas pruebas se utilizaron escalas categorizadas que pueden tener categorías que comúnmente van desde "me gusta muchísimo", pasando por "no me gusta ni me disgusta" hasta "me disgusta muchísimo". En el formato planteado se apreció, las diferentes concentraciones de biofilms debidamente codificadas y se evaluaron de acuerdo a una escala de puntuación (prueba hedónica), Aguilar 2005.

## Diseño Experimental

Para evaluar la influencia de la adición de glicerina, se realizó un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial (3x1), tres tipos de concentraciones de glicerina (15%, 25% y 35%) y una solución formadora de películas (AM) utilizando la relación mezcla de g. glicerina/ g. de almidón, en 3 relaciones (1:0.15); (1:0.25); (1:0.35) y PL utilizando la relación mezcla de g. glicerina/ g. de caseína de leche de vaca, en 3 relaciones (1:0.15); (1:0.25); (1:0.35). Se realizaron análisis de varianza al 95% de confianza para determinar si existe diferencia significativa entre los tratamientos con la ayuda del programa SAS.

## RESULTADOS Y DISCUSION

En la medición de los parámetros físicos y mecánicos de los biofilms se observó según el ANVA; que hay diferencia altamente significativa entre los tratamientos al medir la solubilidad, siendo la solubilidad del tratamiento 4 (15% glicerina + PL) el que presento mayor porcentaje de solubilidad (14.75 %) en contraste con el tratamiento 1 (15% glicerina + AM) que presento menos porcentaje (3.75 %). La solubilidad de las biofilms en agua es una propiedad muy importante ya que condiciona la aplicación de las mismas, además es sabido que los biofilms tienen mínima disolución en agua debido a que el AM al igual que el caseinato de sodio es un compuesto altamente hidrofóbico, y solamente se disuelve en agua a pH de 11.3 a 12.7.

Un factor que beneficia a los biofilms es la aplicación de agentes plastificantes como es el caso de la glicerina. Esto se debe a que forma una biopelículas (biofilms) de superficie lisa y homogénea, brindando una flexibilidad aceptable para asegurar la posibilidad de utilización y que no se desintegra rápidamente en condiciones intensas de humedad, Shen et al, 2010 y Piermaría y col. 2009. De acuerdo a estudios realizados, a medida que se aumenta la concentración de glicerina, también aumenta la solubilidad, la disolución de las películas antes del consumo del producto puede resultar útil, como en el caso de la encapsulación de alimentos o aditivos (Bertuzzi y Col, 2007).

Sin embargo en algunos casos, se requiere que las mismas sean insolubles en agua para mejorar la integridad del producto y la resistencia a la humedad.

Al medir el color estadísticamente; según el ANVA, verificamos que no existe diferencia significativa entre los tratamientos. Sin embargo, para las películas de 15%, 25% y 35% el valor "L" va decreciendo poco a poco, tomándose como el mejor valor de "L" y por ende el mejor color (transparente) el tratamiento 1, y lo siguen los tratamientos 2 y 3 (ligeramente ámbar), mientras que para el caseinato de sodio tuvo el mejor valor de "L" el tratamiento 5 (transparente) y lo siguen los tratamientos 6 y 4 (ligeramente ámbar), estos resultados concuerdan con los de Pereda et, al., 2010 quien obtuvo películas transparentes con ligera coloración a ámbar. Según Miguel A. Michaca (2004) los datos relacionados con el color de las películas de almidón de maíz conforme se incrementa la glicerina aumenta la intensidad del color siendo este un factor favorable para efectos ópticos de las películas, para fines de recubrimiento de productos de origen muscular para la industria alimentaria.

