

## **DESARROLLO DE RECIPIENTES ACTIVOS Y BIODEGRADABLES PARA CULTIVOS AGRÍCOLAS**

### **DEVELOPMENT OF ACTIVE AND BIODEGRADABLES CONTAINERS FOR AGRICULTURAL CROPS**

**Franco Poggio<sup>1</sup>, Emiliano Ciannamea<sup>1,2</sup>, Luciana Castillo<sup>1</sup>, Silvia Barbosa<sup>1</sup>**

(1) PLAPIQUI (UNS-CONICET), Cno. La Carrindanga Km.7, Bahía Blanca, Buenos Aires - Argentina

(2) INTEMA (UNMDP-CONICET), Av. J.B. Justo 4302, Mar del Plata, Buenos Aires - Argentina  
(e-mail: francopoggio@hotmail.com.ar)

*Recibido: 29/12/2015 - Evaluado: 08/02/2016 - Aceptado: 09/03/2016*

#### **RESUMEN**

En este trabajo, se propone el desarrollo de recipientes biodegradables para cultivos que puedan ser trasplantados directamente y actuar como fertilizantes. Se eligió gelatina bovina como material base, que se procesó en una mini mezcladora-inyectora junto con una solución concentrada de urea que actuó como plastificante. Se realizaron estudios reológicos y de tracción para evaluar la inyección de las mezclas y las prestaciones mecánicas relacionadas con la aplicación propuesta. Considerando que estos materiales biodegradables tienen baja resistencia al agua, se propuso incrementar la estabilidad de los recipientes mediante recubrimiento superficial. Asimismo, se estudió y analizó su influencia en el contenido de humedad, materia soluble e hinchamiento en agua destilada. Se observó que las muestras recubiertas fueron significativamente más estables en agua que las muestras control, lo que evidencia la buena calidad y homogeneidad del recubrimiento, que avala la factibilidad del sistema seleccionado y su potencial desarrollo de contenedores biodegradables.

#### **ABSTRACT**

In this paper, the development of biodegradable containers for crops that could be transplanted directly and act as fertilizers is proposed. Bovine gelatin was chosen as the base material, which was processed in a mini-injector mixer with a concentrated urea solution acted as a plasticizer. Rheological and tensile tests were performed in order to evaluate the injection of gelatin based formulations and mechanical properties related to the proposed application. Taking into account that biodegradable materials have a low water resistance, the increment of container stability was proposed using a surface coating. In addition, the influence of moisture content, the soluble matter and swelling were studied and analyzed. It was observed that coated samples were significantly more stable than the control ones, which guarantees the feasibility of the selected system and its potential development of biodegradable containers.

Palabras clave: gelatina, fertilizantes, urea, inyección

Keywords: gelatin, fertilizers, urea, injection

## INTRODUCCIÓN

La estabilidad química que hace de los plásticos sintéticos materiales ideales para muchas aplicaciones, genera serios daños ambientales cuando son desechados, ya que no son biodegradables (Vroman & Tighzert, 2009). Esta problemática ha provocado el interés en desarrollar alternativas a partir de polímeros que al momento de ser eliminados se descompongan en un período de tiempo corto por acción de agentes biológicos bajo condiciones ambientales, es decir que se biodegraden (Helgeson, 2009).

Sin embargo, pocos avances se han registrado en la aplicación de estos materiales en contenedores agrícolas (Evans *et al.*, 2010). En esta actividad el polietileno se ha establecido como material predominante desde 1980 ya que permite confeccionar recipientes resistentes en gran cantidad de tamaños, formas y colores a precios relativamente bajos (Nambuthiri *et al.*, 2015). Actualmente existen diversas alternativas para reducir la cantidad de residuos plásticos generados. Una de ellas consiste fabricar estos recipientes para cultivos a partir de polietileno reciclado proveniente de botellas de bebidas u otros envases, razón por la cual reciben el nombre de recipientes reciclados (Nambuthiri *et al.*, 2015). Una segunda alternativa la constituyen aquellos recipientes compostables, los cuales no se degradan completamente en tierra, sino que requieren de condiciones especiales de temperatura, son los denominados bioplásticos (Nambuthiri *et al.*, 2015).

