

eman ta zabal zazu



Universidad  
del País Vasco

Euskal Herriko  
Unibertsitatea

**ARTO ALMIDOIAN OINARRITUTAKO  
NANOKONPOSITE FILM ETA HIDROGELEN  
GARAPENA POLISAKARIDO ETA GRAFENOTIK  
ERATORRITAKO NANOEGITURAK ERABILIZ**

**KIZKITZA GONZALEZ MUNDUATE**

**2019ko UZTAILA**

Kizkitza González Munduate  
Gipuzkoako Ingeniaritza Eskola  
Donostian, 2019ko uztaila



GIPUZKOAKO  
INGENIARITZA  
ESKOLA  
ESCUELA  
DE INGENIERÍA  
DE GIPUZKOA

Arto almidoian oinarritutako nanokonposite film eta hidrogelen garapena polisakarido eta grafenotik eratorritako nanoegiturak erabiliz

**KIZKITZA GONZALEZ MUNDUATEk**

doktore gradua lortzeko aurkeztutako txostena

**NAGORE GABILONDO LOPEZ eta ARANTXA ECEIZA MEDIGUREN**

doktoreek zuzenduta

Donostian, 2019ko uztaila



**DOKTOREGO PROGRAMAREN BATZORDE AKADEMIKOAREN  
BAIMENA**

**MATERIAL BERRIZTAGARRIEN INGENIARITZAn Doktorego Programaren Batzorde Akademikoak 2019ko Maiatzaren 6an egindako bileran ondorengo izenburua duen doktorego tesia aurkeztearen alde azaltzea erabaki du: ARTO ALMIDOIAN OINARRITUTAKO NANOKONPOSITE FILM ETA HIDROGELEN GARAPENA POLISAKARIDO ETA GRAFENOTIK ERATORRITAKO NANOEGITURAK ERABILIZ.**

**Tesia NAGORE GABILONDO LOPEZ eta M<sup>a</sup> ARANZAZU ECEIZA MENDIGUREN andreek zuzendu eta KIZKITZA GONZALEZ MUNDUATE andreak aurkeztu du INGENIARITZA KIMIKOA ETA INGURUMENAREN INGENIARITZA Sail honen aurrean.**

**Donostian, 2019ko Maiatzaren 6an**

**DOKTOREGO-PROGRAMAREN KOORDINATZAILEA**

**Sin.: M<sup>a</sup> ARANZAZU ECEIZA MENDIGUREN**

## **ACKNOWLEDGMENT**

Lehenik eta behin, tesi honen zuzendari izan diren Nagore Gabilondo eta Arantxa Eceiza eskertu nahi ditut, lan hau burutzeko aukera eman izanagatik eta urte hauetan eskeini didazuten etengabeko laguntzagatik.

Bestalde, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU) eskertu nahi dut, lan hau aurrera eraman ahal izateko emandako diru laguntzagatik (Doktoratu Aurreko Ikertzaileak Prestatzeko beka, PIF-G-003-2015). Eskerrak eman ere Euskal Herriko Unibertsitateko Ikerkuntzarako Zerbitzu Orokorrari (SGIker) emandako laguntza teknikoa eta gizatiarragatik. Bereziki, makroportaera-mesoegitura-nanoteknologia zerbitzuko Loli Martin doktoreari, denbora honetan emandako aholku guztiengatik.

Mila esker Luc Avérous doktoreari, bere ikerkuntza taldean (BioTeam/ICPEES-ECPM, UMR CNRS 7515, Université de Strasbourg) eta hiru hilabeteko egonaldian elkarlanean lan egiteko aukera eman izanagatik. Era berean, POLYMAT institutuko (Polimeroen Zientzia eta Teknologia saila, Kimika Fakultatea, UPV/EHU) Alba González eta Lourdes Irusta doktoreei filmen iragazkortasun karakterizazioa burutzeko emandako laguntzagatik eta Ana Alonso Varona doktoreari (Zelula Biologia eta Histologia saila, Medikuntza eta Erizaintza Fakultatea, UPV/EHU) biobateragarritasun saiakuntzetarako eskeinitako laguntzagatik.

Ingeniaritza Kimikoa eta Ingurumenaren Ingeniaritza saileko 'Materialak + Teknologia' ikerkuntza taldeko kideei ere eskerrik asko zuen laguntzagatik. Baina bereziki eskerrak eman behar dizkizuet zuei, laborategiko lagunei, urte hauetan elkarrekin igarotako mila abenturengatik.

Azkenik, eskerrik beroenak nere familia eta lagunentzat. Etxekoengatik jaso dudan babesa eta maitasuna ezinbestekoa izan da tesi hau aurrera eraman eta amaitu ahal izateko. Nere bizitzaren euskarria zarete.

*Kizkitza González Munduate*



## LABURPENA

Doktorego tesi honen helburua almidoian oinarritutako materialen lorpena eta karakterizazioa izan da. Aplikazio desberdinetan erabiltzeko bi material mota garatu dira.: plastifikatutako almidoi film eta nanokonposite filmak paketatze aplikazioetan erabilitako ohiko polimero sintetikoen ordezkari bezala eta saretutako almidoi nanokonposite hidrogelal biomedikuntza aplikazioetarako.

Lehenik, plastifikatutako almidoi filmak *solvent casting* teknika bidez lortu dira glizerola, D-isosorbida eta 1,3-propanodiola plastifikatzaile gisa erabiliz. Horrela, plastifikatzaileak materialen amaierako propietateetan eta erretrogradazioan duen eragina aztertu da. Bestalde, nanokonposite filmak nanokristal polisakaridoak gehituta prestatu dira, almidoi eta zelulosa nanokristalak erabiliz hain zuzen. Almidoi nanokristal edukiaren eta almidoi eta zelulosa nanokristalak elkarrekin erabiltzearen eragina aztertu da. Horrez gain, estrusio/konpresio bidez almidoi termoplastiko filmak lortzeko bideragarritasuna ebaluatu da. Bestalde, plastifikatutako almidoi nanokonposite filmak karbono nanopartikulak gehituta lortu dira. Grafeno eta grafeno oxido eduki desberdinak plastifikatutako almidoi matrizean gehitzeak duen eragina aztertu da. Gainera, grafeno oxidoa azido askorbikoaz erreduzitu da, materialaren propietate termiko eta eroankortasun elektrikoa hobetzeko asmoz.

Nanokonposite hidrogelen sintesiari dagokionez, alde batetik, saretutako hidrogelak furano taldez eraldatutako almidoia eta tetramaleimida baten arteko Diels-Alder erreakzioaren bitartez lortu dira zelulosa nanokristalak gehituz. Zelulosa nanokristal edukiak hidrogelen propietate erreologiko, putze gaitasuna, morfologia, botika askapen zinetika eta zelula itsaspen gaitasunean duen eragina aztertu da. Azkenik, Diels-Alder hidrogel nanokonpositeak sintetizatu dira, furano taldez eraldatutako almidoia bismaleimida batekin saretuz. Furano/maleimida pisu erlazioak hidrogelen portaeran duen efektua ikertu da. Gainera, nanokonposite hidrogel antibakterial eta eroaleak lortu dira, grafenoa eta Salbia estraktuak egonkortzaile bezala erabiliz.





## AURKIBIDEA

<b>1. SARRERA</b> .....	<b>1</b>
1.1. MOTIBAZIOA .....	3
1.2. BERRIKUSPEN BIBLIOGRAFIKOA .....	4
1.2.1. Almidoia .....	4
1.2.2. Almidoiaren gelatinizazioa .....	9
1.2.2.1. Plastifikatzaileak .....	10
1.2.2.2. Erretrogradazioa.....	12
1.2.2.3. Ekoizpen teknikak.....	13
1.2.3. Nanokonpositeak .....	13
1.2.3.1. Polisakaridoak nanokristalak .....	14
1.2.3.2. Karbonodun nanopartikulak .....	15
1.2.4. Hidrogelak .....	18
1.2.4.1. Diels-Alder ‘klik’ erreakzioa.....	18
1.2.4.2. Diels-Alder hidrogelak biomedikuntza aplikazioetarako.....	20
1.3. HELBURU OROKORRAK.....	22
1.4. ERREFERENTZIAK.....	23
<b>2. MATERIALAK ETA KARAKTERIZAZIO TEKNIKAK</b> .....	<b>33</b>
2.1. MATERIAL ETA ERREAKTIBOAK.....	35
2.2. KARAKTERIZAZIO TEKNIKAK.....	36
2.2.1. Karakterizazio fisiko-kimikoa.....	36
2.2.1.1. Fourier transformadun infragorri espektroskopia .....	36
2.2.1.2. Protoiaren erresonantzia magnetiko nuklearra .....	37
2.2.1.3. X-izpien difrakzioa.....	37
2.2.1.4. Espektroskopia ultramore-ikuskorra.....	38

2.2.1.5.	Raman espektroskopia.....	38
2.2.2.	Propietate optikoak .....	38
2.2.2.1.	Espektroskopia ultramore-ikuskorra .....	38
2.2.2.2.	Kolorimetria .....	38
2.2.3.	Karakterizazio termiko eta termomekanikoa.....	39
2.2.3.1.	Analisi termograbitmetrikoa.....	39
2.2.3.2.	Ekorketa diferentzialeko kalorimetria .....	39
2.2.3.3.	Analisi mekaniko dinamikoa .....	40
2.2.4.	Gainazal propietateak.....	40
2.2.4.1.	Ukipen-angelu dinamikoa.....	40
2.2.4.2.	Ukipen-angelu estatikoa.....	40
2.2.5.	Propietate mekanikoak.....	41
2.2.5.1.	Trakzio-saiakuntzak.....	41
2.2.6.	Hesi propietateak.....	41
2.2.6.1.	Ur-lurrunarekiko transmisio abiadura.....	41
2.2.6.2.	Oxigenoarekiko transmisio abiadura .....	42
2.2.7.	Karakterizazio morfologikoa .....	42
2.2.7.1.	Indar atomikozko mikroskopia .....	42
2.2.7.2.	Transmisio mikroskopia optikoa.....	43
2.2.7.3.	Ekorketa bidezko mikroskopia elektronikoa.....	43
2.2.7.4.	Transmisiozko mikroskopia elektronikoa.....	43
2.2.8.	Erreologia neurketak .....	44
2.2.9.	Puzte gaitasuna.....	44
2.2.10.	Degradazioa hidrolitikoa.....	44
2.2.11.	Karakterizazio espezifikoa.....	45
2.2.11.1.	Botika askapena .....	45

2.2.11.2. Aktibitate antibakteriar saiakuntzak.....	46
2.2.11.3. Epe laburreko zitotoxikotasun saiakuntzak.....	46
2.2.12. Eroankortasun elektrikoa.....	47
2.3. ERREFERENTZIAK.....	47
<b>3. ALMIDOIAN OINARRITUTAKO FILMAK.....</b>	<b>49</b>
3.1. HELBURUAK .....	51
3.2. ALMIDOIAN OINARRITUTAKO FILMEN LORPENA .....	51
3.2.1. Plastifikatutako almidoi filmak solvent casting bidez (PLS) .....	51
3.2.2. Almidoi termoplastiko filmak estrusio/konpresio bidez (TPS) .....	52
3.3. GELATINIZAZIO PROZESUAREN AZTERKETA .....	54
3.3.1. Ekorketa diferentzialeko kalorimetria .....	54
3.3.2. Transmisiozko mikroskopia optikoa .....	57
3.4. PLASTIFIKATZAILEAREN ERAGINA PLS FILMEN PROPIETATEETAN .....	57
3.4.1. X-izpien difrakzioa.....	57
3.4.2. Propietate optikoak.....	58
3.4.3. Gainazal propietateak .....	60
3.4.4. Analisi mekaniko dinamikoa.....	61
3.4.5. Propietate mekanikoak .....	63
3.4.6. Hesi propietateak.....	65
3.4.7. Analisi termograbitmetrikoa .....	66
3.4.8. Karakterizazio morfologikoa.....	70
3.5. PLASTIFIKATZAILEAREN ERAGINA TPS FILMEN PROPIETATEETAN .....	71
3.5.1. X-izpien difrakzioa.....	72
3.5.2. Propietate optikoak.....	73
3.5.3. Analisi mekaniko dinamikoa.....	74

3.5.4.	Analisi termograbitmetrikoa.....	75
3.5.5.	Propietate mekanikoak.....	76
3.5.6.	Hesi propietateak.....	78
3.6.	ERRETROGRADAZIOAREN ERAGINA TPS FILMEN PROPIETATEETAN .....	79
3.6.1.	Propietate optikoak .....	79
3.6.2.	Gainazal propietateak.....	80
3.6.3.	Propietate mekanikoak.....	82
3.6.4.	Hesi propietateak.....	84
3.6.5.	Karakterizazio morfologikoa .....	84
3.7.	ONDORIOAK.....	85
3.8.	ERREFERENTZIAK.....	86
<b>4.</b>	<b>NANOENTITATEAK .....</b>	<b>91</b>
4.1.	HELBURUA .....	93
4.2.	POLISAKARIDO NANOKRISTALEN ISOLAMENDUA.....	93
4.2.1.	Waxy arto almidoi nanokristalen isolamendua (WSNC).....	93
4.2.2.	Zelulosa nanokristalen isolamendua (CNC).....	94
4.3.	POLISAKARIDO NANOKRISTALEN KARAKTERIZAZIOA.....	94
4.3.1.	X-izpien difrakzioa .....	94
4.3.2.	Analisi termograbitmetrikoa.....	96
4.3.3.	Indar atomikozko mikroskopia .....	97
4.4.	GRAFENO ETA GRAFENO OXIDOAREN LORPENA .....	98
4.4.1.	Grafeno nanoxaflen lorpena .....	98
4.4.2.	Grafeno oxido nanoxaflen lorpena.....	99
4.4.3.	Erreduzitutako grafeno oxidoa.....	99
4.5.	GRAFENO ETA GRAFENO OXIDOAREN KARAKTERIZAZIOA .....	100

4.5.1.	Raman espektroskopia.....	100
4.5.2.	X-izpien difrakzioa.....	101
4.5.3.	Analisi termograbitmetrikoa .....	103
4.5.4.	Transmisiozko mikroskopia elektronikoa.....	104
4.6.	ONDORIOAK .....	106
4.7.	ERREFERENTZIAK.....	106
<b>5.</b>	<b>ALMIDOI ETA POLISAKARIDO NANOKRISTALETAN OINARRITUTAKO NANOKONPOSITE FILMAK.....</b>	<b>111</b>
5.1.	HELBURUA.....	113
5.2.	ALMIDOI/POLISAKARIDO NANOKRISTAL NANOKONPOSITE FILMEN LORPENA.....	114
5.2.1.	PLS eta polisakarido nanokristaletan oinarritutako nanokonpositeen prestaketa .....	114
5.2.2.	TPS eta polisakaridoen nanokristaletan oinarritutako nanokonpositeen prestaketa...	115
5.3.	WAXY ARTO ALMIDOI NANOKRISTALEN EDUKIAREN ERAGINA PLS FILMEN PROPIETATEETAN.....	115
5.3.1.	Analisi mekaniko dinamikoa.....	115
5.3.2.	Propietate mekanikoak .....	116
5.3.3.	Hesi propietateak.....	118
5.3.4.	Analisi termograbitmetrikoa .....	119
5.4.	POLISAKARIDO NANOKRISTALAK KONBINATZEAREN ERAGINA PLS FILMEN PROPIETATEETAN.....	121
5.4.1.	Analisi mekaniko dinamikoa.....	121
5.4.2.	Propietate mekanikoak .....	122
5.4.3.	Hesi propietateak.....	124
5.4.4.	Indar atomikozko mikroskopia.....	125
5.5.	WAXY ARTO ALMIDOI NANOKRISTALEN EDUKIAREN ERAGINA TPS FILMEN PROPIETATEETAN.....	126

5.5.1.	Analisi mekaniko dinamikoa .....	126
5.5.2.	Propietate mekanikoak.....	128
5.5.3.	Hesi propietateak.....	130
5.5.4.	Analisi termograbitmetrikoa.....	130
5.6.	POLISAKARIDO NANOKRISTALAK KONBINATZEAREN ERAGINA TPS FILMEN PROPIETATEETAN .....	131
5.6.1.	Analisi mekaniko dinamikoa .....	132
5.6.2.	Propietate mekanikoak.....	133
5.6.3.	Hesi propietateak.....	134
5.7.	ONDORIOAK.....	135
5.8.	ERREFERENTZIAK.....	135
<b>6.</b>	<b>ALMIDOI ETA KARBONODUN NANOPARTIKULETAN OINARRITUTAKO NANOKONPOSITE FILMAK.....</b>	<b>139</b>
6.1.	HELBURUA .....	141
6.2.	ALMIDOI/KARBONODUN NANOPARTIKULA NANOKONPOSITE FILMEN LORPENA .....	141
6.2.1.	Salvia estraktuen lorpena .....	141
6.2.2.	PLS eta karbonodun nanopartikuletan oinarritutako nanokonpositeen lorpena .....	142
6.2.3.	Grafeno oxidoaren erredukzioa.....	142
6.3.	GRAFENO EDUKIAREN ERAGINA PLS NANOKONPOSITE FILMEN PROPIETATEETAN .....	143
6.3.1.	Fourier transformatudun espektroskopia infragorria .....	143
6.3.2.	X-izpien difrakzioa .....	145
6.3.3.	Propietate optikoak .....	145
6.3.4.	Gainazal propietateak.....	147
6.3.5.	Analisi mekaniko dinamikoa .....	148
6.3.6.	Propietate mekanikoak.....	149