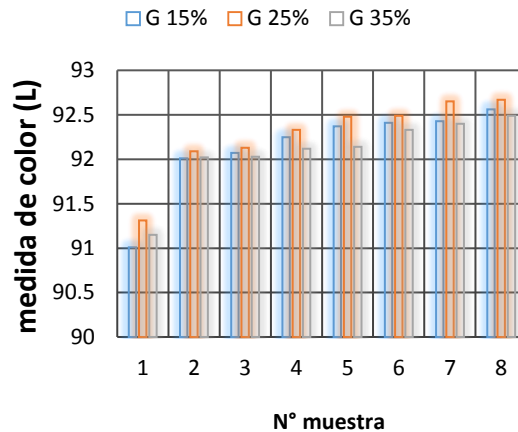


Fig. 1. Medida del color (L) a distintos porcentajes de glicerina con almidón de maíz.

En cuanto al espesor de los biofilms se verifico que con el procedimiento seguido existe diferencia altamente significativa entre los tratamientos planteados, arrojando el biofilm de mayor espesor (0.079 mm) el tratamiento 3 (35 % glicerina+ AM) y arrojando el biofilm de menor espesor (0.053 mm) el tratamiento 4 (15 % glicerina + PL), lo que sugiere que para este parámetro mientras mayor sea el porcentaje de glicerina en la solución, mayor será el espesor del biofilm elaborado debido a que la glicerina es un 1, 2, 3-propanotriol y sirve para unir cadenas y que además por su estructura nos permite obtener estructuras más uniformes. Esto se corrobora con Michaca (2004) quien reporto en sus resultados un incremento en el espesor de 0,2 a 0,3 mm. López Hernández (2010) comentó que las películas elaboradas por el método de vertido y secado en placas de vidrio, presentaron los menores espesores (0,1163±0,009 mm). Sin embargo Zhang y Han (2006) aseguran que la variación del espesor varía según el peso molecular del plastificante incorporado.

En tanto que para la resistencia a la ruptura, con el análisis estadístico se verifico que también existe diferencia significativa entre los tratamientos, siendo los tratamientos 6 (35 % glicerina + PL) y 5 (25 % glicerina + PL) quienes mostraron mayor resistencia a la ruptura (7.66 y 7.42 N respectivamente) comparándose con el tratamiento 1 (15 % glicerina + AM) quien mostró menor resistencia (5.08 N). Respecto a los tratamientos con AM se verifico que conforme se incrementa la concentración de glicerina la fuerza de tensión disminuye sin embargo para los tratamientos con PL sucede lo contrario, cuando va aumentado la concentración de glicerina la fuerza va aumentando, la adición de más glicerina después de este punto provoca la saturación de los grupos polares, así como la desnaturalización de las mismas a partir de este punto. Mientras que Gontard et al. (1993), Yang y Paulson (2000) y Tapia-Blácido et al. (2005) afirman que el incremento en los valores de deformación de las películas se debe a los aumentos en las concentraciones de glicerina. El aumento en la capacidad de deformación de la película, antes de su ruptura, con incrementos en la concentración del plastificante puede explicarse ya que al disminuir las interacciones intermoleculares se favorece la movilidad de las macromoléculas. Además el incremento en la concentración del plastificante eleva el contenido de humedad de la película, a causa de su gran higroscopicidad, lo cual también contribuye a la reducción de fuerzas entre macromoléculas adyacentes.

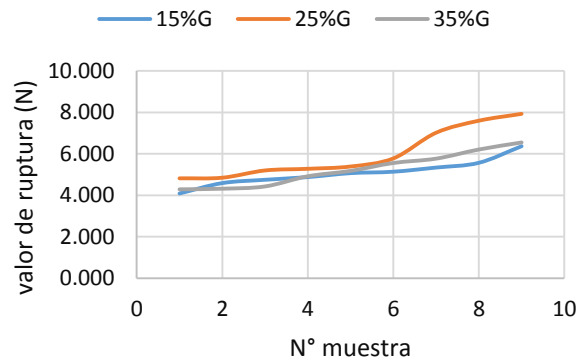


Fig. 2. Fuerza de ruptura a distintos porcentajes de glicerina con almidón de maíz

## CONCLUSIONES

Se logró desarrollar biofilms a partir de AM y PL a escala de laboratorio por el método de moldeo y deshidratación, permitiéndonos conocer al mismo tiempo algunas características físicas y mecánicas como la solubilidad, espesor, color y la fuerza de ruptura con mira a su aplicación en la industria alimentaria, siendo estos resultados 3.75 y 7.5 % para solubilidad y para fuerza de ruptura 5.08 y 7.66 N los más aceptables tanto con AM y PL respectivamente.