Surgen entonces como opción más apropiada los recipientes plantables diseñados para que las raíces de las plantas crezcan a través de sus paredes y se descompongan una vez enterrados. En este sentido, se facilitaría el trasplante dado que el contenedor no debería ser retirado, al mismo tiempo que podría actuar como medio para liberar fertilizantes, contribuyendo a aumentar el nivel de nutrientes en el suelo que rodea a la planta (Evans *et al.*, 2010; Nambuthiri *et al.*, 2015). Se solucionan de esta manera tanto el problema ecológico causado por el excedente de envases plásticos como los problemas generados por el excesivo e inadecuado uso de fertilizantes (Calabria *et al.*, 2012).

Las proteínas, tanto de origen animal como vegetal, que son productos secundarios de la industria alimenticia o agrícola, surgen como una alternativa de bajo costo y de alta disponibilidad (Sahoo *et al.*, 2011). La gelatina (Ge), además de las ventajas económicas mencionadas anteriormente, puede ser procesada a gran escala utilizando el mismo equipamiento que para los polímeros termoplásticos, posicionándose como una fuente preferencial para el desarrollo de diversos materiales (Martucci & Ruseckaite, 2009; Martucci & Ruseckaite, 2010; Martucci *et al.*, 2012). Por otra parte, su inherente biodegradabilidad la convierte en un material muy atractivo para el desarrollo de macetas, ya que no sólo permitiría que puedan ser trasplantadas a la tierra directamente, sino que también podría ser aprovechada para fertilizar el suelo por su propia biodegradación y/o por la combinación con fertilizantes en su formulación, confiriéndole una capacidad adicional que le permita competir económicamente en el mercado (Chiellini *et al.*, 2001).

El objetivo principal de este trabajo es desarrollar contenedores biodegradables basados en gelatina (Ge) y urea de modo tal que actúen como fertilizantes al biodegradarse. Se estudian y analizan las condiciones de procesamiento dado que estos contenedores se fabricarán por inyección y deberán ser estables en condiciones previas al trasplante así como también deberán degradarse una vez llevados al suelo para liberar los nutrientes de manera regulada. Por otra parte, se estudian sistemas que mejoren la estabilidad en ambientes húmedos (condiciones de invernadero) de los materiales desarrollados a base de gelatina.

## METODOLOGÍA

Se empleó gelatina bovina 150 H (Ge, punto isoeléctrico  $I_p$ : 5,1) provista por Rousselot (Buenos Aires, Argentina). La solución de urea 8 M (U) se obtuvo empleando urea granulada provista por Profertil S.A. (Bahía Blanca, Argentina) y se utilizó como recubrimiento cera de abeja (CA) de origen comercial sin colorantes.

### Preparación de las muestras

Las muestras fueron elaboradas a partir de 5 g de Ge y 30%, 40% y 50% p/p de solución de urea 8 M en base seca de Ge. A fines comparativos y con el objetivo de comprender el efecto de la urea sobre la Ge se prepararon muestras control a partir de Ge con 40% p/p de agua destilada.

Los componentes de cada muestra se mezclaron manualmente durante 15 min a temperatura ambiente para luego procesarla en una mezcladora-inyectora (Atlas-Laboratory MiniMixer/Minimolder, USA) a 60°C y 100 rpm durante 20 min. Finalmente se inyectó la mezcla y se emplearon distintos moldes dependiendo del ensayo al cual iba a ser sometida posteriormente la muestra. En tal sentido, se usaron un molde de acero inoxidable rectangular (75 mm x 12 mm x 3 mm) o circular (diámetro = 25 mm, espesor = 3 mm). Una vez inyectada la mezcla, se dejó enfriar el molde a temperatura ambiente y se retiró la muestra. Para preservar y evitar el envejecimiento, la muestra se colocó en una bolsa sellada de polietileno y se conservó en heladera a 4°C ± 1°C hasta el momento de ser utilizada.

### Acondicionamiento de las muestras

Las muestras se acondicionaron a 60% de humedad relativa y 25°C, utilizando un contenedor con solución de glicerol-agua preparada según lo descrito en la norma ASTM D5032-97.

