

CARRERA DEL INVESTIGADOR CIENTÍFICO Y TECNOLÓGICO
Informe Científico¹
PERIODO ²: 2013

Legajo Nº: 359702

1. DATOS PERSONALES

APELLIDO: Almassio

NOMBRES: Marcela Fabiana

Dirección Particular:

Localidad: Bahía Blanca

Dirección electrónica: almassio@criba.edu.ar

2. TEMA DE INVESTIGACION

“Encapsulamiento de pigmentos naturales y nutraceuticos en nanoesferas del biopolimero zeina para su aplicación en la industria alimentaria”.

3. DATOS RELATIVOS A INGRESO Y PROMOCIONES EN LA CARRERA

INGRESO: Categoría: Asistente Fecha: 01/07/10

ACTUAL: Categoría: Asistente desde fecha: 01/07/10

4. INSTITUCION DONDE DESARROLLA LA TAREA

Universidad y/o Centro: Universidad Nacional del Sur

Facultad:

Departamento: Química

Cátedra:

Otros:

Dirección: Calle: Avda. Alem Nº: 1253

Localidad: Bahía Blanca CP: 8000 Tel: 0291-4595101. Int 3542

Cargo que ocupa: Asistente de Docencia dedicación exclusiva

5. DIRECTOR DE TRABAJOS. (En el caso que corresponda)

Apellido y Nombres: Dr. Raúl O. Garay

Dirección Particular:

Localidad: Bahía Blanca

Dirección electrónica: rgaray@criba.edu.ar

.....
Firma del Director (si corresponde)

.....
Firma del Investigador

¹ Art. 11; Inc. “e” ; Ley 9688 (Carrera del Investigador Científico y Tecnológico).

² El informe deberá referenciar a años calendarios completos. Ej.: en el año 2008 deberá informar sobre la actividad del período 1º-01-2006 al 31-12-2007, para las presentaciones bianuales.

6. EXPOSICION SINTETICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO.

El siguiente informe comprende el período 2013, exceptuando los meses comprendidos desde el 13/8 al 13/11/2013 debido a que me encontraba con licencia por maternidad.

a) El incremento en problemas ambientales y de salud causados por plásticos sintéticos originó extensos estudios destinados a desarrollar materiales de embalaje basados en polímeros biodegradables, preferentemente edibles. La zeína, una proteína hidrofóbica del maíz, es biodegradable y biocompatible. Es excelente para formar películas pero su fragilidad y poca flexibilidad limitan su uso y aplicaciones como material de recubrimiento. Se ha intentado mejorar sus propiedades mecánicas y su flexibilidad mediante la adición de diferentes compuestos tales como hidratos de carbono, ácidos grasos, ácidos orgánicos y diferentes polímeros sintéticos. El uso de compuestos fenólicos naturales en envoltorios para alimentos está en aumento porque mejoran el estado oxidativo y microbiano de los alimentos. Su variada estructura puede contener diferente número de grupos hidroxilos que forman puentes hidrógeno con los grupos peptídicos de las proteínas. Aparentemente, la mayoría de los plastificadores deben sus efectos positivos sobre la flexibilidad del film a los grupos hidroxilos, los cuales forman puentes hidrógeno con el polímero e incrementan el volumen libre de la matriz del film¹. Por lo tanto se realizaron películas de zeína utilizando etanol 96% como solvente, 20% y 40% w/w de glicerol² y 85% etanol, 10% y 20% w/w de glicerol³, observándose que eran más elásticos aquellos que se obtenían utilizando como solvente 85% etanol. Cuando se usó como plastificante el glicerol en porcentajes mayores al 10% la superficie de los films se tornaba grasosa, como consecuencia de las interacciones débiles entre el glicerol y la zeína causando que el exceso de glicerol migre desde el interior de la matriz del film a la superficie⁴. Según la literatura, los plastificantes de la zeína se clasifican en siete grupos diferentes, siendo los más efectivos solventes no volátiles como el trietilenglicol. Dentro de esta clasificación, el glicerol es un plastificante secundario, lo que significa que es un plastificante pobre cuando es usado solo, pero puede ser más efectivo en mezclas de sistemas plastificantes⁵. Por ello se decidió realizar las siguientes pruebas con un 10% y 20% de glicerol y utilizando un segundo plastificante como el ácido gálico (1mg/cm² y 2mg/cm²). Los sustratos utilizados fueron placas de vidrio de aprox. 72 cm². Se decidió variar el polialcohol, utilizando 20% eritritol y ácido gálico. Debido a que el film obtenido era muy difícil de despegar de las placas de vidrio, se decidió probar diferentes sustratos para reemplazar al vidrio. Para ello se probaron como sustratos vidrio silanizado, polimetilmetacrilato y acetato de celulosa. En los tres casos, se obtuvieron films más fáciles de despegar y sin rupturas, aptos para medir sus propiedades mecánicas. En las mejores condiciones encontradas, se probó agregar extracto de antocianinas, obtenido en nuestro laboratorio a partir de repollo colorado (0.5mg/cm²): Los films obtenidos son de color violeta, (pH de la solución: 3-4), obteniéndose una distribución del color uniforme y estable en el tiempo. Los espesores de los films se midieron con un equipo Filmetrics F20UV, observando un espesor uniforme en todo el film que varía entre 2.8 y 3.1µm.