6.3.7.	Propietate elektrikoak .....	151
6.3.8.	Analisi termograbitmetrikoa .....	151
6.4.	GRAFENO OXIDO EDUKIAREN ERAGINA PLS NANOKONPOSITE FILMEN PROPIETATEETAN.....	153
6.4.1.	Fourier transformatudun espektroskopia infragorria.....	153
6.4.2.	X-izpien difrakzioa.....	155
6.4.3.	Propietate optikoak.....	156
6.4.4.	Gainazal propietateak .....	158
6.4.5.	Analisi mekaniko dinamikoa.....	158
6.4.6.	Propietate mekanikoak .....	159
6.4.7.	Propietate elektrikoak.....	161
6.4.8.	Analisi termograbitmetrikoa .....	161
6.5.	GRAFENO OXIDOAREN ERREDUKZIOAREN ERAGINA PLS NANOKONPOSITE FILMEN PROPIETATEETAN.....	162
6.5.1.	X-izpien difrakzioa.....	163
6.5.2.	Gainazal propietateak .....	164
6.5.3.	Propietate elektrikoak .....	165
6.5.4.	Analisi termograbitmetrikoa .....	166
6.6.	ONDORIOAK .....	167
6.7.	ERREFERENTZIAK.....	168
<b>7.</b>	<b>SARETUTAKO ALMIDOIAN ETA ZELULOSA NANOKRISTALETAN OINARRITUTAKO NANOKONPOSITE HIDROGELAK .....</b>	<b>171</b>
7.1.	HELBURUA.....	173
7.2.	ALMIDOIZKO HIDROGEL SARETUEN LORPENA .....	173
7.2.1.	Furanoz eraldatutako almidoiaren sintesia (S-FI).....	173
7.2.2.	Hidrogelaren sintesia S-FI eta tetramaleimidaren (TTMI) arteko Diels Alder erreakzio bitartez .....	174



7.2.3.	Diels-Alder erreakzio bidezko nanokonposite hidrogelen prestaketa .....	176
7.3.	FURANOZ ERALDATUTAKO ALMIDOIAREN SINTESIA .....	176
7.3.1.	Erresonantzia magnetiko nuklearra .....	177
7.4.	LORTUTAKO HIDROGELEN ANALISIA .....	178
7.4.1.	Fourier transformatudun infragorri espektroskopia.....	178
7.4.2.	Espektroskopia ultramore-ikuskorra .....	180
7.5.	ZELULOSA NANOKRISTALDUN NANOKONPOSITE HIDROGELAK .....	181
7.5.1.	Portaera erreologikoa .....	181
7.5.2.	Puzte gaitasuna.....	183
7.5.3.	Botika askapena .....	184
7.5.4.	Ekorketa bidezko mikroskopia elektronikoa.....	185
7.5.5.	Zitotoxikotasuna.....	187
7.6.	ONDORIOAK.....	188
7.7.	ERREFERENTZIAK.....	189
<b>8.</b>	<b>SARETUTAKO ALMIDOI ETA GRAFENOAN OINARRITUTAKO NANOKONPOSITE HIDROGELAK .....</b>	<b>193</b>
8.1.	HELBURUA .....	195
8.2.	SARETUTAKO ALMIDOIZKO HIDROGELEN LORPENA.....	195
8.2.1.	Bismaleimida saretzailearen sintesia (BMI).....	195
8.2.2.	Hidrogelaren sintesia S-FI eta BMI arteko DA erreakzioaren bitartez .....	196
8.2.3.	Nanokonposite hidrogelen prestakuntza DA erreakzio bitartez .....	197
8.3.	BISMALEIMIDAREN KARAKTERIZAZIOA .....	198
8.3.1.	Erresonantzia magnetiko nuklearra .....	198
8.4.	PRESTATUAKO HIDROGELEN ANALISIA .....	199
8.4.1.	Fourier transformatudun infragorri espektroskopia.....	200
8.4.2.	Espektroskopia ultramore-ikuskorra .....	201

8.5. FURANO MALEIMIDA ERLAZIOAREN ERAGINA HIDROGELEN PROPIETATEETAN.....	202
8.5.1. Portaera erreologikoa.....	203
8.5.2. Ekorketa bidezko mikroskopia elektronikoa .....	204
8.5.3. Puzte gaitasuna .....	205
8.5.4. Degradazio hidrolitikoa.....	207
8.6. GRAFENODUN NANOKONPOSITE HIDROGELEN ANALISIA .....	207
8.6.1. Portaera erreologikoa.....	208
8.6.2. Eroankortasun elektrikoa.....	209
8.6.3. Aktibitate antibakteriarra.....	209
8.6.4. Ekorketa bidezko mikroskopia elektronikoa .....	211
8.7. ONDORIOAK .....	212
8.8. ERREFERENTZIAK.....	212
<b>9. ONDORIO OROKORRAK, ETORKIZUNERAKO LAN-ILDOAK ETA ARGITALPENAK.....</b>	<b>215</b>
9.1. ONDORIO OROKORRAK.....	217
9.2. ETORKIZUNERAKO LAN-ILDOAK.....	218
9.3. ARGITALPENAK.....	219
9.3.1. Argitalpenak .....	219
9.3.2. Konferentziak .....	222
<b>ERANSKINAK .....</b>	<b>231</b>
TAULAK.....	231
IRUDIAK.....	231
ESKEMA .....	236
LABURDURAK .....	237
LIST OF SYMBOLS.....	237



# **1. KAPITULUA:**

## **SARRERA**



## 1. SARRERA

### 1.1. MOTIBAZIOA

Zientziak, beti teknologiari lotuta, gizartean egunero sortzen diren erronka berrien soluzio bila dihardu buru-belarri lanean. Gizarteak, etengabeko garapenean, sektore desberdinetan (medikuntza, ingurumena, garraioa, energia, elikadura) sortzen diren beharrei erantzuna eman behar die. Zentzu honetan, funtsezkoa da ongizatea hobetu eta, aldi berean, aurrerapenean lagundu eta etorkizun iraunkorragoa bermatuko duten propietate espezifikoak dituzten material berritzaileak garatzea.

Ikerketa ildo honetan, gaur egun, diziplina anitzeko ikerlariak biopolimeroetan oinarritutako eta aplikazio desberdinetarako propietate lehiakorak dituzten material berritzaileen garapenean arreta jartzen ari dira (biopolimero terminoaren IUPAC definizioa: organismo bizidun edo biomasak sortutako polimeroa). Horrela, polisakaridoek azaltzen duten erabilgarritasun eta propietate fisiko-kimikoak direla eta, hautagai paregabeak dira material ohikoenen ordezkari berdeak izateko. Hauen artean, almidoia bere eskuragarritasun ugaria, fisiko zein kimikoki eraldatzeko moldakortasuna, biodegradagarritasuna eta kostu baxua dela eta, ingurumenarekiko errespetuzkoak diren eta oinarri biologikoa duten materialen aitzindari bezala nabarmentzen da [1]. Almidoia ordea, hainbat desabantaila garrantzitsu azaltzen ditu, hala nola izaera hidrofilikoa eta portaera mekaniko eskasa [2]. Gainera, birkristalizazio eta eretrogradazio fenomenoek denbora pasa ahala almidoizko materialen propietateen egonkortasunean eragin dezakete. Horregatik, zenbait estrategia proposatzen dira almidoian oinarritutako materialen portaera fisiko-kimikoa hobetzeko asmoz, adibidez, beste polimeroekin nahastea, plastifikatzaile desberdinen erabilpena, nanokonpositeen garapena, eta eraldaketa kimikoa eta saretzea [2–5].

Horrela, lan honetan, bi erronka nagusi eduki ditugu: almidoian oinarritutako paketatze material bezala aukera berdeen garapena eta biomaterial gisa aplikatzeko hidrogelen sintesia.

Petrolio iturrietatik eratorritako plastikozko produktuen erabilerak sortzen dituen ingurumen arazoak murrizteko asmoz, ikerlariak bioplastiko bioberriztagarri, konpostagarri edota birziklagarrien diseinuan dute arreta jarria. Modu honetan, iturri fosiletatik eratorritako materialen erabilera gutxitu daiteke eta, horrela, hauen bizitza erabilgarriaren amaieran berotegi efektuko gasen isurpena murriztu. Beraz, almidoia, bereziki plastifikatutako almidoia (PLS) eta almidoi termoplastikoa (TPS) deritzona, paketatze aplikazioetan erabiltzen diren polimero sintetiko tradizionalen ordezkari egokitzat kontsideratzen da.

Bestalde, biopolimeroetatik eratorritako hidrogelak bestelako biomaterialek aurkezten dituzten mugak (gorputz arrotzekiko erantzunak, akats mekanikoak, erantzun elektriko falta) gaintu ditzakete [6], ur edo isurkin biologikoak xurgatu eta gordetzeko gaitasuna, biobateragarritasun altua eta funtzionalitate aldakortasuna erakusten baitute [7]. Almidoia, bere portaera fisiko-kimiko eta biologiko espezifikoaz gain, hidroxilo talde primario eta sekundarioak aurkezten ditu, talde funtzional berrien txertatzea ahalbideratuz [8]. Guzti honengatik, almidoia, biomedikuntzan aplikatu daitezkeen hidrogelak garatzeko polisakarido egokitzat hartzen da [9].

## 1.2. BERRIKUSPEN BIBLIOGRAFIKOA

### 1.2.1. Almidoia

Almidoia jatorri berriztagarri eta izaera biodegradagarriko biopolimero hidrofílico eta erdikristalinoa da, landare askok energi iturri gisa sortutakoa [10–15]. Munduko biopolimero ugarienetako bat da, izan ere, hainbat nekazaritza-laboreren sustrai, tuberkulu, hazi, zurtoin eta fruituetan aurki daiteke [15,17–19].

Historikoki, almidoia, gizakion elikaduraren funtsezko karbohidratoa izateaz gain [19], Egiptoko papiroen itsasgarrietan (4000 K.a.), txinatar paperetan (312 K.o.) edo ehungintzan erabili izan da (XVI. mendean) [20]. Azken mendeetan aldiz, almidoia ekoizpena eta aplikazio eremua

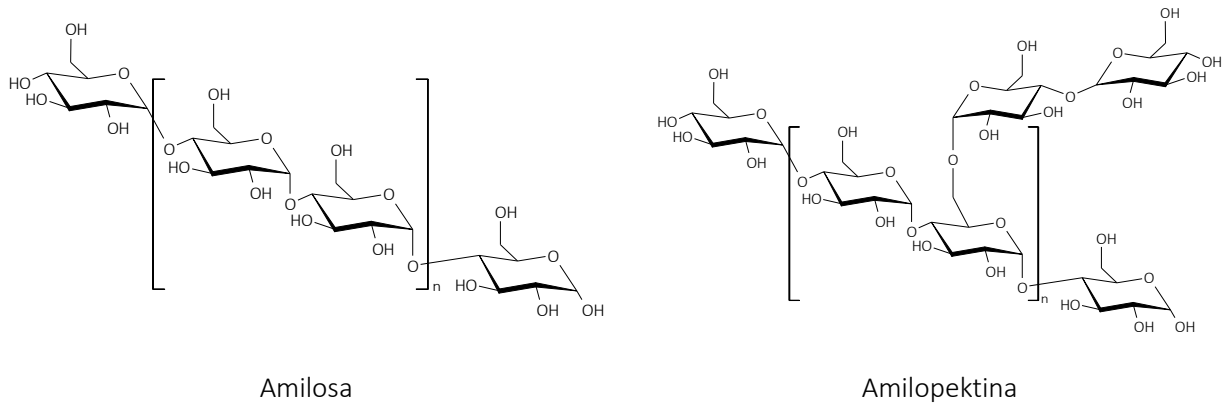
handitu egin dira. *European Starch Industry Association (Starch Europe)* erakundearen arabera [20], 2017an, 24 milioi tona nekazal lehengai prozesatu ondoren, 11 milioi tona almidoi eta 5 milioi tona albo-produktu lortu ziren (1.1. Irudia). Prozesatutako labore nagusienak patata (%30), artoa (%34) eta garia (%36) izan ziren. Urte hartan, Europako merkatuak guztira 9,4 milioi tona almidoi kontsumitu zituen (almidoi azpiproduktuekin erlazionatutako 5 milioi tona aintzat hartu gabe), hala nola, modifikatutako almidoia (%19), berezko almidoia (%27) eta almidoi gozagarriak (%54). Almidoiaren merkatua hiru sektore nagusietan banatzen da: animalia pentsuak (%2), produktu ez jangarriak (%40, bereziki kartoi eta papera) eta elikadura produktuak (%58, bereziki gozokiak eta edariak) (1.1. Irudia).



1.1. Irudia – European prozesatutako laboreak eta almidoi merkatuaren aplikazioak [20].

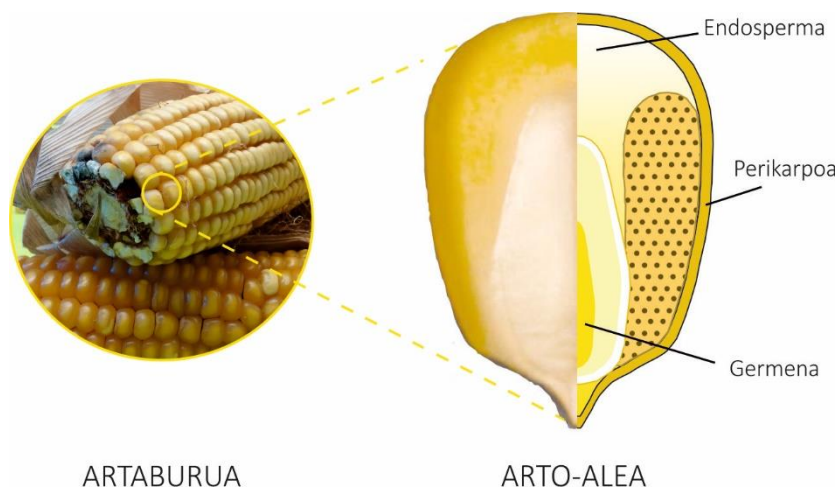
Almidoia bi makromolekula glukosidikoen nahasketaz eratuta dago, amilosa eta amilopektina alegia [11,16,21]. Amilosa,  $\alpha(1-4)$ -d-glikopiranosita unitatez osatutako polisakarido lineala da, amilopektina ordea,  $\alpha(1-4)$  eta  $\alpha(1-6)$  glikopiranosil loturez eratutako polimero adarkatua [3,16,22] eta izaera kristalinoaren arduraduna izanik [17,23–25] (1.2. Irudia). Amilosa eta amilopektinaz gain, almidoi granuluak proteina (%0,1 – %0,7), lipido (<%1,5, gantz azido eta lisofosfolipidoak) eta fosforo (fosfolipido eta fosfato monoesterretan aurkitzen direnak) kantitate txikiez osatuta daude [15].