### Recubrimiento

Las mezclas de Ge-U inyectadas se recubrieron con CA por inmersión. Las muestras acondicionadas (48 hs, 60% HR, 25°C) fueron sumergidas en CA durante diez segundos a distintas temperaturas (70-80°C).

### Estudio reológico

Se llevaron a cabo estudios reológicos en un reómetro rotacional ARG2 TA Instruments con geometría de platos paralelos (diámetro = 2,5 cm). Se trabajó en el rango de viscoelasticidad lineal y se realizaron barridos en frecuencia con un rango de 0,01-100 Hz a 60°C y una deformación del 0,05%. Se empleó una delgada capa de polidimetilsiloxano (PDMS, Petrarch Systems Inc.) de aproximadamente 1 mm de espesor sobre el borde expuesto de la muestra para evitar la evaporación durante la determinación, debido a que en experiencias previas se había observado la influencia de este fenómeno (Ciannamea *et al.*, 2014).

### Propiedades mecánicas

Se determinó el módulo elástico de las mezclas sin recubrir a partir de ensayos de tracción realizados en un equipo Instron 3369 (Darmstadt, Alemania) con una celda de 50 KN, a una velocidad de 10 mm/min y a temperatura ambiente. Las probetas fueron las muestras inyectadas que se acondicionaron previamente durante una semana antes de la prueba. Se calculó el módulo elástico como el promedio de cinco réplicas.

### Contenido de humedad (MC)

Las muestras (20 mm x 14 mm x 3 mm) se estabilizaron a 60% HR durante dos semanas y se pesaron ( $m_h$ ) en una balanza digital (Explorer Pro Ohaus; ± 0.0001g,  $m_h$ ). Luego se las llevó a una estufa de vacío a 105°C durante 24 horas y se las pesó nuevamente ( $m_s$ ). El contenido de humedad (MC) se determinó utilizando la ec. 1, que es la relación entre la masa de muestra seca y la masa inicial estabilizada.

$$MC (\%) = \frac{m_h - m_s}{m_h} * 100 \quad (1)$$

## Materia soluble total (TSM) e hinchamiento

Las muestras recubiertas y estabilizadas durante 48 hs a 60% HR se pesaron ( $m_h$ ) y se colocaron en recipientes con 30 mL de agua destilada y 3 gotas de  $\text{CuSO}_4$  saturado, para evitar el crecimiento de microorganismos en la solución. Luego se retiraron, se secaron superficialmente y se pesaron ( $m_{hr}$ ). La masa insoluble ( $m_{insoluble}$ ) se obtuvo secando las muestras en una estufa a 105°C. Este ensayo se realizó a 24 y 48 hs. La cantidad de materia soluble en base seca se determinó empleando la ec. 2.

$$TSM (\%) = \frac{m_{seca} - m_{insoluble}}{m_{seca}} * 100 \quad (2)$$

donde:

$$m_{seca} = m_h * \left(1 - \frac{MC}{100}\right) \quad (3)$$

También se determinó el hinchamiento de las muestras, que aporta información acerca de la integridad de las mismas, empleando la ec. 4.

$$Hinch (\%) = \frac{m_{hr} - m_h}{m_h} * 100 \quad (4)$$

Cada determinación se efectuó por triplicado para cada una de las temperaturas de aplicación del recubrimiento.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Estudio reológico