b) Asimismo colaboré en la caracterización óptica y fotofísica de polímeros conjugados que fueron estudiados como quimiosensores. b1) Poli-*p*-terfenileno-perfluoroisopropilideno, cuyos grupos terfenilenos unidos por sus posiciones *para* conducen a una estructura rígida amorfa con microporosidad. Los polímeros emiten en la zona del azul y el estudio por efecto de flanco rojo no detectó la formación de especies agregadas que disminuyen la eficiencia de la emisión. Las medidas de anisotropía en fase condensada indican buena movilidad de estados excitados por RET, esto es coherente con la muy buena sensibilidad observada en los estudios de apagado de la fluorescencia frente a compuestos nitrados. b2) Así mismo estudié las propiedades fotofísicas de un polímero fluorescente con grupos *meta*-(tetrametoxiterfenileno), cuya anisotropía de la fluorescencia es baja. Como los estudios de apagado de la fluorescencia se realizan en fase condensada, se trabajó con películas del polímero depositadas sobre cuarzo o vidrio. Los estudios indican el plegamiento estructural y la movilidad de los estados excitados en fase sólida producen una alta sensibilidad frente a nitrocompuestos en solución acuosa.

c) Preparé un polímero conjugado, poli(piridilendifenilvinileno). Por GPC usando THF se obtuvo $M_n = 2.900$ Da, $M_w = 14.400$ Da, mientras que en DMF se encontraron valores de peso molecular mucho más altos, $M_n = 10.000$ Da y $M_w = 328.600$ Da. Estos valores observados por GPC son más altos que los observados por espectroscopía MALDI-TOF. Esto sugiere que el polímero forma nanoagregados en DMF, por lo que podría presentar el fenómeno de emisión inducida por la agregación. La aparición de una banda a 500 nm (CHCl₃) cuya intensidad depende de la concentración confirmaría el fenómeno AIE.

(1) Food Research International, 44, 2011, 550-556. (2) Food Research International, 51, 2013, 208-216. (3) Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60, 2012, 10075-10081. (4) Materials Chemistry and Physics, 142, 2013, 580-585. (5) Cereal Chemistry, 2002, 79, No. 1, 1-18.

7. TRABAJOS DE INVESTIGACION REALIZADOS O PUBLICADOS EN ESTE PERIODO. 7.1 PUBLICACIONES.

7.2 TRABAJOS EN PRENSA Y/O ACEPTADOS PARA SU PUBLICACIÓN.

7.3 TRABAJOS ENVIADOS Y AUN NO ACEPTADOS PARA SU PUBLICACION.

“Diphenylanthrylene and diphenylfluorene-based segmented conjugated polymer films as fluorescent chemosensors for nitroaromatics in aqueous solution”.

Maria J. Romagnoli, Pablo G. Del Rosso, Marcela F. Almassio, Cesar A. Barbero y Raúl O. Garay.

Enviado a: Sensors and Actuators, manuscript number: SNB-D-14-01299.