Así mismo se estableció la mejor composición de los biofilms como empaque para la utilización en la industria alimentaria, siendo esta composición de 15% glicerina para AM y 25% glicerina para PL

Al aumentar las concentraciones de glicerina en cualquiera de las mezclas, aumentaba el espesor del biofilm, lográndose un producto de estructura compacta y optima composición.

Todos los compuestos utilizados en las formulaciones son de origen natural y apto para el consumo. Son altamente biodegradables y por tanto representan una alternativa prometedora y medioambientalmente sostenible a las películas sintéticas que hoy en día se utilizan.

## RECOMENDACIONES

Emplear otros métodos de evaluación y optimizar las soluciones para obtener mejores resultados en aspectos como ruptura y solubilidad en agua.

Estudiar otro método de purificación de la glicerina para llegar a un grado óptimo en la cual garantiza la calidad del producto final.

Desarrollar nuevas investigaciones utilizando almidones de otras especies vegetales.



## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aguilar, M. (2005). Propiedades Físicas y Mecánicas de Películas Biodegradables y su Empleo en el Recubrimiento de Frutos de Aguacate. Tesis de maestría. México D.F. Instituto Politécnico Nacional
- Bertuzzi, M.A.; Castro Vidaurre, E.F.; Armada, M. y Gottifredi, J.C. (2007). Water vapor permeability of edible starch based films. *Journal of Food Engineering*, 80(3), 972-978.
- Gontard, N., Guilbert, S. and Cuq, J. L. (1993). Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. *Journal of Food Science* 58 (1), 206-211.
- López-Hernández, L. H. (2010). Efecto de la incorporación de extracto de tamarindo (*Tamarindus indica*) con actividad antioxidante en la elaboración y funcionalidad de películas biodegradables proteíno-almidón.
- Michaca, M. A. (2004). Efecto de la Adición de Glicerol como Agente Plastificante en las Propiedades Fisicoquímicas de las Películas de Zeína.
- Ministerio de Agricultura (2011). "Proyecto piñón - DRASAM". Oficina de Información Agraria.
- Pereda M, Aranguren MI, Marcovich NE. Caseinate films modified with tungoil. *Food Hydrocolloids* 2010; 24: 800-808.
- Piermaria, J.; Pinotti, A.; García, M.A. y Abraham, A.G. (2009). Films based on kefir, an exopolysaccharide obtained from kefir grains. Development and characterization. *Food Hydrocolloids*, 23, 684-690.
- Pojanavaraphan T, Magaraphan R, Chiou B-S (2010), Schiraldi DA. Development of Biodegradable Foaml like Materials Based on Casein and Sodium Montmorillonite Clay. *Biomacromolecules*; 11: 2640–2646.
- Shen, X.L.; Wu, J.M.; Chen, Y. y Zhao, G. (2010). Antimicrobial and physical properties of sweet potato starch films incorporated with potassium sorbate or chitosan. *Food Hydrocolloids*, 24(4), 285-290.
- Sothornvit, R. and Krochta, J. M. (2001). Plasticizer effect on mechanical properties of  $\beta$ -lactoglobulin films. *Journal of food engineering*, 50, 149-155.
- Tapia-Blácido, D., Sobral, P. J. and Menegalli, F. C. (2005). Development and Characterization of biofilms based on amaranth flour (*Amaranthus caudatus*). *Journal of Food Engineering*, 67, 215-223.
- Yang, L. and Paulson, A. T. (2000). Mechanical and water vapour barrier properties of edible gellan films. *Food Research International*, 33, 563-570.
- Zhang, Y. y Han, J. (2006). Mechanical and thermal characteristics of pea starch films plasticized with monosaccharides and polyols. *Journal of Food Science*, 71, 109-118.