En la Figura 1 se observa que todas las mezclas presentan un comportamiento no-newtoniano con la típica disminución de la viscosidad al aumentar la frecuencia. Por otra parte, es notable que el comportamiento al flujo de las formulaciones que contienen urea es muy distinto al de las formulaciones acuosas con igual contenido de fase líquida (Ge + 40% U y Ge + 40%  $\text{H}_2\text{O}$ , respectivamente). En tal sentido, se observa una rápida disminución de la viscosidad en la curva correspondiente a la mezcla conteniendo agua. A partir de este resultado, se evidencia que el efecto plastificante del agua es distinto que el de la solución de urea a medida que las muestras de gelatina se deforman durante el ensayo reológico. Tanto el agua como la solución de urea actúan como plastificantes, restringiendo las interacciones entre las cadenas proteicas e impidiendo la regeneración de las triples hélices. Esta restricción proviene de la "ubicación" de las cadenas de agua o urea entre las cadenas proteicas "ocupando" los sitios donde las mismas se unen entre sí por puentes de hidrógeno. A muy bajas deformaciones este "impedimento" es mucho más efectivo cuando se usa una solución de urea que agua pura, lo cual es esperable dado que esa solución tiene más posibilidades de generar uniones de puente hidrógeno que el agua, consecuentemente su efecto plastificante inicial es mucho mayor, tal como se evidencia comparando la viscosidad inicial. A medida que la solución se ensaya reológicamente, los esfuerzos de corte ejercen un efecto de mezclado incrementando el contacto de los plastificantes con las cadenas proteicas y alineando las mismas con el flujo. De esta manera la viscosidad disminuye con la frecuencia. Sin embargo, esta disminución es mucho más importante para las muestras plastificadas con agua dado que al ser una molécula pequeña puede introducirse mejor por corte dentro de las proteínas y ocupar, uniéndose por puente hidrógeno, los lugares que no había podido ocupar originalmente.

Por otra parte, las formulaciones con urea presentan un comportamiento al flujo similar entre ellas, sólo se observa una disminución neta de la viscosidad con el incremento de la cantidad de plastificante. Esta reducción puede atribuirse a que el agua presente en la solución de urea actuó como plastificante, restringiendo así la regeneración de las triples hélices originadas por uniones de hidrógeno e interrumpiendo las interacciones entre

las cadenas proteicas. Durante el procesamiento de las mezclas a base de gelatina, se evidenció que al aumentar el contenido de la fase líquida, la inyección resultaba más sencilla, lo que se condice con una viscosidad menor.

### Contenido de humedad (MC)

Se observó un incremento en el contenido de humedad con el aumento del contenido de U de las muestras estabilizadas dos semanas a 65% HR (Tabla 1). Este comportamiento se justifica por el carácter hidrofílico de la urea presente en la matriz y no por una mayor cantidad de fase líquida en la formulación, debido a que las muestras fueron previamente estabilizadas durante dos semanas para asegurar que este factor no tenga incidencia en los resultados. La variación en el contenido de humedad que se observó entre las muestras con igual contenido de fase líquida (40% U y 40% H<sub>2</sub>O) fue despreciable.

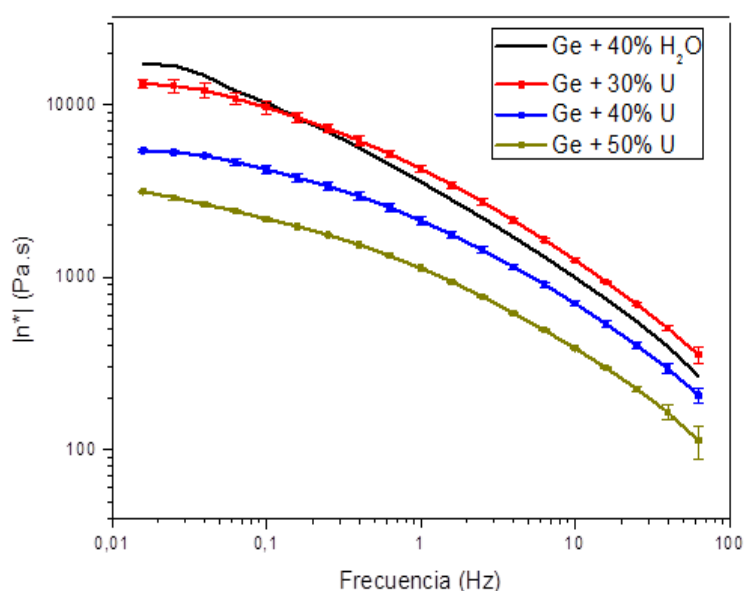


Fig. 1: Viscosidad compleja ( $|n^*|$ ) vs frecuencia para las distintas muestras a base de gelatina.

Tabla 1: Contenido de humedad de las muestras de Ge-U (8 M) y muestra control con agua destilada (Ge+40% H<sub>2</sub>O), sin recubrir.