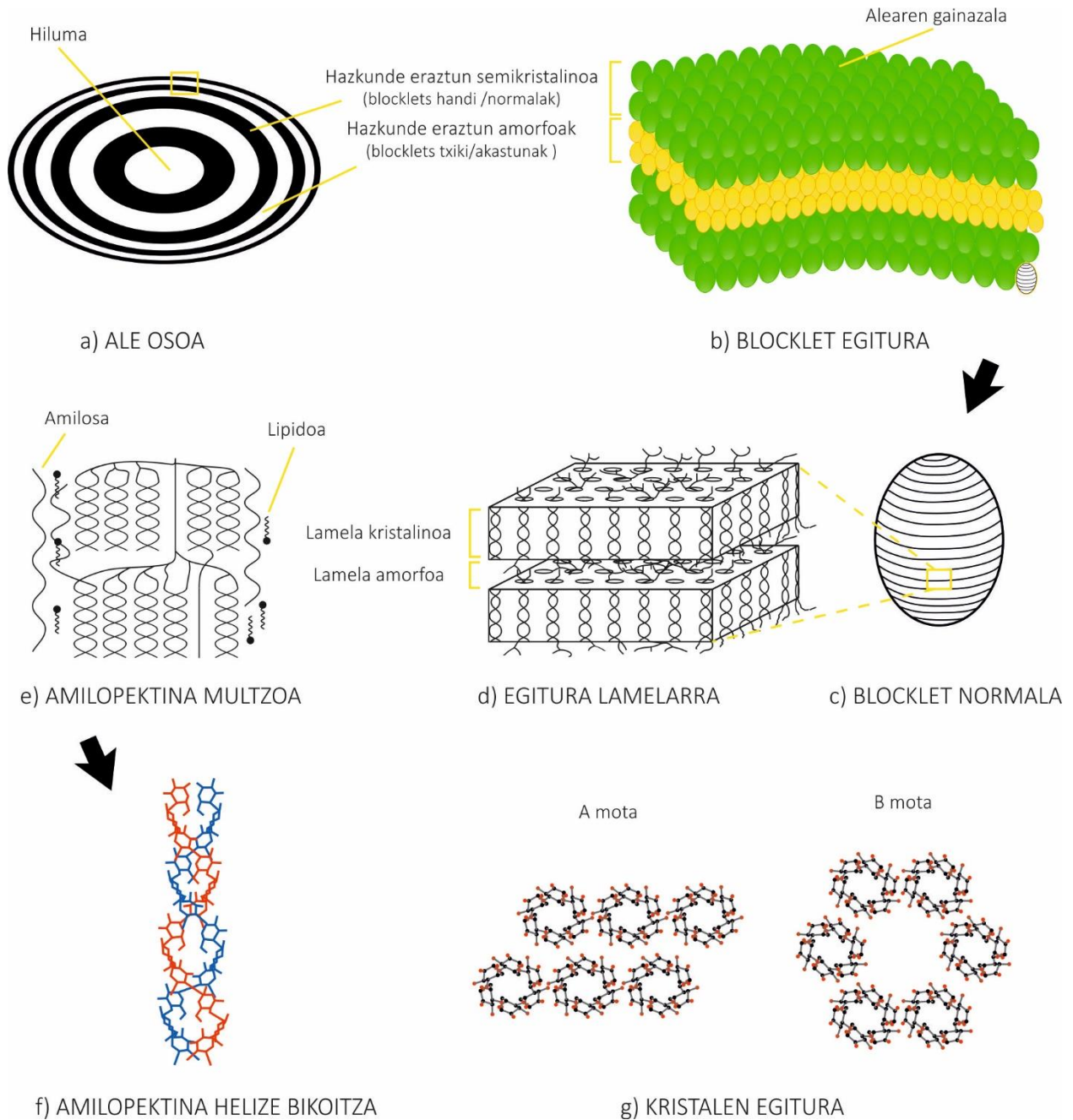
1.2. Irudia – Amilosa eta amilopektinaren egitura kimikoak.

Almidoia zelula begetalen plastoetan granulu egoeran sintetizatzen da, kloroplasto eta amiloplastoetan hain zuzen [15]. Artoaren kasuan, beste zerealetan bezala, almidoia plastidoetan metatzen da, hazien endosperman [26,27] (1.3. Irudian erakusten den moduan). Lortutako granuluen tamaina (diametroa 1  $\mu\text{m}$ -tik 100  $\mu\text{m}$ -tara alda daiteke) eta morfologia (esferikoa, eliptikoa, poligonala, *platelet* itxurakoa edo tubulu irregularrak), baita amilosa/amilopektina erlazioa eta kristalinitatea, jatorri botanikoaren arabekoak dira [15,28–30].



1.3. Irudia – Arto-alearen eskema.

1.4. Irudiak almidoi granularen egitura azaltzen du eta antolakuntza maila desberdinak ilustratzen ditu: granulua, *blocklet* egitura, lamela egitura, amilopektina multzoa, amilopektina helize bikoitza eta kristalaren egitura.



1.4. Irudia – Almidoi granuluaren egitura antolakuntzaren maila desberdinen erudia. a) Granulu osoaren sekzioa hilumatik hedatzen diren txandakatutako hazkude eraztun erdikristalino (beltzak) eta amorfoak (zuriak) erakutsiz. b) *Blocklet* egitura, non, hazkude eraztun erdikristalinoen (*blocklet* berdeak) tamaina hazkude eraztun amorfoetan (*blocklet* horiak) baino handiagoa den. c) Hainbat lamela kristalino eta amorfo aurkezten dituen *blocklet* normala. d) Lamela egitura, bertan amilopektina kateen antolamendua aurkezten delarik. e) Amilopektina multzoa: amilosa eta lipido kokapena amilopektina kateen antolamenduan. f) Amilopektina helize bikoitzaren egitura. g) Amilopektina helize bikoitzaren antolamenduaren goiko bista kristalen egitura desberdinak erakutsiz, A eta B-motako polimorfismoak hain zuzen.

Almidoi granuluen sintesi eta hazkuntza hilumatik hasten da eta bere inguruan txandakatutako hazkuntza eraztun amorfo (oskol erdikristalino edo biguna bezala ezagutzen dena [23,31,32]) eta erdikristalinoak (oskol kristalino edo gogorra [23,31,32]) erazten dira [31] (1.4a. Irudia). Hazkuntza eraztunak hilumetik gertu lodiagoak dira eta meheagoak granularen gainazalean, hazkuntza abiadura konstanteari gehituz doan azalera areagotzearen ondorioz [23,31]. Hala ere, 100 – 400 nm-ko batez besteko lodiera aurkezten dutela kontsideratzen da [31]. Kasu batzuetan, zenbait zerealetan bereziki, granuluen gainazala euren barrualdearekin proteina eta fosfolipidoz betetako kanalen bitartez konektatzen da [31].

Egitura maila altuago batean, Gallant eta kideek [23] *blocklet* kontzeptua proposatu zuten, almidoi granuluetan egiturazko antolaketa maila berri bat deskribatuz (1.4b. Irudia). Horrela, hazkunde eraztun amorfo zein kristalinoak *blocklet* deitzen diren protuberantzia esferikoz eratuta dagoela adierazi zuten. Gainera, eraztun amorfoak *blocklet* txikiez eratuta daudela definitu zuten, eta eraztun erdikristalinoak, aldiz, *blocklet* handiagoez osatuta daudela.

Hamarkada bat beranduago, Tang eta kideek [32] *blocklet* normalak eta akastunak desberdindu zituzten, lehenengoez eraztun erdikristalinoak osatzen dituzte, bigarrenek aldiz eraztun amorfoenak izanik (1.4c. Irudia). *Blocklet* akastunak gutxi adarkatutako molekulen (amilosa eta bitarteko beste substantziak) presentziaren ondorioz erazten dira eta kristalizazioa oztopatzen dute. Eraztun erdikristalinoak aldiz, amilopektina molekula multzoez eratutako *blocklet* normalez eratuta daude.

Ezagutza hau izanik ere, *blocklet* hauen barne egitura ez da oraindik guztiz zehaztu, granuluetatik *blockletak* isolatzeko metodorik ez baita oraindik ezarri [31,32]. Hala ere, gaur egun, *blockleta* hainbat lamela amorfo (3 - 4 nm) eta kristalinoz (5 - 6 nm) osatutako ultraegitura erdikristalinoa dela onartzen da [23,32] (1.4d. Irudia). Lamela amorfoen egitura ez da ia definitu baina adarkatutako amilopektina zonaldeez eratuta dagoela iradokitzen da [23]. Alderantziz, lamela

---

kristalinoak ordenatutako amilopektina helize bikoitzen alboetako kateen multzoez eratuta daude [23] (1.4e. Irudia) zeinak bi kate poliglikosidikoz osatuta dauden [31] (1.4f. Irudia).

Amilopektina helize bikoitzak kristalizatu dezakete eta, horrela, alomorfismo desberdinak lortzen dira [15] (1.4g. Irudia). Berezko almidoi granuluen kristalinitatea oso aztertua izan da X-izpien difrakzio (XRD) teknikaren bidez, eta %15 - 45ko balioa duela determinatu izan da [23,25,33]. Amilopektina helize bikoitzen paketatze desberdinen ondorioz, almidoiaren kristalinitatea polimorfismo desberdinetan bana daiteke, hain zuzen A-, B- eta C-motako kristalinitate patroietan [15,23]. A- (zereal) eta B-motak (tuberkulu) polimorfismo ohikoenak dira, C-mota (lekaleak) aldiz bien arteko konbinazioa izanik [1,24]. A-motako antolamenduak gelaxka monokliniko bat erakusten du, non helize bikoitzak elkarrekin pilatzen diren eta ur molekulek tarteko hutsuneak betetzen dituzten [1,24,25]. Aldiz, B-motako patroian helize bikoitzak bananduta mantentzen dira eta erdiko gunean ura pilatzen da [1,25]. Deskribatutako almidoi granuluen egitura 1.4. Irudian erakusten da.

Aurretik aipatu den bezala, almidoitik eratorritako produktuen desabantailak gainditzeko, bereziki bere izaera hidrofilikoa, portaera mekaniko ahula eta erretrogradazioaren ondorioz ematen den propietateen ezegonkortasuna, honako soluzio bide hauek proposatu dira nonbait: nahasketa polimerikoa, plastifikatzaile desberdinen erabilera eta nanokonpositeen garapena, eraldaketa kimikoa eta saretzea [2–5]. Aipatutako prozesu hauek burutzerakoan, normalean, almidoiaren egitura kristalinoa suntsitzen da disoluzioz edo gelatinizazio prozesuaren bidez, material malguak, erreakzionatzeko gaitasun altukoak edo egonkorak lortzeko, kasuan kasu.

### **1.2.2. Almidoiaren gelatinizazioa**

Almidoian oinarritutako polimeroen prozesatze termikoak hainbat erreakzio kimiko eta fisiko barne hartzen ditu, hain zuzen uraren difusioa, granuluen hedapena, gelatinizazioa, deskonposizioa, urtzea eta kristalizazioa [34]. Horien artean, garrantzi handikoa da gelatinizazio izenaz ezagutzen den

prozesu atzerazina, plastiko biodegradagarriak lortzeko almidoian oinarritutako material gehienek prozesatzearen oinarria baita [34,35].

Bada, almidoia bere jatorrizko forman ez da benetako polimero termoplastikoa [1,28,36,37], bere urte tenperatura degradazio tenperatura baino altuagoa baita [34,38]. Hori dela eta, beharrezkoa da plastifikatzaileak, beroa edota ebakidura indarrak erabiltzea gelatinizazio prozesua bultzatzeko [38] eta prozesatu ahal den materiala lortzeko. Horrela, almidoia plastifikatzaile egoki batekin uraren presentzian nahasten denean, almidoia kateek gelatinizatzeko beharrezko mugikortasuna lortzen dute [39]. Horren ondorioz, almidoia granulak puztu eta eteten dira eta jatorrizko domeinu kristalinoak partzialki edo guztiz suntsitzen dira, birrefringentzia galtzen delarik [40,41] helize bikoitzak eta egitura lamelar kristalinoa desagertzen direlako [39]. Prozesu konplexu honetatik lortzen den materiala plastifikatutako almidoia (PLS) deritzo [42], zeina paketatze aplikazioetan erabilgaitako polimero sintetikoak ordezkatzeko erabilgarria izan daitekeen. Almidoia termoplastikoa (TPS) deritzona gelatinizazioan zehar energia mekanikoa ere aplikatzen denean lortzen da, normalean estrusio teknikaren bidez. Kasu honetan, almidoia gelatinizazioa ebakidura-tentsio mekanikoaren bidez errazten da [39] eta horrek lotura molekularren haustura mekanikoa areagotu dezake kristalinitatearen galtzea eragiten [34,43].

#### 1.2.2.1. Plastifikatzaileak

Almidoia ura eta tenperatura soilik erabiliz gelatinizatzen denean, paketatze aplikazioetarako erabilgarriak ez diren material hauskorrak lortzen dira. Ordea, plastifikatzaile egoki bat gelatinizazio ingurunean gehitzen denean, lortutako materialaren propietate mekaniko eta termikoak nabarmenki hobetzen dira [44], plastifikatzailearen adizioak malgutasuna handitu eta prozesagarritasuna hobetzen baitu [45]. Izan ere, plastifikatzaile egokia erabiltzeak almidoia granuluen haustura eta domeinu kristalinoen suntsipen errazagoa dakar. Gelatinizazioan zehar almidoia hidrogeno lotura inter- eta intramolekularrak almidoia/plastifikatzaile indar intermolekularrengatik ordezkatzeko dira,

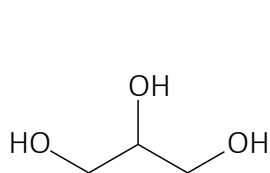
molekularreko bolumen askea eta kateen mugikortasuna handituz, baita beira trantsizio tenperatura ( $T_g$ ) txikituz [45–47].

Horrela, funtsezkoa da plastifikatzaile egoki bat aukeratzea, almidoi granuluen haustura eta materialaren amaierako portaera plastifikatzailearen izaera kimikoa eta edukiaren araberakoa izango baitira [12,47,48]. Bestalde, matrizearekin erakusten duen bateragarritasuna, desio diren propietate fisiko-kimikoak eta kostua kontutan hartu beharreko beste faktore batzuk dira [49].

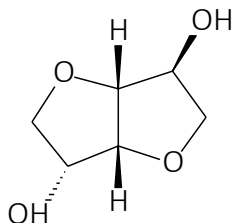
Gelatinizazioa, normalean, almidoi granuluen haustura errazten duten pisu molekular txikiko plastifikatzaileak erabiliz burutzen da. Bere kostu baxu, portaera ez-toxiko eta irakite-puntu altuagatik almidoian oinarritutako materialetan gehien erabiltzen den plastifikatzailea glizerola da, bere egituran hiru talde hidroxilo dituen [36,50–52]. Hala ere, uretan disolbagarriak diren beste gehigarri batzuk plastifikatzaile gisa erabil daitezkeen ere aztertua izan da, hala nola, beste poliolak (xilitola, sorbitola, etilenglikola) [40,41,46,53], azido zitrikoa [53,54], gantz azidoak [46,53,54], urea [41,53] edo formamida [45,53].

Ikerketa lan honetan, pisu molekularrak [49] eta hidroxilo taldeen eskuragarritasunak [48] duten garrantzia kontutan hartuta, D-isosorbida eta 1,3-propanodiola plastifikatzaile gisa aztertu dira beraien eraginkortasuna glizerolarenarekin konparatuz (1.5. Irudia). D-isosorbida (1,4:3,6-dianhidro-D-sorbitola), ondoz ondoko bi tetrahidrofurano eraztunez osatutako alkohol zikliko sekundarioa da, 2 eta 5 posizioetan 2 talde hidroxilo dituelarik. Zelulosa eta almidoitik lortu daiteke, polisakaridoen despolimerizazioa glukosa unitateetan, hidrogenazioa sorbitola lortzeko eta bi urratsetako deshidratazioa barne hartzen duen urrats anitzeko erreazioaren bidez [55]. 1,3-propanodiola, arto azukrearen fermentazioz lortzen da zuzenean. Kosmetika, elikadura, farmazeutika eta ehungintzan erabiltzeaz gain, hainbat polimeroen sintesian ere erabili ohi da, adibidez poliuretano, polieter eta poliester edo konposatu heteroziklikoetan [56–58]. Bi konposatuak almidoi granuluen egitura

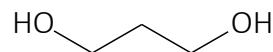
kristalinoaren haustura eragingo dutela eta almidoi-almidoi interakzio inter- eta intramolekularrak murrizteko ahalmena edukiko dutela aurreikusten da,  $T_g$  balioa txikituz.



Glizerola



D-isosorbida



1,3-propanodiola

### 1.5. Irudia – Erabilitako plastifikatzaileen egitura kimikoak.

#### 1.2.2.2. Erretrogradazioa

Almidoian oinarritutako materialen amaierako propietateak ez dira soilik gelatinizazio prozesuaren eta aukeratutako plastifikatzaile mota eta edukiaren arabekoak. Izan ere, plastifikatutako almidoak biltegitratzean zehar erretrogradazioa izeneko fenomeno jasan dezake, hau da, amilosa zein amilopektina makromolekulen berrantolamendua egitura kristalinoaren birsortzea dakarrena [40]. Birkristalizazio honen ondorioz, almidoian oinarritutako materialen propietate mekanikoak aldatu ohi dira, bereziki Youngen modulua handituz [42], zeina almidoian oinarritutako filmen desabantaila nagusia den [59]. Gelatinizazioarekin ematen den antzera, erretrogradazio maila eta bere ondorengo efektua, plastifikatzailearen izaera eta  $T_g$ -ren arabekoak dira [41]. Beraz, kontutan hartzekoa da nahiz eta plastifikatzaile batzuk malguagoak diren materialak eman eta gelatinizazio prozesuan lagungarri izan, almidoizko filmen amaierako propietateen egonkortasun falta ere ekar dezaketela. Horregatik, plastifikatzaile egokia bilatzerakoan, ez dira bakarrik bilatzen diren uneko propietate mekanikoak kontutan hartu behar, plastifikatzaileak erretrogradazioa bultzatu edo eragotziko duen ere kontsideratu behar da.

