



MI EXPERIENCIA TECNOACADEMIA DESARROLLO DE BIOPOLÍMERO BIODEGRADABLE PARA EMPAQUES INTELIGENTES



Juan David Beltrán Piza¹, Carlos Hernando Niño²

Resumen

Dentro del programa Tecnoacademia Nodo-Cazucá los aprendices vinculados a los semilleros de investigación Bioprocesos y Biotecnología aplicada (BIBA) han desarrollado una primera aproximación al desarrollo un indicador de tiempo y temperatura (ITT) para empaques inteligentes, fácil de leer para el consumidor, biodegradable, de bajo costo y que se puede fabricar a partir de subproductos agroindustriales.

Para ello se fabricó un polímero biodegradable hecho a base del almidón de maíz y se sensibilizó con extracto de antocianinas de mora de castilla (*Rubus Glaucus*). En el presente artículo se observa la estandarización para la síntesis de este material y la determinación de la sensibilidad del mismo con valores de hasta 1: 100 con respecto al vapor de un amoniacal (hidróxido de amonio) del 25% v/v. Estos resultados representan desarrollo de un material capaz de detectar compuestos aminados, siendo un prometedor ITT para el control de la calidad de cárnicos dado su posible rol en la detección de aminas producidas por la descomposición de este alimento. El desarrollo de este tipo de ITT representa una herramienta con capacidad de informar al consumidor en tiempo real sobre la calidad del producto, siendo segura para su empleo en la industria alimentaria (dada la inocuidad de sus constituyentes) y, además, amigable con el medio ambiente.

Palabras clave: Biopolímero, Antocianinas, Amoniaco, Escala de pH, Empaque Inteligente, Aminas, Subproducto Agroindustrial.

¹ Estudiante Bachillerato, Tecnoacademia Nodo-cazuca, Aprendiz Semillero BIBA, beltranpiza4@gmail.com

² Msc.Ciencias-Bioquímica, Tecnoacademia Nodo-cazuca, Facilitador Nanotecnología, chnino@unal.edu.co



Introducción

En Colombia todas las personas poseen alimentos comestibles en sus hogares, ya sean vegetales, cárnicos o lácteos. Pero el único modo de conocer su condición y su calidad es su fecha de vencimiento, la cual no nos dicen nada sobre su modo de conservación o de posibles fallas en el mantenimiento de la temperatura representen un peligro para la salud del consumidor. Los indicadores de temperatura y tiempo (ITT) hacen parte de los empaques inteligentes: estos son dispositivos simples, efectivos y fáciles de usar para monitorear, grabar e indicar de manera acumulativa la influencia general de la temperatura y conservación de las cadenas de frío en la calidad del producto, desde la fabricación hasta el consumidor final (Pereira, de Arruda, & Stefani, 2015). Por otra parte, una gran porción de la contaminación del medioambiental proviene de plásticos derivados del petróleo. Estos generan desechos tóxicos y no-degradables que afectan directamente a plantas, animales y seres humanos (Sen, Maan, & Pandel, 2017). En contraste los bioplásticos pueden desempeñar un papel prometedor frente a este problema ya que pueden reemplazar muchos nichos económicos e industriales donde actualmente se utilizan polímeros a base de petróleo (Sen et al., 2017).

La Tecnoacademia Nodo-Cazucá, parte de la Línea SENNOVA del SENA se plantea como un escenario de aprendizaje, dotado de tecnologías emergentes para desarrollar competencias orientadas a la innovación mediante la formación por proyectos en comunidades vulnerables. Su población objetivo son los estudiantes de la educación básica y media constituyéndose como un complemento de su educación formal (Tecnoacademias, 2017) Dentro de este programa los aprendices vinculados a los semilleros de investigación Bioprocesos y Biotecnología aplicada (BIBA) han desarrollado una primera aproximación al desarrollo un ITT para empaques inteligentes, fácil de leer para el consumidor, biodegradable, de bajo costo y que se puede fabricar a partir de subproductos agroindustriales.

Para ello se utilizó como problema modelo la carne, un alimento consumido comúnmente en los hogares y que, si se no se controla la temperatura, entrara en un estado de putrefacción, produciendo diferentes tipos de aminas volátiles (Pereira et al., 2015). Para poder detectar este proceso se fabricó un polímero biodegradable hecho a base del almidón de maíz y se sensibilizó con extracto de antocianinas de mora de castilla (*Rubus Glaucus*). Posteriormente el material se sometió a prueba en un montaje especial a fin de evaluar su capacidad de detección de vapores de hidróxido de amonio sin tener que entrar en contacto con el producto en sí. Este ensayo permite evaluar la posibilidad del que el material detecte compuestos similares las aminas y así conocer el estado de la carne mediante un cambio la coloración del empaque.