Muestra	Contenido de Humedad (%)
Ge + 30% U	13,6 ± 0,5
Ge + 40% U	14,3 ± 0,4
Ge + 50% U	15,4 ± 0,2
Ge + 40% H <sub>2</sub> O	14,7 ± 0,2

### Propiedades mecánicas

Se realizaron ensayos de tracción con el objetivo de cuantificar la diferencia en rigidez de las muestras a base de gelatina. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 2, a partir de los cuales se corroboró que la muestra con menor contenido de U presenta un módulo elástico 114% mayor que la muestra Ge + 40% U,

mientras que el módulo de la muestra con mayor cantidad de fase líquida es aproximadamente el 60% del valor correspondiente a la mezcla Ge + 40% U.

Tabla 2: Valores del módulo elástico para las muestras a base de gelatina.

Muestra	Módulo elástico (MPa)
Ge + 30% U	5,70 ± 1,20
Ge + 40% U	2,70 ± 0,40
Ge + 50% U	1,59 ± 0,06

De las formulaciones estudiadas, la mezcla óptima fue Ge + 40% U debido a que presenta un valor medio de viscosidad que permite que la inyección sea sencilla. Por otra parte, esta formulación, una vez estabilizada, tiene un módulo elástico y una flexibilidad apropiada para la aplicación propuesta.

#### Condiciones para la aplicación de los recubrimientos

Con la finalidad de determinar las condiciones de aplicación del recubrimiento sobre las probetas inyectadas se analizaron las transiciones térmicas de la cera de abeja (CA) por medio de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC). La fusión de la CA comprendió un rango de temperaturas entre 35°C y 65°C (Fig. 2). A partir de estos valores, se propusieron distintas temperaturas para aplicar el recubrimiento, con 10 segundos de inmersión. Cuando la CA se encontraba a una temperatura por debajo de 70°C, el recubrimiento era excesivo, mientras que a temperaturas mayores a 80°C la muestra de gelatina se deformaba. Por estas razones, se decidió fijar las temperaturas para la aplicación del recubrimiento en 70, 75 y 80°C.

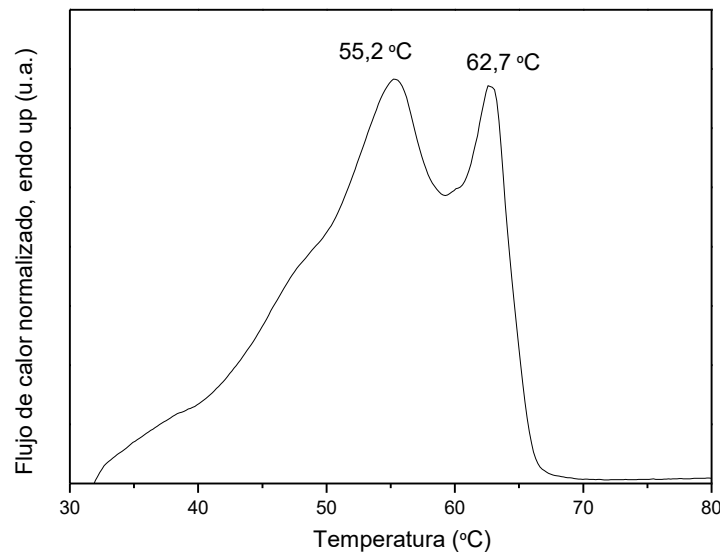


Fig. 2: Termograma de la cera empleada como recubrimiento de las mezclas de gelatina.

#### Integridad de las muestras

Los resultados de los ensayos de materia soluble total e hinchamiento (Fig. 3 y 4, respectivamente) evidenciaron que las muestras recubiertas lograron valores notablemente menores respecto de los de las muestras control sin

recubrir. Por otra parte, si se comparan las muestras recubiertas a 80°C presentaron mayores valores respecto a las recubiertas a menor temperatura.

Las muestras control (sin recubrir) registraron porcentajes de materia soluble del 28.5% a las 24hs y un ligero aumento hasta 32.5% a las 48 hs. En cambio, la velocidad con la que se solubilizaron las muestras recubiertas fue menor, habiéndose medido porcentajes de TSM entre 6.2 y 10.3 % a las 24 hs y entre 13.5 y 23.3 % a las 48 hs (para las muestras recubiertas a 70 y 80°C, respectivamente). A partir de estos resultados, se puede inferir que el recubrimiento fue efectivo, ya que funcionó como barrera una física, retrasando la solubilidad de las muestras.