A new regularly segmented conjugated polymer with diphenylanthryl chromophores bearing oxyethylene side chains was synthesized. The amorphous polymer was solution-processable. The formation of aggregated species in solid phase was hindered by the bent microstructure while fluorescence depolarization measurements showed high exciton mobilities among the short chromophores. The fluorescence quenching of films of PA towards nitroaromatics in aqueous solution was evaluated and compared with the behavior of PF; a diphenylfluorenylene-based segmented CP bearing non-polar aliphatic side chains. Films of both polymers exhibit remarkable sensing abilities in the micromolar range thus showing that hydrated films have porosity at the molecular level. The fluorene-based PF had higher overall quenching responses to NACs than the anthryl-based PA while nitrophenols were more effective than nitrotoluenes in quenching the fluorescence of both PA and PF. Such differences are rationalized in terms of polymer-analyte interactions. The binding strengths between analytes and sensing materials were evaluated by their Hansen solubility parameters. We concluded that strong analyte cohesive interactions with the polymer could drag analyte diffusion and impair polymer sensing ability and should be avoided in the design of responsive polymers to be used in the present sensing configuration.

7.4 TRABAJOS TERMINADOS Y AUN NO ENVIADOS PARA SU PUBLICACION.

“Nitroaromatics detection in water solutions. Synthesis, photophysical characterization and fluorescence quenching of a new series of segmented conjugated polymer bearing distyrylarylene chromophores with phenyl and naphthyl groups”.

Autores: M. F. Almassio, M. J. Romagnoli, A. B. Schvval, P. G. Del Rosso and R. O. Garay.

A new regularly segmented conjugated series of polymers bearing distyrylarylene chromophores with phenyl and naphthyl groups was synthesized by the Wittig reaction. Its photophysical properties were investigated using UV-visible absorption, steady state emission spectroscopy and with the help of molecular modeling by DFT methods. The fluorescent polymers emit in the yellow region and his twisted morphology helps to avoid polymer aggregation and favors film porosity. The film thickness was characterized by UV reflectance methods. It was demonstrated that polymer films exhibit high sensitivity towards nitroaromatic compounds in methanol, methanol:water (1:1) and water solutions. The Stern–Volmer (S–V) plots points out that they have sensitivity towards all studied nitrocompounds, presenting values of half of the maximum quench ($Q_{50\%}$) in a 10^{-4} molar range. Additionally S-V plots exhibits a non-linear dependence, with upward curvature, suggesting that polymer film intrinsic characteristics assist more efficient quenching by RET at higher concentrations in the quenching range of $Q = 80-100\%$. This is a step forwards to the in situ monitoring of water contamination by nitroenergetic compounds.

7.5 COMUNICACIONES.

7.6 INFORMES Y MEMORIAS TECNICAS.

8. TRABAJOS DE DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS.

8.1 DESARROLLOS TECNOLÓGICOS. .

8.2 PATENTES O EQUIVALENTES.

8.3 PROYECTOS POTENCIALMENTE TRASNFERIBLES, NO CONCLUIDOS Y QUE ESTAN EN DESARROLLO.

8.4 OTRAS ACTIVIDADES TECNOLÓGICAS CUYOS RESULTADOS NO SEAN PUBLICABLES

8.5.

9. SERVICIOS TECNOLÓGICOS.

10. PUBLICACIONES Y DESARROLLOS EN:

10.1 DOCENCIA

10.2 DIVULGACIÓN

11. DIRECCION DE BECARIOS Y/O INVESTIGADORES. *Indicar nombres de los dirigidos, Instituciones de dependencia, temas de investigación y períodos.*

12. DIRECCION DE TESIS.

13. PARTICIPACION EN REUNIONES CIENTIFICAS.

1. "Polímeros segmentados fluorescentes con grupos meta-(tetrametoxi-para-terfenileno). Evaluación de su respuesta frente a compuestos nitrados en medio acuoso." María J. Romagnoli, Pablo G. Del Rosso, Marcela F. Almassio y Raúl O. Garay. XIX Simposio Nacional de Química Orgánica. 16 -19/11/2013, Mar del Plata, Argentina, SO-174

2. "Poli(*p*-terfenilenoperfluoroisopropilideno). Evaluación de su capacidad quimiosensora de nitrocompuestos en solventes hidroxílicos. Ana B. Schvval, Pablo G. Del Rosso, Marcela F. Almassio y Raúl O. Garay. XIX Simposio Nacional de Química Orgánica. 16 -19/11/2013, Mar del Plata, Argentina, SO-189.

14. CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC.

15. SUBSIDIOS RECIBIDOS EN EL PERIODO.

Subsidio Institucional para Investigadores CIC. Comisión de Investigaciones de la provincia de Bs. As. Monto: \$6000. Resolución: 243/13.

16. OTRAS FUENTES DE FINANCIAMIENTO.

17. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO.

18. ACTUACION EN ORGANISMOS DE PLANEAMIENTO, PROMOCION O EJECUCION CIENTIFICA Y TECNOLÓGICA..

19. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO.

Asistente de docencia (Jefe de trabajos prácticos) en la materia “Fundamentos de Química Orgánica” de la carrera de Ingeniería Química, durante el primer cuatrimestre de 2013. Porcentaje dedicado a la docencia: 30%.

No se realizaron tareas de docencia en el segundo cuatrimestre del 2013 debido a estar con licencia por maternidad desde el 31/07/2013 al 09/01/2014 en la Universidad Nacional del Sur.

20. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TITULOS ANTERIORES.

21. TITULO Y PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PROXIMO PERIODO.

“Plastificación y encapsulamiento de pigmentos naturales en películas edibles de zeína para la industria alimenticia y caracterización fotofísica de nanoagregados y películas fluorescentes”.

Plastificación y encapsulamiento de pigmentos naturales en películas edibles de zeína.

Los films a base de biopolímeros han mostrado potencial como sustitutos de los plásticos usados en embalajes a base de petróleo para reducir el impacto ambiental¹ Los films a base de proteínas son los más atractivos debido a sus muy buenas propiedades de barrera a los gases². Sin embargo, estos films disminuyen sus propiedades de barrera en condiciones de humedad relativa alta. Sin embargo, una mejor barrera contra el vapor de agua es deseable para el embalaje de alimentos, dado que deben mantenerse bajos niveles de actividad de agua en alimentos con bajo contenido de humedad para prevenir la degradación de su textura y minimizar las reacciones de deterioro, como el crecimiento microbiano³.

Por lo tanto, las aplicaciones de los films a base de proteínas están limitadas por la alta permeabilidad al vapor de agua debido a su naturaleza hidrofílica⁴ y también por la adición de agentes plastificantes que es necesaria para obtener films elásticos.

En particular, la zeína ha recibido considerable atención como biomaterial de revestimiento y films⁵. Estos revestimientos pueden ser atractivos y amigables para el medio ambiente porque son edibles y biodegradables. Sin embargo, poca cantidad de recubrimientos edibles y films son usados en aplicaciones comerciales debido a limitaciones en sus propiedades de tensión mecánica y de barrera al vapor de agua y oxígeno comparados con los embalajes sintéticos. Asimismo, el rendimiento de sus propiedades de tracción es influenciado por la humedad relativa ambiental así como también por los plastificadores incorporados. Por ejemplo, la adición de un plastificador y en condiciones de humedad relativa alta (más del 50%) incrementa la deformación pero disminuye el esfuerzo a la tracción⁶. Por lo que existen estudios para mejorar las propiedades tecnológicas tales como flexibilidad mecánica y propiedades de barrera al agua o al oxígeno.

Desde un punto más fundamental, las propiedades de formación de películas de zeína se originan en fuerzas intermoleculares fuertes, polares y de puente hidrogeno, entre moléculas de zeína que hacen al film quebradizo para la mayoría de las aplicaciones. Por consiguiente, los plastificadores actúan modificando la estructura supramolecular de la zeína. Los plastificadores necesitan entonces tener grupos funcionales polares para competir con las interacciones zeína-zeína y así lograr una plastificación efectiva. Asimismo también se requiere un delicado balance entre grupos polares y no polares de los plastificantes⁵ para una eficiente plastificación, ya que la zeína posee aminoácidos hidrofóbicos e hidrofílicos.