El desarrollo de este material representa una herramienta con capacidad de informar al consumidor en tiempo real sobre la calidad del producto, segura para el empleo en la industria alimentaria (dada la inocuidad de sus constituyentes) y, además, amigable con el medio ambiente.



Metodología

Extracción de antocianinas de mora.

Para la obtención de antocianinas de mora se realizó el protocolo de extracción planteado por Pereira Jr. y colaboradores (Pereira et al., 2015) con modificaciones. Inicialmente se tomaron bayas frescas de mora de castilla previamente lavadas con agua destilada, y congelaron a 20°C bajo cero. Posteriormente, 56.25 gramos de muestra se maceraron manualmente por mortero junto con 30mL de etanol al 70% (V/V) entre 5 y 10 min. A continuación, el macerado se filtró con papel Whatman y luego se centrifugó por 10 min a 12000 rpm. Consecuentemente se tituló el sobrenadante a pH 2 con HCL 1M. Este luego fue retirado y almacenado en envase ámbar a 4°C para su caracterización.

Caracterización óptica de fracciones extraídas de mora.

La caracterización de los extractos de mora se realizó por espectrometría UV-VIS mediante el equipo SPECTRO-UV11/V12/UV12 (MRC®) mediante la metodología planteada por Giusti y colaboradores (Giusti & Wrolstad, 2001). Con diluciones 1:100 de la antocianina en agua destilada y utilizándola misma como blanco, se realizaron mediciones de la absorbancia de los extractos en barridos desde los 300nm hasta los 600nm, junto con una medición extra a los 700nm para la corrección de sobreestimaciones de la absorbancia por nubosidad del extracto. De aquí se obtuvo la longitud de onda donde se presenta mayor absorbancia (510 nm).

Determinación de la concentración de antocianina en extracto.

Para la cuantificación de la concentración de antocianina en el extracto se utilizó el método de Fuleki y Francis de 1968 (Fuleki & Francis, 1968). Inicialmente se realizaron diluciones de la antocianina 1:100 en dos soluciones buffer: una de Cloruro de potasio (0.025M pH 1.0 HCl) y otra de Acetato de Sodio (0.4M pH 4.5 HCl). Utilizando la respectiva solución buffer pura como blanco, se realizaron mediciones de absorbancia a ambos pH para 510 nm y 700 nm (para posteriores correcciones por nubosidad). Con dichas mediciones se calculó la concentración de antocianina obtenida asumiendo una concentración predominante de Cyanidina-3-Rutinósido (Cy-3-Rut) (Garzón, Riedl, & Schwartz, 2009; Olaya, Castaño, & Garzón, 2009) tomando así su coeficiente de extinción molar (ϵ) para calcularlos mediante las siguientes fórmulas (Giusti & Wrolstad, 2001):

Fórmula 1:

$$A_{\text{Final}} = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH 1.0}} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH 4.5}}$$

Fórmula 2:

$$\text{Conc. [mg/ml]} = \frac{[(A)_{\text{Final}} * \text{MW} * \text{DF} * 1000]}{(\epsilon * 1)}$$

Donde A_{510} es la absorbancia a 510 nm A_{700} es la absorbancia a 700 nm MW es el peso molecular y DF es el Factor de Dilución.



Síntesis y sensibilización del biopolímero de almidón de maíz:

Para la síntesis del polímero de almidón, inicialmente se pesaron 8 gramos de almidón de maíz y 2 gramos de cloruro de sodio (NaCl) que posteriormente se mezclaron con 4ml de glicerina y 100 ml de agua destilada en un baño maría en agitación constante a 80° C, hasta que la mezcla presentara una consistencia gelatinosa. En seguida se agregó la mezcla en moldes de poliestireno y se llevó a 50°C durante 24 horas para su deshidratación. Para la sensibilización del polímero trozos de biopolímero (20 x 30 mm) y se sumergieron en extracto de antocianina cuantificada durante 20 min, en completa oscuridad.