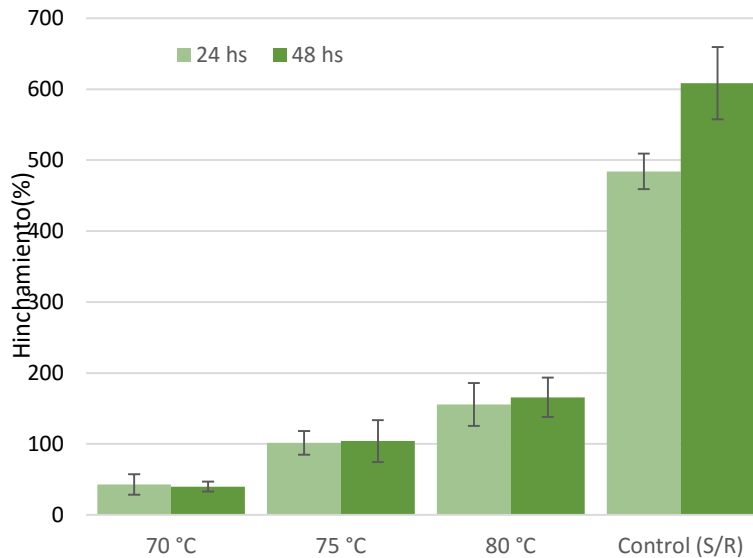


Fig. 3: Porcentaje de hinchamiento para las muestras Ge + 40% U recubiertas con CA a distintas temperaturas y control sin recubrir (S/R).

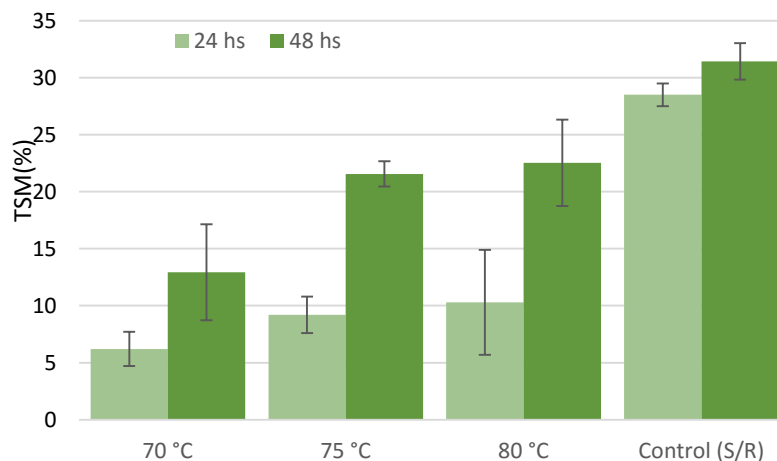


Fig. 4: Materia soluble total (TSM) para las muestras Ge + 40% U recubiertas con CA a distintas temperaturas y control sin recubrir (S/R).

Este efecto fue mucho más notable en el estudio del hinchamiento. Las muestras sin recubrir aumentaron su masa 15,25 veces más que las muestras recubiertas a 70 °C, casi sextuplicaron a aquellas recubiertas a 75 °C, mientras que absorbieron 3,65 veces más de agua que las muestras cuyo recubrimiento se realizó a 80 °C. Estas diferencias se debieron principalmente a las condiciones en las que se realizaron los recubrimientos. Cuando la temperatura del baño fue menor, la CA presentó una viscosidad mayor, por lo que la masa y el espesor del recubrimiento también fueron mayores como se observa en la Tabla 3. Cuanto mayor fue el espesor del recubrimiento, menor fue la ganancia en masa de la muestra debido a que la CA actuó como un refuerzo para la estructura de Ge y como una barrera que dificultó la absorción de agua.

Tabla 3: Masa y espesor del recubrimiento de CA para las muestras recubiertas a distintas temperaturas.