### 1.2.2.3. Ekoizpen teknikak

Teknologia tradizionalak erabiliz (*solvent casting*, estrusio, konpresio, injekzio eta puztea) biopolimeroetan oinarrituak dauden film lehiakorrak lortzea beharrezkoak da, amaierako aplikazioaren arabera metodo egokiena aukeratuko delarik. *Solvent casting* teknika, zeina suspentsio bat molde batean isurtzean eta disolbatzailearen lurruntzean datzana [60], ikerkuntzan bolumen txikiko laborategiko eskala produkzioak lortzeko prozesu erabiliena da [61,62], ekipamendu merkea eta espazio mugatua behar baititu [63]. Hala ere, ikuspuntu industrial batetik estrusioa edo termomoldeaketa bezalako teknikak erabilgarriagoak dira [60,61] duten kostu baxuarengatik, lehortze denbora luzeak saihestu daitezkeelako eta eskala handiko produkzio jarraituak lor baitaitezke [60,62]. Gainera, estrusio prozesua *solvent casting* teknikarekiko duen nahaste gaitasun bikaina eta operazio malgutasunagatik nabarmentzen da [64]. Hala ere, estrusio bidez lortutako materialen amaierako propietateak operazio baldintzen (temperatura profila edo torloju abiadura) eragina jasan dezaketela kontsideratu behar da [63].

### 1.2.3. Nanokonpositeak

Nanokonpositeak material erabilgarri bezala identifikatu dira jadanik, polisakarido nanokristalak, nanopartikulak edo nanobuztinak bezalako nanoerrefortzuak matrize biopolimerikoetan gehitzerakoan propietate mekaniko, termiko eta hesi propietateak nabarmenki hobetzen baitira. Modu berean, gure kasuan, almidoian oinarritutako matrizean nanoerrefortzu desberdinak sartuz gero, film zein hidrogelen hainbat propietate esanguratsu hobetu daitezkeela pentsa daiteke. Hala ere, nanoerrefortzuaren eragina nanoentitate/matrize interfase aktiboa lortzearen menpekoa da, beraien arteko afinitate ona eta nanoerrefortzuaren dispersio egokiaren baitan egongo dena.



### 1.2.3.1. Polisakarido nanokristalak

Zelulosa, almidoia edo kitina bezalako polisakaridoen domeinu amorfo desordenatuak, kontrolatutako baldintzapean burututako hidrolisi azido bitartez elimina daitezke, zonalde kristalinoak ukigabe utziz [65–67]. Horrela, zonalde kristalinoak tamaina nanometriko eta kristalinitate handiko partikula modura erauzi eta isolatzen dira [67]. Nanokristalen ezaugarriak, hala nola kristalinitate maila, dimentsioak edo geometria, erreakzio baldintzen eta polisakarido motaren arabera dira [66].

Modu honetan, iturri desberdinetatik isolatutako nanokristalek egitura geometriko eta kristalinitate maila desberdinak dituzte [68], eta beraz, bakoitzak berezko propietate eta aplikazioak erakusten dituzte errefortzu agente gisa. Zelulosa nanokristalak (CNC) eta kitina nanokristalak (ChNC) morfologia fibrilarra [65,67,69,70], aspektu erlazio handia eta %88 eta %93ko kristalinitate maila aurkezten dute, hurrenez hurren [67,70]. Beraz, propietate mekanikoen hobekuntzarako hobesten diren nanoentitateak dira. *Waxy* arto almidoi nanokristalak (WSNC) aldiz, *waxy* artotik eratorritakoak dira, *platelet-like* [36,67,68] itxura dute eta %50ko kristalinitate maila [67]. Beraz, beren eragina hesi propietateetan nabariagoa izango dela suposatzen da [67,71].

Lan ugari argitaratu dira CNCekin, eta neurri txikiago batean, kitina eta almidoi nanokristalekin biopolimero desberdinen nanokonpositeetan [14,36,68,72,73]. Hala ere, ikerkuntza gutxi burutu dira polisakarido nanokristal desberdinak elkarrekin erabiliz [68]. Lan honetan, polisakarido nanokristalak errefortzu gisa aukeratu dira, WSNC eta CNC hain zuzen, PLS eta TPS nanokonposite filmen garapenerako eta, gainera, CNCak Diels-Alder (DA) nanokonposite hidrogelen sintesirako.

### 1.2.3.2. Karbonodun nanopartikulak

Aipatutako nanokristalez gain, karbonodun nanopartikulen inkorporazioa, esate baterako karbono beltza, karbono nanotutuak eta grafenoa (G) eta bere deribatuak, polimeroen propietate mekaniko, elektriko eta magnetikoak hobetzeko erabili izan dira [74]. Azken urteotan bereziki, G eta bere deribatuekiko interesa handitzen ari da eta beraz, biopolimero desberdinekin konbinatzen dira filmak, espumak edo hidrogelak garatzeko, propietate mekaniko hobekak dituzten material eroaleak lortzeko [75–79].

G karbonoaren forma alotropiko bat da, non  $sp^2$  lotura duten karbono atomo laminak bi dimentsioko ezti-orraze itxurako sare bidimentsionalean paketatzen diren [80–82]. Beste tekniken artean, G hidrokarburoen bapore jalkin kimikoz, klibaje mikromekanikoz edo grafitoaren esfoliazio bidez lor daiteke [83,84]. Gk propietate optiko, mekaniko eta elektriko paregabeak ditu eta gainazal azalera espezifikoa aurkezten du [85–87]. Gainera, Gk duen izaera antimikrobiarra dela eta, aplikazio biomedikoetan erabiltzeko material bezala nabarmentzen ari da [88]. Hegab eta kideek [89] G duten materialen ahalmen antimikrobiarra G nanoxaflen eta bakteriaz zelula mintzen arteko interakzio fisiko eta kimikoek sortzen dutela frogatu zuten. Mekanismo antimikrobiarra karga-transferentzia eta bakterioen migrazioaren ondorioz sortzen dela dirudi, baita G zeluletan sartzean fosfolipidoak mintzetatik erauzten direlako [88].

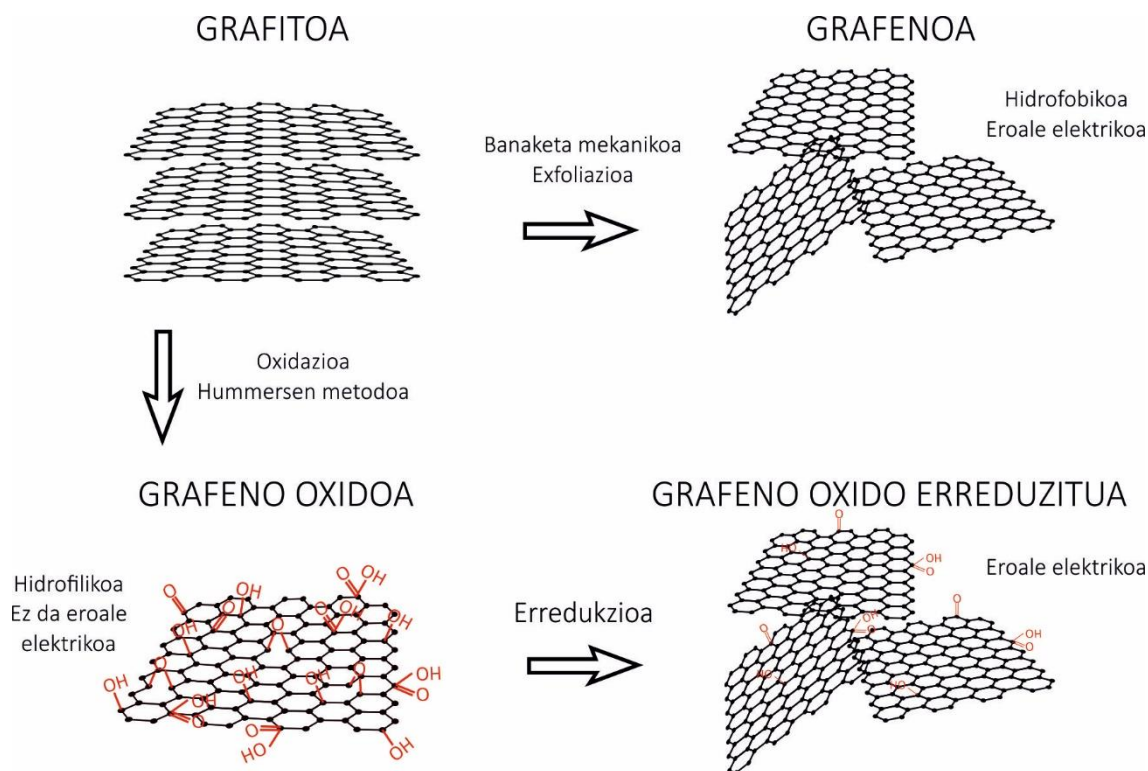
Zoritxarrez, Gk disolbatzaile polarretan eta uretan sakabanatzeko gaitasun baxua aurkezten du [80,85,90], arazo honek Gren erabilpen biomedikoak muga ditzake. Beraz, kasu askotan Gren forma oxidatua, hain zuzen grafeno oxidoa (GO) [91], nanoerrefortzu bezala hobesten da.

Azken urteetan GOk eta erreduzitutako grafeno oxidoak (rGO) arreta irabazi dute nanoerrefortzu bezala hainbat materialen propietate mekaniko eta elektrikoak hobetzeko [86,92,93]. GO, grafitotik lortzen da tratamendu kimiko bortitzen bidez, azido mineral edo agente oxidatzaileen presentzian [93,94]. Hiru dira G oxidatzeko metodo nagusienak: 1) Brodieren metodoa, 2)

Staudenmaieren metodoa eta 3) Hummersen metodoa eta honen deribatuak [93,95,96]. Lan honetan Hummersen metodoa diferentzia txikiekin erabili da, potasio permanganato eta azido sulfurikoa erabiliz [97].

Lortutako GO nanoxaflek Gren egitura aurkezteaz gain, oxigenoa duten talde funtzionalak dituzte (hidroxilo, epoxido, karbonilo edota azido karboxilikoak) plano basalean eta xaflen ertzetan [91,98]. Funtzionalitate hauek GO hidrofiloagoa bihurtzen dute [98], disolbatzaile polarretan eta uretan dispersioa erraztuz eta errefortzu/matrize hidrogeno zubi elkarrekintzak eratuz [90,91], eta ondorioz, matrizean nanoerrefortzuaren dispersio hobea lortzen delarik [80]. GOrekin errefortzatutako almidoian oinarritutako materialen kasuan, almidoiaren hidroxilo taldeen eta aipatutako talde funtzionalen artean hidrogeno elkarrekintza sendoak eratuko direla uste da [86,90]. Hala ere, GO ez da elektrikoki eroalea, egituren aurkezten dituen talde kimiko erreaktibo eta defektuen presentziagatik [99].

GO kimikoki erreduzitzen denean rGO erara, sare hexagonalaren karbono antolamendua ia guztiz eliminatzen da eta  $sp^2$  egitura hibridoa partzialki berrezartzen da, lortutako rGOk eroankortasun elektrikoa aurkezten duelarik [86,100,101]. rGOren propietateak, eroankortasun elektrikoa barne, erredukzio maila eta egitura hibridoa berrezartzeko arrakastaren araberakoa dira [99]. Hain zuzen ere, GO normalean ez da guztiz erreduzitzen, eta ondorioz, rGO gainazalean geratzen diren oxigeno talde funtzionalek polimero/rGO elkarrekintzak oraindik ere eratzea ahalbideratzen dute [86]. 1.6. Irudian grafito eta prestatutako G, GO eta rGOren egituren adierazpenak aurkezten dira. Erredukzio erreakzioan erredukzio agente bezala, besteak beste, hidrazina, sodio hidrosulfito, sodio borohidrato, glukosa eta hidrokina erabili daitezke [87,99,102]. Azken urteetan, C bitamina (azido askorbikoa) ingurumenarekiko errespetuzko erredukzio agente bezala proposatu da rGOren lorpenerako [102].



1.6. Irudia – Grafitotik eratorritako G, GO eta rGO ereduak.

Hala ere, G nanoxafak sistema urtsuetan erabili ahal izateko Gren oxidazioa eta ondorengo erredukzio estrategiaz gain, surfaktante mota desberdinak erabiltzen dituzten beste bide batzuk ere proposatu dira literaturan. Horien artean, beren egituran eraztun fenolikoak dituztenak izaera “grafeno-filiko” dutela jaso da, Grekin eraturako  $\pi$ - $\pi$  elkarrekintzak direla eta, dispersioaren egonkortasuna bermatzen dutelarik [103]. Ildo honi jarraituz, konposatu polifenoliko kontzentrazio handia duten landare estraktu naturalak surfaktante bezala erabil daitezke, uretan beharrezko egonkortasuna lortzeko. Adibidez, *Salvia officinalis* L. landarearen estraktua surfaktante bezala joka dezakeela frogatu izan da bere egitura kimikoan aipaturako talde kimiko espezifikoaren presentziari esker [104]. Gainera, *Salvia*, beste sendabelarren antzera, aktibitate antimikrobiar eta hantura kontrako aurkezten du, aplikazio biomedikoetarako garrantzitsuak diren propietateak hain zuzen [105].

#### 1.2.4. Hidrogelak

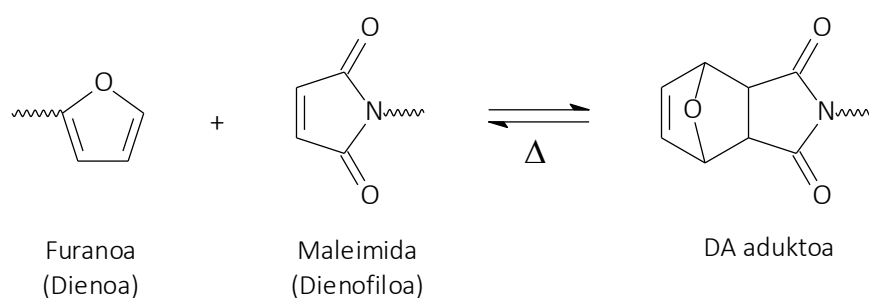
Hidrogelak hiru dimentsioko (3D) sare polimeriko hidrofiliakoak dira, ingurune likidoetan puztu eta ura edo beste isurkin biologikoak gordetzeko ahalmena dutenak, beti ere beraien 3Dko egitura espezifikoak ingurune urtsuan egonkor mantenduz [9,106,107]. Horien artean, *smart hidrogel* deiturikoak materialen berezko propietatez gain beste abantaila batzuk ere badituzte, adibidez, kanpo aldagaien (tenperatura, pH edo eremu elektrikoa) aurrean estimulu erantzuna erakutsi ahal izatea [108]. Esate baterako, botika askapen jarraituko garraiatzaile bezala diseinatutako hidrogelak, kanpo estimulu batzuen aurrean hautatutako tokian eta modu kontrolatu eta ez-inbaditzaile batean botika askatzeko gai dira [109].

Hidrogelak, hidrogel fisiko eta kimikoak bezala sailka daitezke, kate polimerikoen arteko saretze puntuen izaeraren arabera. Hidrogel fisikoetan 3Dko sarea, kateen arteko elkarrekintza ez-kobalenteen bidez eratzen da [8], van der Waals indarren bidez hain zuzen [110]. Hidrogel kimikoak ordea, lotura kobalenteen bidez prestatzen dira, normalean polimero eta pisu molekular baxuko saretzaile baten arteko erreakzioaren bidez [8,107].

##### 1.2.4.1. Diels-Alder ‘klik’ erreakzioa

‘Klik’ kimika, ingurumenarekiko errespetuzko baldintzetan eta biobateragarritasun eta biodegradagarritasun betebeharretan oinarrituta diseinatutako hidrogelak lortzeko estrategia egokia da. ‘Klik’ kimikaren barruan dauden erreakzioen artean, DA erreakzioa arreta irabazten ari da bere hautakortasun, moldakortasun eta etekin handiak direla eta [111]. DA erreakzioa Otto Dielsek eta Kurt Alderrek 1928. urtean definitu zuten lehenengo aldiz. Burututako ikerkuntza lana eskertuz, 1950ean, Kimikako Nobel saria jaso zuten [112]. Harrezkero, kimika organiko arloan sintesi tresna erabilgarrienetako bat bilakatu da [112].