Fabricación del montaje para ensayos de sensibilidad:

Para determinar el funcionamiento del material se buscó desarrollar un ensayo que permitiese al biopolímero entrar en contacto con el vapor del amoniacal sin entrar en contacto directo con su forma líquida. Para comenzar se tomaron las botellas y se arreglaron de acuerdo con el montaje de la Figura 1. Para ello se le realizaron inicialmente dos orificios rectangulares de 20x30 mm que quedaron uno enfrente del otro en la parte superior de la botella. Luego se le abrió un orificio circular de 30 mm en la parte inferior, donde se pegó un corcho de caucho y se selló con silicona. Posteriormente se insertó la aguja hipodérmica en la mitad del corcho (Fig.1). Se fabricaron tantos montajes como diluciones seriadas a utilizar en la prueba. Luego se pegaron los pedazos de biopolímero anteriormente sensibilizado con cinta transparente gruesa en los agujeros de la parte superior de las botellas de la Figura 1; y se comprobó que hubiese quedado sellado herméticamente.

Ensayos de sensibilidad:

Se realizaron las siguientes diluciones seriadas con el amoniacal 25%: 25%(Puro), 1:10 (0.25%), 1:100(0.025%), 1:1000(0.0025%) y 1:10000 (0.00025%). Luego Se tomó 1ml de cada dilución con la jeringa y se enrosco en su respectivo montaje de la Figura 1. Posteriormente se inyectó en la base de la botella el volumen mencionado al mismo tiempo. A continuación, se tomaron observaciones del cambio de coloración del biopolímero sensibilizado durante 15min en un cuarto cerrado a una temperatura de 27°C. Esto con el fin de identificar la mínima concentración en la cual los vapores del amoniacal causan un cambio observable en el material.

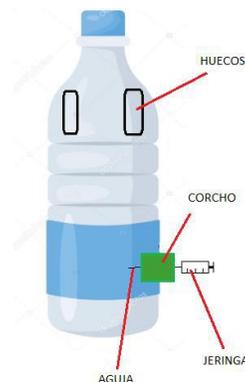


Figura 1. Montaje para determinación de sensibilidad del material



Resultados

Fabricación del polímero:

Para fabricar el polímero, usamos como molde platos de plástico, pero se observó que al momento de cumplir su tiempo el horno y tratar de despegarlo, este se agrieto y se quebró, entonces se optó por buscar otro molde en el que el biopolímero se pudiera despegar fácil y no le ocurriera nada, se usaron platos de poliestireno ya que la textura de estos es lisa y el biopolímero quedaba en buenas condiciones para realizar los experimentos.

El biopolímero resultante tenía una textura lisa por un lado y con cierto grado de porosidad por el otro lado, presentaba una tonalidad de color gris y era flexible.

Para la estandarización final se obtuvieron los siguientes datos: Porcentaje peso a volumen de almidón (7.69%), porcentaje peso a volumen del cloruro de sodio (NaCl) (1.92%), porcentaje volumen a volumen de la glicerina (3.85%), molaridad de la sal (0.3290M) y molaridad de la glicerina (0.519M).



Figura 2. Estandarización de síntesis de película de polímero de maíz. Izquierda: primer intento. Derecha: intento final.

Extracción, caracterización, y determinación de la concentración de las antocianinas:

Durante la extracción se observó que las antocianinas tuvieron una concentración final de 1351,954, un pH de 2,0 y una tonalidad de color rosado.



Figura 3. Extracto de la antocianina de la mora de castilla



Montaje para ensayos de sensibilidad:

Para realizar este experimento no se contaba con los implementos necesarios para realizar las mediciones de sensibilidad del parche de biopolímero, entonces se decidió en fabricar un montaje en el cual se facilitará realizar dichas mediciones. La idea era que el parche no entrara en contacto directo con la dilución amoniacal, sino que absorbiera los vapores desde una distancia alejada. Para esto se optó por fabricar los montajes con botellas de plástico, se pensaron varios diseños, como por ejemplo el de colocar el parche en la parte superior donde se encuentra la tapa o colgando con una cuerda, pero se decidió en realizarle agujeros en los laterales de la botella para poder pegar los parches de biopolímero. Posteriormente se pensó como se iba a introducir la dilución amoniacal dentro de la botella, concluimos que lo mejor era con agujas, porque al agregarlo por el agujero superior de la tapa, entraría en contacto con el parche y no serviría.