Temperatura de recubrimiento (°C)	Masa de Recubrimiento (g)	Espesor de recubrimiento (mm)
70	0,47 ± 0,01	0,92 ± 0,14
75	0,34 ± 0,04	0,81 ± 0,09
80	0,26 ± 0,05	0,64 ± 0,11

## CONCLUSIONES

Este estudio sugiere la factibilidad de emplear una matriz de gelatina enriquecida con una solución de urea y recubierta con cera de abeja para el desarrollo de contenedores biodegradables procesados por inyección.

Se determinó que la formulación que reúne las características apropiadas para la aplicación propuesta fue la mezcla Ge + 40% U, la cual presentó un valor medio de viscosidad que permitió que la inyección fuera sencilla y un módulo elástico adecuado a los requerimientos mecánicos de los contenedores. Asimismo, el recubrimiento con cera de abeja actuó como refuerzo para la matriz, mejorando la estabilidad e integridad de las muestras.

Actualmente el trabajo continúa con el objetivo de confeccionar los recipientes y realizar pruebas de campo que permitan determinar de manera efectiva la velocidad de degradación in-situ.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al CONICET por el financiamiento otorgado para realizar este trabajo y al Departamento de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Sur, en particular a la comisión organizadora del Programa de Cooperación Grado-Posgrado.

## REFERENCIAS

1. Calabria, L., Vieceli, N., Bianchi, O., Vinicius Boff de Oliveira, R., Filho I.F. & Schmidt V. (2012). Soy protein isolate/poly(lactic acid) injection-molded biodegradable blends for slow release of fertilizers. *Industrial Crops and Products*, 36, 41-46.
2. Chiellini, E., Cinelli, P., Kenawy, R.S. & Lazzeri, A. (2001). Gelatin-based blends and composites. Morphological and Thermal Mechanical Characterization. *Biomacromolecules*, 2, 806-811.
3. Ciannamea, E.M., Castillo, L.A., Martucci, J.F., Stefani, P.M., Ruseckaite, R.A. & Barbosa, S.E. (2014). *Rheological studies of gelatin formulations: influence of testing conditions on the results accuracy*. Actas del XIV Simposio Latino Americano de Polímeros and XII Congreso Iberoamericano de Polímeros, XIV SLAP/XII CIP. 12-16 de Octubre de 2014, Puerto de Gallinas-Brasil.



4. Evans, M.R., Taylor, M. & Kuehny, J. (2010). Physical Properties of Biocontainers for Greenhouse Crops Production. *Horttechnology*, 20 (3), 549-555.
5. Helgeson, M.S. (2009). *Horticultural evaluation of zein-based bioplastic containers*. M Sc. Thesis, Iowa State University, United States. Bajado mayo, 2015, desde <http://lib.dr.iastate.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1547&context=etd>
6. Martucci, J.F. & Ruseckaite, R.A. (2009). Tensile Properties, Barrier Properties, and Biodegradation in Soil of Compression-Molded Gelatin-Dialdehyde Starch Films. *J. Appl. Polym. Sci.*, 112, 2166-2178.
7. Martucci, J.F. & Ruseckaite, R.A. (2010). Biodegradable three-layer film derived from bovine Gelatin. *J. Food Eng.*, 99 (3), 377-383.
8. Martucci, J.F., Accareddu, A. & Ruseckaite, R.A. (2012). Preparation and characterization of plasticized gelatin films cross-linked with low concentrations of Glutaraldehyde. *J. Mater. Sci.*, 47 (7), 3282-3292.
9. Nambuthiri, S., Fulcher, A., Koeser, A.K., Geneve, R. & Niu, G. (2015). Moving toward sustainability with alternative containers for greenhouse and nurse crop production: a review and research update. *Horttechnology*, 25 (1), 8-16.
10. Sahoo, S., Behera, A., Nanda, R.M., Sahoo, R. & Nayak, P.L. (2011). Gelatin blended with Cloisite 30B (MMT) for control release of Ofloxacin. *American Journal of Scientific and Industrial Research*, 2 (3), 363-368.
11. Vroman, I. & Tighzert, L. (2009). A review from biodegradable polymers. *Materials*, 2, 307-344.