DA erreakzioa dieno eta dienofilo bi taldeen arteko zikloadizio termikoki itzulkorra da [109,113], tenperatura leunetan, azpi-produkturen sorrerarik gabe, ingurune urtsuan eta katalizatzaile edo hasarazleen beharrik gabe ematen delako bereizten da [113,114]. DA ‘klik’ akoplamendu erreakzioa askotan dieno bezala furanoak eta maleimidak dienofilo gisa erabilia burutzen da (1.7. Irudia). Horregatik, DA ‘klik’ hidrogelak garatzeko beharrezkoa da polimeroa modu egokian eta talde kimiko espezifikoekin funtzionalizatua egotea [8].



1.7. Irudia – Furano eta maleimida taldeen arteko DA erreakzioaren eskema.

Zentzu honetan, ‘klik’ hidrogelak sintetizatzeke biopolimeroen erabilera arreta irabazten ari da, haien izaera biodegradagarri, biobaterragarri eta hidrofiloagatik, gainera modifikaziorako edota saretzearen abiapuntu izateko talde funtzional interesgarriak erakusten dituzte [8,30,110].

Almidoiak eraldaketarako egokiak diren hidroxilo talde primario eta sekundarioak ditu funtzionalitate espezifikoak gehitu ahal izateko [8]. Hesse eta kideek [115] eta Liebert eta kideek [116] azido-2-furanoikoaren esterretan oinarritutako polisakarido desberdinen modifikazioak jaso zituzten, horien artean almidoiarekin burututako erreakzioa aurkitzen da. Hala ere, nahiz eta almidoiaren furano bidezko modifikazioa burutua izan den, lan gutxi bildu dira furano taldeez funtzionalizatutako almidoiaren DA erreakzioari dagokionean [117], eta guk dakigun heinean, bat ere ez hidrogelarekin erlazionatutakoak. Jatorrizko almidoiak disolbagarritasun baxua erakusten du azaldutako 3Dko antolamendu kristalino espezifikoagatik, baina bere izaera hidrofiloari esker ur kantitate handiak barneratzeke ahalmena ere badu behin berotzean [118]. Horrela, portaera fisiko-

kimiko eta biologiko espezifikoeekin, almidoia biomedikuntza bezalako hainbat arloetan aplikatu daitezkeen hidrogelak eratzeko biopolimero bikaina dela dirudi [9].

#### 1.2.4.2. Diels-Alder hidrogelak biomedikuntza aplikazioetarako

Hidrogelen erabilerak aplikazio eremu zabala barne hartzen du, hala nola, nekazaritza, uraren purifikazioa, bioteknologia, elikadura gehigarriak, hidrogel eroale elektrikoak eta biosensoreak, kosmetika edo biomedikuntza [30,107,110]. Hala ere, gaur egun, hidrogelen erabilera biomedikoak (*scaffold* biologiko bezala, hezur-birsorkuntzan, diagnostikoan edo botika edo gene askapenean) atentzioa irabazten ari dira [110,119–121].

Jakina da biomedikuntzan propietate biobateragarri eta antimikrobiar oneko eta toxikotasun gabeko biomaterialak behar direla [122]. Gainera, materialek egonkortasun biologiko altua eta sustantzia kimikoeikiko erresistentzia ona erakutsi behar dute gorputzean, baita hobetutako propietate mekanikoak ere [119]. Bestalde, kostua kontutan hartu beharreko beste faktore garrantzitsu bat da aplikazioen etorkizuneko erregulaziorako [9].

Lotura kobalentez eratutako hidrogelen sintesia, orokorrean, erreakzio kimiko konbentzionalen bidez burutzen da, neurrira egindako hidrogelak sortuz. Hala ere, lortutako materialen bateragarritasuna arriskuan egon daiteke erreaktibo toxikoen erabileragatik [109]. Gainera, erreakzio horietako batzuen kasuan erreakzio baldintzak bortitzak dira, albo-erreakzioen arriskuarekin eta etekin balio baxuekin [8,107,123]. Desabantaila hauek garatutako materialen aplikazio eremuak mugatzen ditu [8]. Zentzu honetan 'klik' kimika, eta zehazki DA erreakzioa, aplikazio biomedikoetarako hidrogelak garatzeko estrategia interesgarria da [112,122], aipatu bezala erreakzioa ingurune urtsuan, katalizatzailerik gabe eta erreakzio baldintza leunetan burutu baitaiteke [109,119]. Gainera, lortutako hidrogelek sare egitura egonkorra aurkezten dute [119] eta giza ehunen antzeko propietate mekaniko eta biologikoak [120,122,124].

Azken urteetan, hidrogelen formaziorako proteina (kolagenoa, gelatina) edo polisakaridoak (alginatoa, agarosa, kitosanoa) bezalako hainbat biopolimero erabili izan dira [110] 'klik' kimika erreakzioak direla medio. Yu eta kideek [125] gelatinan oinarritutako hidrogelen lorpena jaso zuten DA erreakzio bidez kartilago ehun-ingeniaritzara zuzenduak. Bestalde, Guaresti eta kideek [126,127] kitosanoan oinarritutako DA hidrogelak lortzeko estrategia desberdinak proposatu zituzten botika askapen aplikazioetarako.

Lan honetan almidoian oinarritutako hidrogelen diseinuan arreta espezifiko jarri da, biomedikuntzaren arloan erabilgarri izan daitezkeen heinean, botika askapen kontrolaturako garraiatzaile bezala edo neurologiaren eremuan eroankortasuna behar duten estaldura biopolimeriko bezala, adibidez. Alde batetik, botika askapen sistemek botika aktibo bat banatu eta askatzeko gaitasuna eduki behar dute albo-efektu minimo, erantzun optimo eta eraginkortasun luzearekin [30]. Botika, kaltetutako zonaldean zuzenean jarduteko zuzenduta egon behar du beste ehun eta organoak kaltetu gabe [30]. Hidrogeletan kargatutako botika kantitatea eta ondorengo askapen eta eraginkortasuna material polimerikoa, amaierako mikroegitura eta porositatea, saretze dentsitatea eta putze ingurunearekin duen afinitatearen menpekota izango da [30,112].

Bestalde, aplikazio neuronalei dagokionez, historikoki erabili diren elektrodoak platino, urre edo platino/iridiaz prestatu izan dira [6]. Hala ere, gaur egun, tamainaz txikiagoak diren eta propietate mekaniko, elektriko eta biologiko hobeak dituzten gailuak beharrezkoak dira. Gainera, interfase neuronaletan erabiltzen diren elektrodo tradizional metalikoek dituzten mugak gainditzeko (injekzio karga txikiak, desberdintasun mekanikoa edo gorputz arrotzekiko erantzuna) [6], zenbait estaldura material ikertzen ari dira, hala nola polimero edo hidrogel eroaleak, estaldura bioaktiboak eta ehun-ingeniaritza bidez lortutako interfase neuronalak. Estrategia hauen artean, karbono nanotutu edo G bezalako karbonodun nanopartikula eroaleak gehituz lortutako hidrogel eroaleak daude [85], beraien egonkortasun dimentsionala mantenduz zenbait baldintzapean elektrikoki eroan



dezaketenak eta biomedikuntza, bioingeniaritza edo kontrolatutako botika askapena bezalako ikerkuntza arloetan erabilgarri direnak [108].

### 1.3. HELBURU OROKORRAK

Tesi honen helburu nagusia almidoian oinarritutako material lehiakorren garapena eta karakterizazioa izan da. Alde batetik, almidoian oinarritutako film eta nanokonposite filmak garatu dira ohiko paketatze materialen ordezkari bezala erabiltzeko helburuarekin. Gainera, saretutako almidoizko nanokonposite hidrogelak diseinatu dira polisakarido nanokristalak eta grafenoa erabiliz, botika askapenerako eta neurologiarekin erlazionatutako eremuetan aplikatzeko asmoz. Aipatutako helburu hauek lortzeko, almidoiak aurkezten dituen zenbait desabantaila gainditu behar dira (izaera hidrofiliako handia, portaera mekaniko eskasa eta erretrogradazioa). Asmo horrekin, plastifikatzaileen erabileran eta nanokonpositeen garapenean jarri da arreta, baita modifikazio eta saretze kimikoan ere. Horrela, ikerkuntza honen helburu espezifikoak honako hauek dira:

- PLS eta TPS filmen lorpena glizerola, D-isosorbida eta 1,3-propanodiola plastifikatzaile bezala erabiliz. Plastifikatzaileak materialen amaierako propietateetan duen eragina aztertu da. Gainera, erretrogradazioak PLS materialetan duen efektua ere analizatu da.
- PLS nanokonpositeen lorpena polisakarido nanokristalak konbinatuz. Lehendabizi, PLS matrizean WSNC eduki desberdinak gehitzeak duen eragina aztertu da. Ondoren, egitura kimiko antzekoa baina geometria desberdineko nanokristalak elkarrekin gehitzeak, WSNC eta CNC alegia, duen efektua ebaluatu da.
- TPS film eta nanokonposite filmak estrusio/konpresio bidez lortzeak duen bideragarritasuna frogatu. Estrusio/konpresio prozesaketa *solvent casting* teknika ordezkatzeko proposatzen da, TPS filmak produkzio eskala handietan eta hobetutako propietateekin lortzeko.

- Karbonodun nanopartikulekin indartutako PLS nanokonpositeen lorpena. Alde batetik, glizerolarekin plastifikatutako matrizean G eta GO eduki desberdinak gehitzeak duen eragina aztertu da. Gainera, GO erreduzitu da azido askorbikoarekin burututako erreakzioaren bidez.
- Furano taldeekin modifikatutako almidoia (S-FI) eta tetramaleimidaren (TTMI) arteko DA nanokonposite hidrogelen sintesia, CNCK errefortzu gisa erabilia. CNC eduki desberdinak gehitu dira, beraien eragina portaera erreologikoan, putze gaitasunean eta morfologian aztertzeko. Gainera, amaierako nanokonposite hidrogelen botika askapen zinetika eta zelulen bideragarritasuna ebaluatu da.
- S-FI eta bismaleimidaren (BMI) arteko DA nanokonposite hidrogelen sintesia, G errefortzu gisa eta *Salvia* estraktuak dispersio egonkortzaile bezala erabilia. Furano/maleimida pisu erlazio desberdinak erabiltzeak hidrogelen portaeran duen eragina analizatu da. Gainera, hidrogelen eroankortasun elektrikoa eta propietate antimikrobiarrak ebaluatu dira.

#### 1.4. ERREFERENTZIAK

- [1] M.N. Belgacem, A. Gandini, Starch: Major sources, properties and applications as thermoplastic materials, in: Monomers, Polym. Compos. from Renew. Resour., 2008: pp. 321–342. dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-045316-3.00015-6.
- [2] F. Xie, E. Pollet, P.J. Halley, L. Avérous, Starch-based nano-biocomposites, Prog. Polym. Sci. 38 (2013) 1590–1628. doi:10.1016/j.progpolymsci.2013.05.002.
- [3] N. Masina, Y.E. Choonara, P. Kumar, L.C. du Toit, M. Govender, S. Indermun, V. Pillay, A review of the chemical modification techniques of starch, Carbohydr. Polym. 157 (2017) 1226–1236. doi:10.1016/j.carbpol.2016.09.094.
- [4] J. Waterschoot, S.V. Gomand, E. Fierens, J.A. Delcour, Starch blends and their physicochemical properties, Starch - Stärke. 67 (2015) 1–13. doi:10.1002/star.201300214
- [5] M. Kaseem, K. Hamad, F. Deri, Thermoplastic starch blends: A review of recent works, Polym. Sci. Ser. A. 54 (2012) 165–176. doi:10.1134/S0965545X1202006X.
- [6] U.A. Aregueta-Robles, A.J. Woolley, L.A. Poole-Warren, N.H. Lovell, R.A. Green, Organic

- electrode coatings for next-generation neural interfaces, *Front. Neuroeng.* 7 (2014) 1–18. doi:10.3389/fneng.2014.00015.
- [7] H.S. Song, O.S. Kwon, J.H. Kim, J. Conde, N. Artzi, 3D hydrogel scaffold doped with 2D graphene materials for biosensors and bioelectronics, *Biosens. Bioelectron.* 89 (2017) 187–200. doi:10.1016/j.bios.2016.03.045.
- [8] C. Xiao, Current advances of chemical and physical starch-based hydrogels, *Starch - Stärke.* 65 (2013) 82–88. doi:10.1002/star.201200113.
- [9] Y. Li, Y. Tan, K. Xu, C. Lu, P. Wang, A biodegradable starch hydrogel synthesized via thiol-ene click chemistry, *Polym. Degrad. Stab.* 137 (2017) 75–82. doi:10.1016/j.polymdegradstab.2016.07.015.
- [10] A. Dufresne, Crystalline starch based nanoparticles, *COCIS* 19 (2014) 397–408. doi:10.1016/j.cocis.2014.06.001.
- [11] K. Zhang, K. Zhang, F. Cheng, Y. Lin, M. Zhou, P. Zhu, Aging properties and hydrophilicity of maize starch plasticized by hyperbranched poly(citrate glyceride), *J. Appl. Polym. Sci.* 136 (2019) 1–8. doi:10.1002/app.46899.
- [12] P. Rychter, M. Kot, K. Bajer, D. Rogacz, A. Šišková, J. Kapuśniak, Utilization of starch films plasticized with urea as fertilizer for improvement of plant growth, *Carbohydr. Polym.* 137 (2016) 127–138. doi:10.1016/j.carbpol.2015.10.051.
- [13] A. Giuri, S. Colella, A. Listorti, A. Rizzo, C. Esposito Corcione, Biodegradable extruded thermoplastic maize starch for outdoor applications, *J. Therm. Anal. Calorim.* 7 (2018). doi:10.1007/s10973-018-7404-7.
- [14] B. Montero, M. Rico, S. Rodríguez-Llamazares, L. Barral, R. Bouza, Effect of nanocellulose as a filler on biodegradable thermoplastic starch films from tuber, cereal and legume, *Carbohydr. Polym.* 157 (2017) 1094–1104. doi:10.1016/j.carbpol.2016.10.073.
- [15] S. Pérez, E. Bertoft, The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review, *Starch - Stärke.* 62 (2010) 389–420. doi:10.1002/star.201000013.
- [16] V.K. Shivaraju, S. Vallayil Appukuttan, S. Kumar, The influence of bound water on the FTIR characteristics of starch and starch nanocrystals obtained from selected natural sources, *Starch - Stärke.* 1700026 (2018) 1–9. doi:10.1002/star.201700026.
- [17] D. Le Corre, A. Dufresne, Starch nanoparticles: A review, *Biomacromolecules* 11 (2010) 1139–1153. doi:10.1021/bm901428y.
- [18] T.N. Prabhu, K. Prashantha, A review on present status and future challenges of starch based polymer films and their composites in food packaging applications, *Polym. Comp.* 39 (2018) 4999–2522. doi:10.1002/pc.24236.
- [19] P.J. Halley, Starch polymers: From the field to industrial products, chapter from *Starch polymers, From Genetic Engineering to Green Applications* (2014) 3–10. doi:10.1016/B978-0-444-53730-0.00018-X.
- [20] www.starch.eu.