Determinación de la sensibilidad del parche detector:

Para poder determinar la sensibilidad del parche de biopolímero, se realizó un montaje especial (Figura 1.) durante 15 minutos. A los 50 segundos se identificó un cambio en la coloración del montaje con el amonio puro. a los 2 minutos el montaje con amonio puro cambio totalmente su coloración. A los 3 minutos se detectó un cambio leve en la coloración del montaje con dilución 1:10. A los 7 minutos el montaje con dilución 1:10 aumento levemente su cambio de coloración, y el montaje 1:100 empezó a cambiar levemente su coloración. A los 10 minutos los montajes con 1:10 y 1:100 aumentaron su cambio de coloración. Finalmente, a los 15 minutos el montaje con dilución pura tuvo una tonalidad de color café, 1:10 tuvo tonalidad de color negro y 1:100 tuvo una tonalidad gris. Entonces se concluyó que la mínima concentración que pudo detectar el parche en un tiempo 15 minutos fue de 1:100, esto se comprobó mediante el cambio de coloración.

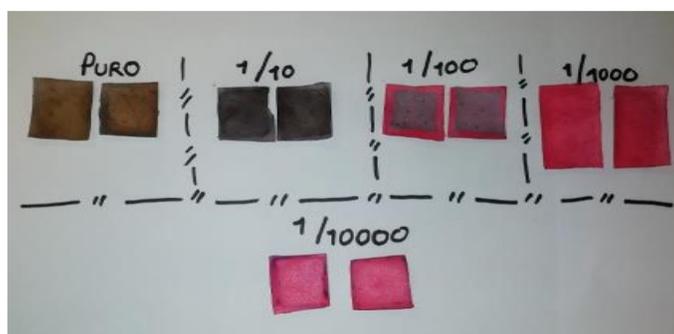


Figura 4. Detección de vapor de hidróxido de amonio para polímero sensibilizado en diluciones seriadas. El tratamiento “puro” Corresponde a amoniacal al 25% v/v.



Conclusiones

Se desarrolló un material prometedor como indicador de tiempo y temperatura (ITT) que además consta de componentes inocuos para el consumo y la manipulación de alimentos, es capaz de detectar una señal inequívoca de la descomposición de la carne y es amigable con el medio ambiente.

El uso de polímero de almidón fue considerado dada su bio-degradabilidad y por poder ser sintetizado a partir de materias primas encontradas como subproductos de la agroindustria (Pereira et al., 2015; Sen et al., 2017); además haber sido utilizado con éxito en el desarrollo de otros ITT (Pereira et al., 2015).

El uso de antocianinas como colorante para la sensibilización se corresponde con sus propiedades y su conocido uso como indicador de pH (Pereira et al., 2015); pues siendo los compuestos aminados de un carácter básico y el extracto de mora normalmente ácido llevaría producir un cambio en su coloración como signo de detección del compuesto aminado.

Este material representa un potencial ITT capaz de detectar un cambio en el producto, sin tener que interactuar directamente con el mismo, puesto que su sensibilidad se corresponde con un ensayo en donde el modo de exposición del material al analito en cuestión es mediante los vapores emitidos por el mismo, tal y como sucedería en un proceso de malogramiento de un cárnico y producto similar.

Es necesario realizar ensayos donde se enfrente el material a procesos de descomposición real en productos cárnicos.

El presente estudio presenta una alternativa amigable con el medio ambiente que permita la implementación de empaques inteligentes para el manejo y distribución de alimentos en el mercado colombiano.



Referencias

- Pereira, V. A., de Arruda, I. N. Q., & Stefani, R. (2015). Active chitosan/PVA films with anthocyanins from Brassica oleraceae (Red Cabbage) as Time-Temperature Indicators for application in intelligent food packaging. *Food Hydrocolloids*, 43, 180–188. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.05.014>
- Sen, R., Maan, A., & Pandel, U. (2017). Synthesis and Testing of Corn Starch Based Biodegradable Plastic and Composite. In 8th International Science, Social Science. Engineering and Energy Conference (pp. 316–319). Pattaya Beach, Thailand: I-SEEC 2017. Retrieved from <http://iseec2017.pnru.ac.th>
- Tecnoacademias, L. (2017, November 7). Tecnoacademia. Servicio Nacional de Aprendizaje. Servicio Nacional de Aprendizaje, pp. 3–5. Retrieved from <http://www.sena.edu.co/es-co/formacion/Paginas/tecnoacademia.aspx>