Poliolios saturados y ácidos grasos han sido usados para mejorar las propiedades de films de zeina ya sea puros o en combinaciones diversas.^{7,8} Aparentemente, la combinación de más de un plastificante podría ser la mejor manera para mejorar las propiedades de las películas. De esta manera, la adición de plastificadores con estructuras químicas y propiedades fisicoquímicas distintas permitiría balancear los requerimientos polares y no polares necesarios para destruir parte de las interacciones zeina-zeina⁶. Así, el ácido oleico y el glicerol afectan las propiedades mecánicas de los films plastificados de zeina de manera distinta, las cuales están probablemente asociadas con su estructura molecular y la polaridad así como el glicerol tiene una alta polaridad y es hidrofílico, el ácido oleico tiene más baja polaridad y es hidrofóbico. Estas diferencias podrían resultar en modos diferentes de interacción con la zeina en la cual las interacciones hidrofóbicas son principalmente responsables de los efectos de plastificación del ácido oleico⁹ mientras que los enlaces de hidrógeno formados con los grupos amida son principalmente responsables de los efectos de plastificación del glicerol¹⁰.

Por lo tanto, uno de los objetivos de este trabajo es investigar el efecto de concentraciones diferentes de etanol:agua (solvente) y plastificante primario/glicerol (plastificante secundario) sobre las propiedades estructurales y funcionales de los film-plastificantes^{1°/2°} así obtenidos tales como transparencia/opacidad, solubilidad en agua, permeabilidad al vapor de agua, homogeneidad, microestructura superficial y microestructura de la sección transversal. Usaremos en nuestro estudio plastificantes primarios hidrofóbicos con una y dos cabezas hidrofílicas de cadena larga y corta para sintonizar su hidrofobicidad, como los ácidos adípico, azelaico, esteárico, glutárico, sebáico, subérico, undecenoico, por otro lado se completarán los estudios con el ácido gálico, que presenta gran hidrofiliidad.

Los azúcares son plastificantes edibles para biopolímeros y se encuentran naturalmente en la mayoría de las frutas, sin embargo no han sido usados como un plastificante en zeina. Otro objetivo de este estudio será entonces determinar los efectos de diferentes azúcares con más de tres grupos hidroxilos, por ejemplo el eritritol y sorbitol, como plastificantes secundarios en lugar del glicerol, sobre las propiedades viscoelásticas, térmicas y mecánicas de los films de zeina.

La transparencia/opacidad de los films juega un rol importante cuando los films se intentan usar para cubrir productos sensibles a la luz, en tales casos un film opaco es recomendado¹¹. Debido a que el color amarillo de los carotenoides interferiría con los colorantes naturales (antocianinas) obtenidos en nuestro laboratorio y que se desean aditivar durante la obtención de los films, es conveniente usar zeina decolorada en lugar de la zeina comercial amarilla. Para ello se intentará desarrollar un método de decoloración que evite procesos de ultracentrifugación, solventes aromáticos o clorados, use material edible y proporcione la mayor eficiencia en términos del rendimiento de zeina decolorada respecto del material de partida. Por ejemplo, un protocolo posible sería el uso de extracción con acetato de etilo, tratamiento con tamices moleculares y reprecipitación.

Caracterización fotofísica de nanoagregados y películas fluorescentes

Los nanoagregados de sistemas fluorescentes están cumpliendo un rol cada vez mas importante en el desarrollo de quimiosensores,¹² ya sea para contaminantes orgánicos o inorgánicos o en compuestos de origen biológico.^{13,14} La migración intercadena de estados excitados o de emisión inducida por agregación¹⁵ son los factores mas importantes que lleva a respuestas de variación de la fluorescencia extremadamente grandes en polímeros o polielectrolitos comparadas con las mostradas por compuestos de bajo peso molecular. Al respecto se evaluará la fotofísica de un polímero conjugado que ya sinteticé y caractericé estructuralmente, poli(piridilendifenilvinileno), en soluciones a distintos pH para determinar si alguno de estos dos fenómenos es operativo en los nanoagregados formados en distintos solventes, se estudiarán también agregados formados en fase condensada en películas. Eventualmente, se estudiará su respuesta frente a soluciones acuosas de mercurio, un

contaminante que se encuentra en la ría de la ciudad de Bahía Blanca.¹⁶ Estos resultados se evaluarán en comparación con los de poli(p-fenilendifenilvinileno), con menor poder complejante porque no posee átomos de nitrógeno. Asimismo seguiré colaborando en la caracterización óptica y fotofísica de polímeros conjugados segmentados para ser estudiados como quimiosensores de nitrocompuestos.