- 
- [21] A. Gandini, T.M. Lacerda, A.J.F. Carvalho, E. Trovatti, Progress of polymers from renewable resources: furans, vegetable oils, and polysaccharides, *Chem. Rev.* 116 (2016) 1637–1669. doi:10.1021/acs.chemrev.5b00264.
- [22] J. Ren, K.M. Dang, E. Pollet, L. Avérous, Preparation and characterization of thermoplastic potato starch/halloysite nano-biocomposites: Effect of plasticizer nature and nanoclay content, *Polymers (Basel)*. 10 (2018). doi:10.3390/polym10080808.
- [23] D.J. Gallant, B. Bouchet, P.W. Baldwin, Evidence for a new level of granule organisation, *Carbohydr. Polym.* 32 (1997) 177–191. doi: 10.1016/S0144-8617(97)00008-8.
- [24] A. Imberty, A. Buléon, V. Tran, S. Péerez, Recent advances in knowledge of starch structure, *Starch - Stärke*. 43 (1991) 375–384. doi:10.1002/star.19910431002.
- [25] A. Imberty, H. Chanzy, S. Perez, The double-helical nature of the crystalline Part of A-starch, (1988) 365–378.
- [26] M.G. James, K. Denyer, A.M. Myers, Starch synthesis in the cereal endosperm, *Curr. Opin. Plant Biol.* 6 (2003) 215–222. doi:10.1016/S1369-5266(03)00042-6.
- [27] J.S. Jeon, N. Ryoo, T.R. Hahn, H. Walia, Y. Nakamura, Starch biosynthesis in cereal endosperm, *Plant Physiol. Biochem.* 48 (2010) 383–392. doi:10.1016/j.plaphy.2010.03.006.
- [28] N.L. García, L. Ribba, A. Dufresne, M. Aranguren, S. Goyanes, Effect of glycerol on the morphology of nanocomposites made from thermoplastic starch and starch nanocrystals, *Carbohydr. Polym.* 84 (2011) 203–210. doi:10.1016/j.carbpol.2010.11.024.
- [29] B. Khan, M. Bilal, K. Niazi, G. Samin, Z. Jahan, Thermoplastic starch: a possible biodegradable food packaging material - A review, *Journal of Food Process Engineering* 40 (2017) 1–17. doi:10.1111/jfpe.12447.
- [30] H. Ismail, M. Irani, Z. Ahmad, Starch-based hydrogels: Present status and applications, *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.* 62 (2013) 411–420. doi:10.1080/00914037.2012.719141.
- [31] E. Bertoft, Understanding starch structure: Recent progress, *Agronomy*. 7 (2017) 56. doi:10.3390/agronomy7030056.
- [32] H. Tang, T. Mitsunaga, Y. Kawamura, Molecular arrangement in blocklets and starch granule architecture, *Carbohydr. Polym.* 63 (2006) 555–560. doi:10.1016/j.carbpol.2005.10.016.
- [33] J.-L. Jane, J.F. Robyt, H. Zobel, S. Leas, T. Kasemsuwan, Anthology of starch granule morphology by scanning electron microscopy, *Starch - Stärke*. 46 (2006) 121–129. doi:10.1002/star.19940460402.
- [34] H. Liu, F. Xie, L. Yu, L. Chen, L. Li, Thermal processing of starch-based polymers, *Prog. Polym. Sci.* 34 (2009) 1348–1368. doi:10.1016/j.progpolymsci.2009.07.001.
- [35] H. Liu, L. Yu, F. Xie, L. Chen, Gelatinization of cornstarch with different amylose/amylopectin content, *Carbohydr. Polym.* 65 (2006) 357–363. doi:10.1016/j.carbpol.2006.01.026.
- [36] H. Angellier, S. Molina-Boisseau, P. Dole, A. Dufresne, Thermoplastic starch - Waxy maize starch nanocrystals nanocomposites, *Biomacromolecules*. 7 (2006) 531–539.
-

doi:10.1021/bm050797s.

- [37] J. Vigiú, S. Molina-Boisseau, A. Dufresne, Processing and characterization of waxy maize starch films plasticized by sorbitol and reinforced with starch nanocrystals, *Macromol. Biosci.* 7 (2007) 1206–1216. doi:10.1002/mabi.200700136.
- [38] S.C. Lara, F. Salcedo, Gelatinization and retrogradation phenomena in starch/montmorillonite nanocomposites plasticized with different glycerol/water ratios, *Carbohydr. Polym.* 151 (2016) 206–212. doi:10.1016/j.carbpol.2016.05.065.
- [39] A. Taghizadeh, B.D. Favis, Effect of high molecular weight plasticizers on the gelatinization of starch under static and shear conditions, *Carbohydr. Polym.* 92 (2013) 1799–1808. doi:10.1016/j.carbpol.2012.11.018.
- [40] D. Battagazzore, S. Bocchini, G. Nicola, E. Martini, A. Frache, Isosorbide, a green plasticizer for thermoplastic starch that does not retrograde, *Carbohydr. Polym.* 119 (2015) 78–84. doi:10.1016/j.carbpol.2014.11.030.
- [41] H. Schmitt, A. Guidez, K. Prashantha, J. Soulestin, M.F. Lacrampe, P. Krawczak, Studies on the effect of storage time and plasticizers on the structural variations in thermoplastic starch, *Carbohydr. Polym.* 115 (2015) 364–372. doi:10.1016/j.carbpol.2014.09.004.
- [42] L. Averous, E. Pollet, Nanobiocomposites based on plasticized starch, chapter from *Starch polymers, From Genetic Engineering to Green Applications 2014*. doi:10.1016/B978-0-444-53730-0.00028-2.
- [43] L.-F. Wen, P. Rodis, B.P. Wasserman, Starch fragmentation and protein insolubilization during twin-screw extrusion of corn meal, *Cereal Chem.* 67 (1990) 268–275.
- [44] P.A. Sreekumar, M.A. Al-harhi, Effect of glycerol on thermal and mechanical properties of polyvinyl alcohol/Starch blends, *J. Appl. Polym. Sci.* 123 (2012) 135–142. doi:10.1002/app.34465.
- [45] X. Tang, S. Alavi, Recent advances in starch, polyvinyl alcohol based polymer blends, nanocomposites and their biodegradability, *Carbohydr. Polym.* 85 (2011) 7–16. doi:10.1016/j.carbpol.2011.01.030.
- [46] T. Mekonnen, P. Mussone, H. Khalil, D. Bressler, Progress in bio-based plastics and plasticizing modifications, *J. Mater. Chem. A.* 1 (2013) 13379–13398. doi:10.1039/c3ta12555f.
- [47] M.L. Sanyang, S.M. Sapuan, M. Jawaid, M.R. Ishak, J. Sahari, Effect of plasticizer type and concentration on physical properties of biodegradable films based on sugar palm (*arenga pinnata*) starch for food packaging, *J. Food Sci. Technol.* 53 (2016) 326–336. doi:10.1007/s13197-015-2009-7.
- [48] A.L. Da Róz, A.J.F. Carvalho, A. Gandini, A.A.S. Curvelo, The effect of plasticizers on thermoplastic starch compositions obtained by melt processing, *Carbohydr. Polym.* 63 (2006) 417–424. doi:10.1016/j.carbpol.2005.09.017.
- [49] M.G.A. Vieira, M.A. da Silva, L.O. dos Santos, M.M. Beppu, Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review, *Eur. Polym. J.* 47 (2011) 254–263. doi:10.1016/j.eurpolymj.2010.12.011.

- 
- [50] M.A. Bertuzzi, E.F. Castro Vidaurre, M. Armada, J.C. Gottifredi, Water vapor permeability of edible starch based films, *J. Food Eng.* 80 (2007) 972–978. doi:10.1016/j.jfoodeng.2006.07.016.
- [51] N.L. García, L. Ribba, A. Dufresne, M.I. Aranguren, S. Goyanes, Physico-mechanical properties of biodegradable starch nanocomposites physico-mechanical properties of biodegradable starch nanocomposites, *Macromol. Mater. Eng.* 294 (2009) 169–177. doi:10.1002/mame.200800271.
- [52] Q. Yan, H. Hou, P. Guo, H. Dong, Effects of extrusion and glycerol content on properties of oxidized and acetylated corn starch-based films, *Carbohydr. Polym.* 87 (2012) 707–712. doi:10.1016/j.carbpol.2011.08.048.
- [53] M.B.K. Niazi, M. Zijlstra, A.A. Broekhuis, Influence of plasticizer with different functional groups on thermoplastic starch, *J. Appl. Polym. Sci.* (2015). doi:10.1002/app.42012.
- [54] A.M. Nafchi, M. Moradpour, M. Saeidi, A.K. Alias, Thermoplastic starches: Properties, challenges, and prospects, *Starch - Stärke.* 65 (2013) 61–72. doi:10.1002/star.201200201.
- [55] M. Rose, R. Palkovits, Isosorbide as a renewable platform chemical for versatile applications — Quo Vadis ?, *ChemSusChem.* 5 (2012) 167–176. doi:10.1002/cssc.201100580.
- [56] N. Vivek, A. Pandey, P. Binod, Biological valorization of pure and crude glycerol into 1,3-propanediol using a novel isolate *Lactobacillus brevis* N1E9.3.3, *Bioresour. Technol.* 213 (2016) 222–230. doi:10.1016/j.biortech.2016.02.020.
- [57] C.S. Lee, M.K. Aroua, W.M.A.W. Daud, P. Cognet, Y. Pérès-Lucchese, P. Fabre, O. Reynes, L. Latapie, A review: Conversion of bioglycerol into 1,3-propanediol via biological and chemical method, *Renew. Sustain. Energy Rev.* 42 (2015) 963–972. doi:10.1016/j.rser.2014.10.033.
- [58] M.B.K. Niazi, A.A. Broekhuis, Production of amorphous starch powders by solution spray Drying, *J. Appl. Polym. Sci.* 126 (2012) 143–153. doi:10.1002/app.36551.
- [59] A. Jiménez, M.J. Fabra, P. Talens, A. Chiralt, Effect of re-crystallization on tensile, optical and water vapour barrier properties of corn starch films containing fatty acids, *Food Hydrocoll.* 26 (2012) 302–310. doi:10.1016/j.foodhyd.2011.06.009.
- [60] J.O. De Moraes, A.S. Scheibe, A. Sereno, J.B. Laurindo, Scale-up of the production of cassava starch based films using tape-casting, *J. Food Eng.* 119 (2013) 800–808. doi:10.1016/j.jfoodeng.2013.07.009.
- [61] C.P.B. Melo, M.V.E. Grossmann, F. Yamashita, E.Y. Youssef, L.H. Dall’Antônia, S. Mali, Effect of manufacturing process and xanthan gum addition on the properties of cassava starch films, *J. Polym. Environ.* 19 (2011) 739–749. doi:10.1007/s10924-011-0325-1.
- [62] M.C. Galdeano, M.V.E. Grossmann, S. Mali, L.A. Bello-Perez, M.A. Garcia, P.B. Zamudio-Flores, Effects of production process and plasticizers on stability of films and sheets of oat starch, *Mater. Sci. Eng. C.* 29 (2009) 492–498. doi:10.1016/j.msec.2008.08.031.
- [63] O.O. Yepes, L. Di Goglio, S. Goyanes, A. Mauri, L. Famá, Influence of process (extrusion/thermo-compression, casting) and lentil protein content on physicochemical properties of starch films, *Carbohydr. Polym.* 14 (2018) 291–305.
-

doi:10.1016/j.carbpol.2018.12.030.

- [64] P. González-Seligra, L. Guz, O. Ochoa-Yepes, S. Goyanes, L. Famá, Influence of extrusion process conditions on starch film morphology, *LWT - Food Sci. Technol.* 84 (2017) 520–528. doi:10.1016/j.lwt.2017.06.027.
- [65] Y. Habibi, L.A. Lucia, O.J. Rojas, Cellulose nanocrystals: Chemistry, self-assembly, and applications, *Chem. Rev.* 110 (2010) 3479–3500. doi:10.1021/cr900339w.
- [66] N. Lin, J. Huang, P.R. Chang, D.P. Anderson, J. Yu, Preparation, modification, and application of starch nanocrystals in nanomaterials: A review, *J. Nanomater.* 2011 (2011). doi:10.1155/2011/573687.
- [67] N. Lin, J. Huang, A. Dufresne, Preparation, properties and applications of polysaccharide nanocrystals in advanced functional nanomaterials: a review, *Nanoscale.* 4 (2012) 3274–3294. doi:10.1039/c2nr30260h.
- [68] Y. Wang, H. Tian, L. Zhang, Role of starch nanocrystals and cellulose whiskers in synergistic reinforcement of waterborne polyurethane, *Carbohydr. Polym.* 80 (2010) 665–671. doi:10.1016/j.carbpol.2009.10.043.
- [69] A. Saralegi, L. Rueda, L. Martin, A. Arbelaiz, A. Eceiza, M.A. Corcuera, From elastomeric to rigid polyurethane/cellulose nanocrystal bionanocomposites, *Compos. Sci. Technol.* 88 (2013) 39–47. doi:10.1016/j.compscitech.2013.08.025.
- [70] T. Calvo-Correas, P. Garrido, A. Alonso-Varona, T. Palomares, M.A. Corcuera, A. Eceiza, Biocompatible thermoresponsive polyurethane bionanocomposites with chitin nanocrystals, *J. Appl. Polym. Sci.* 136 (2019) 1–12. doi:10.1002/app.47430.
- [71] D. Lecorre, J. Bras, A. Dufresne, Influence of native starch's properties on starch nanocrystals thermal properties, *Carbohydr. Polym.* 87 (2012) 658–666. doi:10.1016/j.carbpol.2011.08.042.
- [72] A.P.M. Silva, A.V. Oliveira, S.M.A. Pontes, A.L.S. Pereira, M. de sá M. Souza Filho, M.F. Rosa, H.M.C. Azeredo, Mango kernel starch films as affected by starch nanocrystals and cellulose nanocrystals, *Carbohydr. Polym.* 211 (2019) 209–216. doi:10.1016/j.carbpol.2019.02.013.
- [73] A.M. Salaberria, R.H. Diaz, J. Labidi, S.C.M. Fernandes, Role of chitin nanocrystals and nanofibers on physical, mechanical and functional properties in thermoplastic starch films, *Food Hydrocoll.* 46 (2015) 93–102. doi:10.1016/j.foodhyd.2014.12.016.
- [74] R. Arrigo, V. Marona, L. Magagnin, G. Zerillo, M. Sansotera, E. Morici, N.T. Dintcheva, W. Navarrini, High performance composites containing perfluoropolyethers-functionalized carbon-based nanoparticles: Rheological behavior and wettability, *Compos. Part B Eng.* 95 (2016) 29–39. doi:10.1016/j.compositesb.2016.03.095.
- [75] B. Gao, J. Mei, Y. Ma, G. Yuan, L. Ren, Environmental-friendly assembly of functional graphene hydrogels with excellent antibacterial properties, *Chemistry Select.* 2 (2017) 7474–7482. doi:10.1002/slct.201701419.
- [76] H.N. Lim, N.M. Huang, C.H. Loo, Facile preparation of graphene-based chitosan films: Enhanced thermal, mechanical and antibacterial properties, *J. Non. Cryst. Solids.* 358 (2012)

- 525–530. doi:10.1016/j.jnoncrysol.2011.11.007.
- [77] A. Riaz, A. Usman, Z. Hussain, Synthesis of 4, 4'-stilbene dicarboxylic acid and aniline modified graphene oxide and its electrochemical performance for supercapacitors, *Int. J. Electrochem. Sci.* 11 (2016) 1099–1110.
- [78] L. Ugarte, S. Gómez-Fernández, A. Tercjak, A. Martínez-Amesti, M.A. Corcuera, A. Eceiza, Strain sensitive conductive polyurethane foam/graphene nanocomposites prepared by impregnation method, *Eur. Polym. J.* 90 (2017) 323–333. doi:10.1016/j.eurpolymj.2017.03.035.
- [79] S. Wang, J. Wang, W. Zhang, J. Ji, Y. Li, G. Zhang, F. Zhang, X. Fan, Ethylenediamine modified graphene and its chemically responsive supramolecular hydrogels, *Ind. Eng. Chem. Res.* 53 (2014) 13205–13209. doi:10.1021/ie501448p.
- [80] C.D. Grande, J. Mangadlao, J. Fan, A. De Leon, J. Delgado-Ospina, J.G. Rojas, D.F. Rodrigues, R. Advincula, Chitosan cross-linked graphene oxide nanocomposite films with antimicrobial activity for application in food industry, *Macromol. Symp.* 374 (2017) 1–8. doi:10.1002/masy.201600114.
- [81] H. Ji, H. Sun, X. Qu, Antibacterial applications of graphene-based nanomaterials: Recent achievements and challenges, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 105 (2016) 176–189. doi:10.1016/j.addr.2016.04.009.
- [82] P. Zheng, T. Ma, X. Ma, Fabrication and properties of starch-grafted graphene nanosheet/plasticized-starch composites, *Ind. Eng. Chem. Res.* 52 (2013) 14201–14207. doi:10.1021/ie402220d.
- [83] F.T. Johra, J.W. Lee, W.G. Jung, Facile and safe graphene preparation on solution based platform, *J. Ind. Eng. Chem.* 20 (2014) 2883–2887. doi:10.1016/j.jiec.2013.11.022.
- [84] P.-P. Zuo, H.-F. Feng, Z.-Z. Xu, L.-F. Zhang, Y.-L. Zhang, W. Xia and W.-Q. Zhang, Fabrication of biocompatible and mechanically reinforced graphene oxide-chitosan nanocomposite films, *Chem. Cent. J.* 7 (2013) 1–11. doi: 10.1186/1752-153X-7-39.
- [85] S. Ganguly, D. Ray, P. Das, P.P. Maity, S. Mondal, V.K. Aswal, S. Dhara, N.C. Das, Mechanically robust dual responsive water dispersible-graphene based conductive elastomeric hydrogel for tunable pulsatile drug release, *Ultrason. Sonochem.* 42 (2018) 212–227. doi:10.1016/j.ultsonch.2017.11.028.
- [86] T. Ma, P.R. Chang, P. Zheng, X. Ma, The composites based on plasticized starch and graphene oxide/reduced graphene oxide, *Carbohydr. Polym.* 94 (2013) 63–70. doi:10.1016/j.carbpol.2013.01.007.
- [87] H. Bai, Q. Zhang, T. Zhou, Q. Fu, H. Deng, C. Tang, F. Chen, The preparation of high performance and conductive poly (vinyl alcohol)/graphene nanocomposite via reducing graphite oxide with sodium hydrosulfite, *Compos. Sci. Technol.* 71 (2011) 1266–1270. doi:10.1016/j.compscitech.2011.04.016.
- [88] L. Pang, C. Dai, L. Bi, Z. Guo, J. Fan, Biosafety and antibacterial ability of graphene and graphene oxide in vitro and in vivo, *Nanoscale Research Letters* 12 (2017) 1–9. doi:10.1186/s11671-017-2317-0.



- [89] H.M. Hegab, A. Elmekawy, L. Zou, D. Mulcahy, C.P. Saint, M. Ginic-markovic, The controversial antibacterial activity of graphene-based materials, *Carbon N. Y.* 105 (2016) 362–376. doi:10.1016/j.carbon.2016.04.046.
- [90] R. Li, C. Liu, J. Ma, Studies on the properties of graphene oxide-reinforced starch biocomposites, *Carbohydr. Polym.* 84 (2011) 631–637. doi:10.1016/j.carbpol.2010.12.041.
- [91] A. Usman, Z. Hussain, A. Riaz, A.N. Khan, Enhanced mechanical, thermal and antimicrobial properties of poly(vinyl alcohol)/graphene oxide/starch/silver nanocomposites films, *Carbohydr. Polym.* 153 (2016) 592–599. doi:10.1016/j.carbpol.2016.08.026.
- [92] Y. Feng, X. Zhang, Y. Shen, K. Yoshino, W. Feng, A mechanically strong, flexible and conductive film based on bacterial cellulose/graphene nanocomposite, *Carbohydr. Polym.* 87 (2012) 644–649. doi:10.1016/j.carbpol.2011.08.039.
- [93] J.R. Potts, D.R. Dreyer, C.W. Bielawski, R.S. Ruoff, Graphene-based polymer nanocomposites, *Polymer (Guildf.)* 52 (2011) 5–25. doi:10.1016/j.polymer.2010.11.042.
- [94] E.C. Romani, S. Nardecchia, C. Vilani, S. Qi, H. Dong, F.L. Freire, Synthesis and characterization of polyurethane/reduced graphene oxide composite deposited on steel, *J. Coatings Technol. Res.* 15 (2018) 1371–1377. doi:10.1007/s11998-018-0088-x.
- [95] W. Gao, The chemistry of graphene oxide, *Graphene Oxide Reduct. Recipes, Spectrosc. Appl.* (2015) 61–95. doi:10.1007/978-3-319-15500-5\_3.
- [96] T.B. Rouf, J.L. Kokini, Biodegradable biopolymer–graphene nanocomposites, *J. Mater. Sci.* 51 (2016) 9915–9945. doi:10.1007/s10853-016-0238-4.
- [97] J.Ri.E.O. William S. Hummers, Preparation of graphitic oxide, *J. Am. Chem. Soc.* 80 (1958) 1339–1339.
- [98] J. Guerrero-Contreras, F. Caballero-Briones, Graphene oxide powders with different oxidation degree, prepared by synthesis variations of the Hummers method, *Mater. Chem. Phys.* 153 (2015) 209–220. doi:10.1016/j.matchemphys.2015.01.005.
- [99] M.F. Zainuddin, N.H. Nik Raikhan, N.H. Othman, W.F.H. Abdullah, Synthesis of reduced Graphene Oxide (rGO) using different treatments of Graphene Oxide (GO), *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.* 358 (2018). doi:10.1088/1757-899X/358/1/012046.
- [100] I. Kanayama, H. Miyaji, H. Takita, E. Nishida, M. Tsuji, B. Fugetsu, L. Sun, K. Inoue, A. Ibara, T. Akasaka, T. Sugaya, M. Kawanami, Comparative study of bioactivity of collagen scaffolds coated with graphene oxide and reduced graphene oxide, *Int. J. Nanomedicine* 9 (2014) 3363–3373. doi:10.2147/IJN.S62342.
- [101] L. Nguyen Dang, J. Seppälä, Electrically conductive nanocellulose/graphene composites exhibiting improved mechanical properties in high-moisture condition, *Cellulose* 22 (2015) 1799–1812. doi:10.1007/s10570-015-0622-2.
- [102] L. Guardia, J.I. Paredes, P. Solı, J.M.D. Tasco, Vitamin C is an ideal substitute for hydrazine in the reduction of graphene oxide suspensions *J. Phys. Chem. C* 114, (2010) 6426–6432.
- [103] A. Mohamed, T. Ardyani, S. Abu Bakar, M. Sagisaka, Y. Umetsu, J.J. Hamon, B.A. Rahim, S.R. Esa, H.P.S. Abdul Khalil, M.H. Mamat, S. King, J. Eastoe, Rational design of aromatic

- surfactants for graphene/natural rubber latex nanocomposites with enhanced electrical conductivity, *J. Colloid Inter. Sci.* 516 (2018) 34–47. doi:10.1016/j.jcis.2018.01.041.
- [104] A. Santamaria-Echart, I. Fernandes, F. Barreiro, A. Retegi, A. Arbelaiz, M.A. Corcuera, A. Eceiza, Development of waterborne polyurethane-ureas added with plant extracts: Study of different incorporation routes and their influence on particle size, thermal, mechanical and antibacterial properties, *Prog. Org. Coatings.* 117 (2018) 76–90. doi:10.1016/j.porgcoat.2018.01.006.
- [105] N. Martins, L. Barros, C. Santos-Buelga, M. Henriques, S. Silva, I.C.F.R. Ferreira, Evaluation of bioactive properties and phenolic compounds in different extracts prepared from *Salvia officinalis* L., *Food Chem.* 170 (2014) 378–385. doi:10.1016/j.foodchem.2014.08.096.
- [106] E.S. Dragan, Design and applications of interpenetrating polymer network hydrogels, *Chem. Eng. J.* 243 (2014) 572–590.
- [107] F. Ullah, M. Bisyrul Hafi Othman, F. Javed, A. Zulkifli, H. Akil, Classification, processing and application of hydrogels: A review, *Mater. Sci. Eng. C.* 57 (2015) 414–433. doi:10.1016/j.msec.2015.07.053.
- [108] X. Liang, B. Qu, J. Li, H. Xiao, B. He, L. Qian, Preparation of cellulose-based conductive hydrogels with ionic liquid, *React. Funct. Polym.* 86 (2015) 1–6. doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2014.11.002.
- [109] C. García-Astrain, L. Avérous, Synthesis and evaluation of functional alginate hydrogels based on click chemistry for drug delivery applications, *Carbohydr. Polym.* 190 (2018) 271–280. doi:10.1016/j.carbpol.2018.02.086.
- [110] E.M. Ahmed, Hydrogel: Preparation, characterization, and applications, *J. Adv. Res.* 6 (2015) 105–121. doi:10.1016/j.jare.2013.07.006.
- [111] K.S. Anseth, H.-A. Klok, Click chemistry in biomaterials, nanomedicine, and drug delivery, *Biomacromolecules.* 17 (2016) 1–3. doi:10.1021/acs.biomac.5b01660.
- [112] M. Gregoritz, F.P. Brandl, The Diels-Alder reaction: A powerful tool for the design of drug delivery systems and biomaterials, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 97 (2015) 438–453. doi:10.1016/j.ejpb.2015.06.007.
- [113] A. Gandini, The furan / maleimide Diels – Alder reaction: A versatile click – unclick tool in macromolecular synthesis, *Prog. Polym. Sci.* 38 (2013) 1–29. doi:10.1016/j.progpolymsci.2012.04.002.
- [114] C. García-astrain, R. Hernández, O. Guaresti, L. Fruk, C. Mijangos, A. Eceiza, N. Gabilondo, Click crosslinked chitosan/gold nanocomposite hydrogels, *Macromol. J.* 301 (2016) 1295–1300.
- [115] S. Hesse, T. Liebert, T. Heinze, Studies on the film formation of polysaccharide based furan-2-carboxylic acid esters, *Macromol. Symp.* 232 (2006) 57–67. doi:10.1002/masy.200551407.
- [116] T.F. Liebert, T. Heinze, Tailored cellulose esters: Synthesis and structure determination, *Biomacromolecules* 6 (2005) 333–340. doi:10.1021/bm049532o.
- [117] T.S. Nossa, N.M. Belgacem, A. Gandini, A.J.F. Carvalho, Thermoreversible crosslinked

- thermoplastic starch, *Polym. Int.* 64 (2015) 1366–1372. doi:10.1002/pi.4925.
- [118] N. Abhari, A. Madadlou, A. Dini, O. H. Naveh, Textural and cargo release attributes of trisodium citrate cross-linked starch hydrogel, *Food Chem.* 214 (2017) 16–24. doi:10.1016/j.foodchem.2016.07.042.
- [119] S. Li, J. Yi, X. Yu, H. Shi, J. Zhu, L. Wang, Preparation and characterization of acid resistant double cross-linked hydrogel for potential biomedical applications, *ACS Biomater. Sci. Eng.* 4 (2018) 872–883. doi:10.1021/acsbiomaterials.7b00818.
- [120] X. Bai, S. Lü, Z. Cao, B. Ni, X. Wang, P. Ning, D. Ma, H. Wei, M. Liu, Dual crosslinked chondroitin sulfate injectable hydrogel formed via continuous Diels-Alder (DA) click chemistry for bone repair, *Carbohydr. Polym.* 166 (2017) 123–130. doi:10.1016/j.carbpol.2017.02.062.
- [121] M. Montiel-Herrera, A. Gandini, F.M. Goycoolea, N.E. Jacobsen, J. Lizardi-Mendoza, M. Recillas-Mota, W.M. Argüelles-Monal, N-(furfural) chitosan hydrogels based on Diels-Alder cycloadditions and application as microspheres for controlled drug release, *Carbohydr. Polym.* 128 (2015) 220–227. doi:10.1016/j.carbpol.2015.03.052.
- [122] G. Wang, J. Zhu, X. Chen, H. Dong, Q. Li, L. Zeng, X. Cao, Alginate based antimicrobial hydrogels formed by integrating Diels-Alder “click chemistry” and the thiol-ene reaction, *RSC Adv.* 8 (2018) 11036–11042. doi:10.1039/c8ra00668g.
- [123] M. Fan, Y. Ma, Z. Zhang, J. Mao, H. Tan, X. Hu, Biodegradable hyaluronic acid hydrogels to control release of dexamethasone through aqueous Diels-Alder chemistry for adipose tissue engineering, *Mater. Sci. Eng. C.* 56 (2015) 311–317. doi:10.1016/j.msec.2015.04.004.
- [124] C. García-Astrain, I. Ahmed, D. Kendziora, O. Guaresti, A. Eceiza, L. Fruk, M.A. Corcuera, N. Gabilondo, P. Yang, I.K. Kwon, J.M. Greneche, Effect of maleimide-functionalized gold nanoparticles on hybrid biohydrogels properties, *RSC Adv.* 5 (2015) 50268–50277. doi:10.1039/C5RA06806A.
- [125] F. Yu, X. Cao, L. Zeng, Q. Zhang, X. Chen, An interpenetrating HA/G/CS biomimic hydrogel via Diels-Alder click chemistry for cartilage tissue engineering, *Carbohydr. Polym.* 97 (2013) 188–195. doi:10.1016/j.carbpol.2013.04.046.
- [126] O. Guaresti, C. García-Astrain, R.H. Aguirresarobe, A. Eceiza, N. Gabilondo, Synthesis of stimuli-responsive chitosan-based hydrogels by Diels-Alder cross-linking ‘click’ reaction as potential carriers for drug administration, *Carbohydr. Polym.* 183 (2018) 278–286. doi:10.1016/j.carbpol.2017.12.034.
- [127] O. Guaresti, C. García-Astrain, T. Palomares, A. Alonso-Varona, A. Eceiza, N. Gabilondo, Synthesis and characterization of a biocompatible chitosan-based hydrogel cross-linked via ‘click’ chemistry for controlled drug release, *Int. J. Biol. Macromol.* 102 (2017) 1–9. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.04.003.

## **2. KAPITULUA:**

### **MATERIALAK ETA KARAKTERIZAZIO TEKNIKAK**



## 2. MATERIALAK ETA KARAKTERIZAZIO TEKNIKAK

Atal honetan almidoian oinarritutako materialen garapenerako erabilitako materialak azaltzen dira. Gainera, film eta hidrogelen karakterizazio fisiko-kimiko, termiko, morfologiko eta erreologikoa burutzeko erabilitako teknika eta baldintzak zehazten dira. Horrez gain, putze gaitasun eta botika askapen azterketak egiteko prozedurak, baita *in vitro* zelulen bideragarritasunaren ebaluaziorako erabilitako protokoloa aurkezten dira.

### 2.1. MATERIAL ETA ERREAKTIBOAK

PLS eta TPS film zein hidrogelen lorpenerako, %73 amilopektina eta %27 amilosa duen arto almidoi normala (Sigma-Aldrich) erabili da. Glizerola (Panreac, %99), D-isosorbida (Sigma-Aldrich) eta 1,3-propanodiola (Quimidroga S.A.) filmen plastifikatzaile gisa erabili dira.

*Waxy* arto almidoia eta zelulosa mikrokristalinoa (biak Sigma-Aldrich etxeak hornituak), almidoi eta zelulosa nanokristalen lorpenerako erabili dira, hurrenez hurren. Hidrolisirako, azido sulfurikoa (Panreac, %96) erabili da. Sigma-Aldrich etxeak hornitutako grafito xaflak, grafenoa (G) eta grafeno oxidoa (GO) lortzeko erabili dira. Gainera, G edota GO-aren prestaketa eta erredukziorako honako erreaktiboak erabili dira: N-metil pirrolidona (Sigma-Aldrich, NMP, %97),  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  (%30ko purutasuna), HCl (%37) eta azido askorbikoa (Panreac). Landare estraktuen lorpenerako, belar-denda batean erositako *Salvia officinalis* L. material lehorra erabili da.

Almidoiaren modifikazio kimikoa eta saretzerako, Sigma-Aldrich etxeak hornitutako furfural isozianatoa (%97), Jeffamine® ED 900 (O,O'-bis (2-aminopropil) polipropileno glikol-b-polietileno glikol-b-polipropileno glikol, batezbesteko masa molarra =  $900 \text{ g mol}^{-1}$ ), sodio azetato trihidratatua ( $\geq$ %99,0), eta 4arm-PEG10K-Maleimida (batezbesteko masa molarra =  $10000 \text{ g mol}^{-1}$ ) erabili dira, Panreac etxeke dimetil sulfoxidoa (DMSO, analisirako), anhidrido maleikoa, trimetilamina (%99,5),

anhidrido azetiko (98%) eta azetona (analisirako) eta Lab Scan Analytical Sciences enpresako kloroformoa (99,8%).

Erreaktibo guztiak jaso diren bezala erabili dira. Kasu guztietan ur destilatua disolbatzaile gisa erabili da.

Karakterizazio teknika ezberdinekin ondorengo erreaktiboak erabili dira. Sigma-Aldrich enpresan erositako deuterio oxidoa ( $D_2O$ ) erresonantzia magnetiko nuklearrerako erabili da. Panreac etxean erositako etilenglikola ukipen-angeluen neurketetarako erabili da. Fosfato *buffer* gatz-soluzioa (PBS, Panreac) puze gaitasuna ebaluatzeko erabili da. Epe laburreko zitotoxikotasun analisietarako, ondorengo erreaktiboak ere erabili dira: L929 sagu fibroblasto zelulak (NCTC:CCL-ren 929 klon, American Type Culture Bilduma, ATCC), ingurune minimo esentziala zeinak dituen Earle gatzak eta L-Glutamina 2mM, aminoazido ez-esentzialak eta sodio pirubatoa (Gibco®), penizilina eta estreptomizina (Lonza hornituta), behi fetuaren seruma (Biochor) eta DMSO (Sigma-Aldrich).

## 2.2. KARAKTERIZAZIO TEKNIKAK

### 2.2.1. Karakterizazio fisiko-kimikoa

#### 2.2.1.1. Fourier transformadun infragorri espektroskopia

Fourier transformadun infragorri espektroskopia (FTIR) neurketak Nicolet Nexus espektrofotometroarekin burutu dira. Neurketak  $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$  uhin zenbaki tartean, transmitantzia moduan, 32 ekortze eta  $4 \text{ cm}^{-1}$ -eko erresoluzioarekin egin dira. Espektroak diamantezko kristal batez hornitutako Specac MKII Golden Gate gailuarekin jaso dira. 45 graduko intzidentzia-angelu nominala eta ZnSe lenteak erabilia.