Recursos disponibles. El Instituto de Química del Sur (INQUISUR) cuenta con instrumental para realizar parte de la caracterización estructural, mientras que equipos adicionales se encuentran en el Laboratorio de Instrumental de uso Compartido del Dpto. de Química (LIUC) y en el CCT-Bahía Blanca. El grupo de Materiales Orgánicos cuenta con dos laboratorios en el INQUISUR equipados con el instrumental básico necesario para realizar la síntesis (bomba de vacío, rotavapor, agitadores magnéticos con calentamiento, estufas de secado, etc). Se tiene acceso directo al siguiente instrumental que se encuentra en el INQUISUR: cromatógrafo por permeación de geles Waters, espectrofotómetro FTIR Nicolet, HPLC Perkin Elmer Tridet, espectrometro RMN Multinuclear Bruker Avance III. El LIUC cuenta con el siguiente instrumental: UV-vis, GC-MS Hewlett Packard, GC Shimadtsu, espectrómetro de fluorescencia, Filmetrics F20UV y un DSC TA Q10. Los equipos de termogravimetría, rayos X, reometría, microscopía óptica polarizada, ultracentrifugación, espectrómetro de fluorescencia con polarizadores para realizar medidas de anisotropía de la fluorescencia, el empleado en técnicas de dispersión de luz y el TEM se encuentran en el CCT-Bahía Blanca.

¹ Loredana Mariniello, Prospero Di Pierro, Carla Esposito, Angela Sorrentino, Paolo Masi, Raffaele Porta, *Journal of Biotechnology* 102 (2003) 191-198.

² Shiyi Ou, K.C. Kwok, Yujie Kang, *Journal of Food Engineering* 64 (2004) 301-305.

³ L Yang, A.T Paulson, *Food Research International* 33 (2000) 571-578.

⁴ D. Phan The, F. Debeaufort, A. Voilley, D. Luu, *Journal of Food Engineering* 90 (2009) 548-558.

⁵ John W. Lawton, *Cereal Chemistry* 79 (2002) 1-18.

⁶ John W. Lawton, *Cereal Chemistry* 81 (2004) 1-5.

⁷ Raffi Paramawati, Tomoyuki Yoshino, Seiichiro Isobe, *Food Sci. Technol. Res.* 7 (2001) 191-194.

⁸ Saowakon Wongsasulak, Paranat Tongsin, Narupol Intasanta, Tipaporn Yoovidhya, *J. Appl. Polym. Sci.* 118 (2010) 910-919.

⁹ Q. Wang, P. Geil, G. Padua, *J. Polym. Environ.* 12 (2004) 197-202.

¹⁰ T. Gillgren, S.A. Barker, P.S. Belton, D.M.R. Georget, M. Stading, *Biomacromolecules* 10 (2009) 1135-1139.

¹¹ Carolina Pena-Serna, José Francisco Lopews-Filho, *Materials Chemistry and Physics* 142 (2013) 580-585.

¹² M.R. Islam, Z. Lu, X. Li, A.K. Sarker, L. Hu, P. Choi, X. Li, N. Hakobyan, M.J. Serpe, *Analytica Chimica Acta* 789 (2013) 17-32.

¹³ Y. Liu, K. Ogawa, K.S. Schanze, *J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev.* 10 (2009) 173-190.

¹⁴ S.W. Thomas, G.D. Joly, T.M. Swager, *Chem. Rev.* 107 (2007) 1339-1386.

¹⁵ W. Dong; T. Fei; A. Palma-Cando, U. Scherf, *Polym. Chem.* 2014. DOI: 10.1039/c4py00251b.

¹⁶ Programa Integral de Monitoreo, Polo Petroquímico y Área Portuaria del Distrito de Bahía Blanca. http://www.bahiablanca.gov.ar/cte/doc/Adenda-PIM-Estuario_informes%202009-y-2010_v9.pdf.