### 2.2.1.2. Protoiaren erresonantzia magnetiko nuklearra

Protoiaren erresonantzia magnetiko nuklearra ( $^1\text{H}$  NMR) neurketak BBO z-gradient probe gailuz hornitutako Avance Bruker ekipoarekin erregistratu dira. Erabilitako baldintza esperimentalak honako hauek izan dira: 500 MHz-ko maiztasuna, 64 ekorketa, 500 Hz-ko espektro-leiho eta 1 s-ko eskuratze denbora. Horrez gain,  $^1\text{H}$  RMN emaitzak funtzionalizatutako almidoiaren ordezkatzeko maila (DS) determinatzeko erabili da [1]. DS-a glukosa unitatearen  $\alpha$ -anomerikoaren hidrogeno seinaleen integrazioaren bitartez determinatu da.

### 2.2.1.3. X-izpien difrakzioa

*Solvent casting* zein estrusio bidez lortutako almidoi filmak, X-izpien difrakzio (XRD) bidez aztertu dira gelatinizazio metodoek almidoi granuluen jatorrizko domeinu kristalinoak deuseztatzeko eta plastifikatutako material amorfo bat lortzeko duten eraginkortasuna ebaluatzeko asmoz. Laginak Xpert diffractometer ekipoa neurtu dira, 40 kV eta 40 mA baldintzapean. Erradiazio sakabanatua  $1\text{-}40^\circ$  ( $2\theta$ ) tarte angeluarrean identifikatu da.

Gainera, nanoentitateen kristalinitatea, hau da nanokristal polisakarido eta karbono nanopartikulak, XRD bidez aztertu da. Nanokristal polisakaridoen kasuan, XRD teknika WSNC eta CNCn kristalinitate maila zehazteko ere erabili dira. Almidoi nanokristalen kristalinitate maila kalkulatzeko metodo zehatzik ez dagoenez definituta, kristalinitate maila azalera kristalino eta azalera totalaren arteko erlazioaren bidez determinatu da [2,3]:

$$\text{WSNC, kristalinitate maila (\%)} = \frac{\text{Pikoen azpiko azalera}}{\text{Azalera totala}} \times 100 \quad (\text{Ek. 2.1})$$

CNCn kristalinitatea literaturan definitutako metodoaren arabera kalkulatu da [4,5]:

$$\text{CNC, kristalinitate maila (\%)} = \frac{I_{002} - I_{\text{am}}}{I_{002}} \times 100 \quad (\text{Ek. 2.2})$$



non  $I_{002}$  (002) plano kristalografikoari dagokion piko intentsitatea den [4],  $2\theta = 22,5^\circ$  inguruko pikoaren intentsitatea, hain zuzen [6]; eta  $I_{am}$   $2\theta = 18,0^\circ$  inguru neurtutako alde amorfoak sakabanatutako intentsitatea den [4].

#### **2.2.1.4. Espektroskopia ultramore-ikuskorra**

Espektroskopia ultramore-ikuskorra (UV-vis espektroskopia) furano taldeaz modifikatutako almidoia eta dagokion bi saretzaileen arteko DA erreakzioaren eraginkortasuna baieztatzeko ere erabili da. Erreakzioaren zinetika, zelula termoelektrikodun Shimadzu UV-3600/3100 ekipoaren bidez jarraitu da,  $65^\circ\text{C}$  eta 400 – 700 nm tartean lan eginez, 24 ordutan zehar 30 minuturo espektro bat jasoaz.

#### **2.2.1.5. Raman espektroskopia**

G eta GO-ren Raman espektroskopia Renishaw InVia mikroskopioa (50X) erabiliz lortu dira, 514 nm uhin luzerako laserra erabiliz (Modu Laser) %10eko potentzian. Datuak 150 - 3500  $\text{cm}^{-1}$  tartean jaso dira. Esposizio denbora eta metaketak 20 s eta 5 balioetan finkatu dira, hurrenez hurren.

### **2.2.2. Propietate optikoak**

#### **2.2.2.1. Espektroskopia ultramore-ikuskorra**

Glizerol, D-isosorbida eta 1,3-propanodiolaz plastifikatutako filmen transmitantzia optikoa UV-vis espektroskopia bidez neurtu da Shimadzu UV-3600/3100 ekipoa erabilia eta giro tenperaturan eta 400 – 700 nm tartean lan eginez.

#### **2.2.2.2. Kolorimetria**

Karbono nanopartikulak dituzten filmen kolorea X-rite 962 espektrofotometro ekipoaren bidez aztertu da. Filmek kolorea Hunter parametroen arabera ebaluatu da CIELAB ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) eskalaren bitartez eta lagin bakoitzarentzat neurketa bost aldiz errepikatuz. Plaka estandar bat ( $L^* =$

92,82;  $a^* = -1,24$ ; and  $b^* = 0,46$ ) erabili da estandar gisa. Kolore parametroek balio desberdinak har ditzakete:  $L = 0$  (beltza)/ $L = 100$  (zuria),  $-a$  (berdexka)/ $+a$  (gorrixka) eta  $-b$  (urdinxka)/ $+b$  (horixka). Kolore parametro diferentzia,  $\Delta E$ , 2.3. ekuazioaren bidez kalkulatu dira:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*{}^2 + \Delta a^*{}^2 + \Delta b^*{}^2)} \quad (\text{Ek. 2.3})$$

$$\Delta L^* = L^*_{\text{estandard}} - L^*_{\text{lagina}} \quad (\text{Ek. 2.4})$$

$$\Delta a^* = a^*_{\text{estandard}} - a^*_{\text{lagina}} \quad (\text{Ek. 2.5})$$

$$\Delta b^* = b^*_{\text{estandard}} - b^*_{\text{lagina}} \quad (\text{Ek. 2.6})$$

### 2.2.3. Karakterizazio termiko eta termomekanikoa

#### 2.2.3.1. Analisi termograbitmetrikoa

Analisi termograbitmetrikoa (TGA) Mettler Toledo etxeko TGA-SDTA 851 ekipoa erabilita burutu da. Saiakuntzak  $25\text{ }^\circ\text{C}$ -tik  $800\text{ }^\circ\text{C}$ -tara egin dira,  $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ -ko berotze abiadurarekin eta nitrogeno atmosferan. Bestalde, G eta GOz indartutako nanokonposite filmen analisi termikoa TGA/DSC3+ Mettler Toledo ekipoarekin eta baldintza berdinen pean.

#### 2.2.3.2. Ekorketa diferentzialeko kalorimetria

Ekorketa diferentzialeko kalorimetria (DSC) neurketarako Mettler Toldeo DSC822e ekipoa erabili da. 5 - 10 mg lagin pisatu eta aluminiozko kapsuletan kokatu dira. Saiakuntzak  $-90\text{ }^\circ\text{C}$  -  $150\text{ }^\circ\text{C}$  tartean burutu dira,  $20\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ -ko berotze abiadurarekin eta nitrogeno atmosferan. Gelatinizazio temperatura eta entalpia pikoaren balio maximoa eta kurbaren azpiko azaleraren arabera kalkulatu dira, hurrenez hurren.

### 2.2.3.3. Analisi mekaniko dinamikoa

Film guztien analisi mekaniko dinamikoa (DMA) Gabo Qualimeter etxeko Eplexor 100N ekipoa bidez gauzatu dira. Ekipoak pilaketa modulua ( $E'$ ), galera modulua ( $E''$ ) eta bien arteko erlazio faktorea ( $\tan \delta = E''/E'$ ) jasotzen ditu. Neurketak 1 Hz-tan eta  $2\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ -ko berotze abiaduran,  $-100 - 0\text{ }^\circ\text{C}$  tenperatura tartean lan eginda PLS eta TPS film eta nanokristalekin indartutako nanokonpositeen kasuan (3. eta 5. kapituluak) eta  $-100 - 20\text{ }^\circ\text{C}$  tartean G eta GO duten nanokopositeen kasuan (6. kapituluak) burutu dira. %0,05-eko deformazio konstantea erabili da 3. eta 5. kapituluetan, aldiz 6. kapituluak %0,5-ekoa. Itxura errektangularreko laginak ( $25 \times 3 \times 0,2\text{ mm}^3$ ) moztu dira.

### 2.2.4. Gainazal propietateak

#### 2.2.4.1. Ukipen-angelu dinamikoa

Ukipen-angelu neurketa dinamikoak Dataphysics OC ekipoa erabilia eta orratz-tanta teknikaren bidez burutu dira. Aurrerapen ukipen-angelua, tantaren bolumena  $3,0\text{ }\mu\text{L}$ -tik  $6,0\text{ }\mu\text{L}$ -tara handituz neurtu da ( $0,5\text{ }\mu\text{L}$  handituz neurketa bakoitzeko,  $0,1\text{ }\mu\text{L s}^{-1}$ -tan). Atzeratze ukipen-angelu neurketak tantaren bolumena  $3,0\text{ }\mu\text{L}$  arte txikituz egin da. Filmen portaera hidrofilikoa dela eta, ezin izan dira neurketak ura erabiliz burutu, horrela, etilenglikola erabili da kasu guztietan.

#### 2.2.4.2. Ukipen-angelu estatikoa

Karbono nanopartikulaz indartutako filmen ukipen-angelu neurketa estatikoak Surface Electro Optics (SEO) Contact Angle Analyzer ekipoa erabilia burutu dira orratz-tanta teknika erabiliz. Ukipen-angelu neurketak  $3,0\text{ }\mu\text{L}$ -ko tanta bolumenarekin eta etilenglikola disolbatzaile gisa erabiliz egin dira.

## 2.2.5. Propietate mekanikoak

### 2.2.5.1. Trakzio-saiakuntzak

PLS filmen trakzio-saiakuntzak Universal Testing Machine (MTS Insight 10) ekipoa erabilita burutu dira. Neurketak 250 N-eko zelula karga erabiliz eta giro tenperaturan egin dira. Laginak txakur-hezur itxuraz moztu dira, 5 mm-ko zabalera eta 15 mm-ko luzerako saiakuntza sekzioarekin. Saiakuntzak 5 mm min<sup>-1</sup>-ko abiadura gauzatu dira.

Estrusio bidez lortutako filmak eta G eta GO duten nanokonpositeen trakzio-saiakuntzak aldiz, Instron 5967 ekipoen eta 50 N-eko zelula karga erabiliz egin dira. Laginen dimentsioak eta saiakuntza abiadura aurreko berdinak izan dira.

## 2.2.6. Hesi propietateak

### 2.2.6.1. Ur-lurrunarekiko transmisio abiadura

Ur-lurrunarekiko transmisio abiadura (WVTR) saiakuntzak 25 °C-tan burutu dira zelula grabimetriko bat erabiliz. Bertan, ur likido kantitate txiki bat filmarekin zigilatzen da. 10<sup>-5</sup>g-ko zehaztasuna duen zelula balantza batean kokatzen da. Horrela, filmean zehar iragazten den ur-lurrunari dagokion pisu galera soilik balantzarekin konektatutako ordenagailuan jasotzen da. WVTR honela defini daiteke:

$$\text{WVTR} = \frac{m \cdot l}{A(a_{\text{int}} - a_{\text{ext}})} \quad (\text{Ek. 2.7})$$

non  $m$  zelularen pisu-galera den;  $l$  filmaren lodiera;  $A$  uraren eraginpean dagoen filmaren azalera (2,54 cm<sup>2</sup>); eta  $a_{\text{ext}}$  zelularen kanpoko penetrazio aktibitatea (uraren kasuan hezetasun erlatiboaren, HE, berdina dela kontsideratzen da). Kasu guztietan, zelularen kanpoaldean 0,3-ko HE (unitatearekiko) dagoela aintzat hartzen da.

Ur-lurraren iragazkortasun (WVP) balioak 2.8 ekuazioaren bidez kalkulatu dira:

$$WVP = \frac{WVTR}{\Delta P} \quad (\text{Ek. 2.8})$$

non  $WVTR$  ur-lurrunarekiko transmisio abiadura den eta  $\Delta P$  lurrun presio diferentzia.

### 2.2.6.2. Oxigenoarekiko transmisio abiadura

Oxigenoarekiko transmisio abiadura (OTR) neurketak MOCON OXTRAN Model 2/21 gasen iragazkortasun ekipoa burutu dira, ASTM D3985 araudiaren arabera. Laginen OTR saiakuntzak 760 mm Hg-tan, HR = %50an eta 23 °C-tan gauzatu dira. Oxigenoarekiko iragazkortasuna honela definitzen da:

$$OP = \frac{OTR}{\Delta P} \quad (\text{Ek. 2.9})$$

non OTR oxigenoarekiko transmisio abiadura den eta  $\Delta P$  bapore presio diferentzia.

## 2.2.7. Karakterizazio morfologikoa

### 2.2.7.1. Indar atomikozko mikroskopia

Nanokristalen eta PLS film eta nanokonposite filmen indar atomikozko mikroskopia (AFM) neurketak Nanoscope IIIa kontrolagailuz ekipaturiko Veeco Multimode ekipoa erabilia lortu dira. Laginak TESP motako silizeko puntak erabiliz aztertu dira, 340 kHz inguruko erresonantzia frekuentzian eta 40 N m<sup>-1</sup> inguruko malguki konstantedun kantileberrarekin. Ultrasonikatutako nanokristal dispersioak (0,001 mg NC ml<sup>-1</sup> ur distilatu) *spin coating* teknika bidez prestatu dira.

Filmaren haustura kriogeniko osteko gainazalen AFM irudiak *tapping* moduan lan eginda eta Nanoscope V kontrolagailuz ekipaturiko Bruker Dimension ICON ekipoa erabilia lortu dira. Laginen morfologia TESP-V2 motako silizeko puntak erabiliz aztertu dira, 320 kHz inguruko erresonantzia frekuentzian eta 42 N m<sup>-1</sup> inguruko malguki konstantedun kantileberrarekin.

### **2.2.7.2. Transmisio mikroskopia optikoa**

Gelatinizazio prozesua transmisio mikroskopia optikoaren (TOM) bidez jarraitu da, egitura kristalinoaren aldaketa eta birrefringentziaren eboluzioa aztertuz. Analisia Nikon Eclipse E600 ekipoarekin egin da, islatze moduan lan eginez, argi polarizatupean eta x 500-ko handitze lentea erabiliz.

### **2.2.7.3. Ekorketa bidezko mikroskopia elektronikoa**

Ekorketa bidezko mikroskopia elektronikoko (SEM) irudiak jaso dira, hidrogelen egitura mikroporotsua aztertzeko helburuz. Ur-destilatuan puztu ondoren liofilizatu diren laginak aztertu dira. Saiakuntzak egin aurretik urrez estali dira. VEGA3 LM, TESCAN ekipoarekin bismaleimida duten hidrogelen irudiak lortu dira 5 kV-ko tentsiopean lan eginez. Aldiz, JEOL JSM-6400 ekipoa erabili da nanokonposite hidrogelen irudiak lortzeko, 20kV-ko tentsiopean lan eginez.

### **2.2.7.4. Transmisiozko mikroskopia elektronikoa**

Transmisiozko mikroskopia elektronikoa G eta GO-aren morfologia aztertzeko erabili da. Irudiak Schottky X-FEG emisio iturria, monokromadorez eta CEOS aberrazio esferikoaren zuzentzaileaz (Cs) hornitutako FEI Titan Cubed 60-300 mikroskopioaren bidez lortu dira. -10  $\mu\text{m}$ -ko hirugarren mailako aberrazio esferikoa erabili da. Irudiak -8 nm-ko defokusa erabiliz aztertu dira, CCD (2kx2k, Gatan UltraScan 1000) kamera eta irudiko 1s-ko esposizio denbora erabiliz.

Laginen dispersioak ur destilatuan eta 0,005 mg ml<sup>-1</sup>-eko kontzentrazioa erabiliz eta ordubetez ultrasonikatuz (4s eta 2s-ko ON/OFF tarteak finkatuz) prestatu dira. Ondoren, sonikatutako suspentsioaren tanta bat karbonozko pelikula batez estalitako kobrezko TEM sare batean (300 Mesh) ipini da. Azkenik, laginak hutsune bidez lehortu dira.

### 2.2.8. Erreologia neurketak

Hidrogelen portaera erreologikoa Scientific Advanced Rheometric Expansion System (ARES) ekipoa eta plater paraleloko geometria (25 mm-ko diametroa) erabilia burutu dira ( $n = 3$ ). Maiztasun ekorketak  $0,1 - 500 \text{ rad s}^{-1}$  tartean eta finkatutako deformazioan, hau da aurretik egindako deformazio ekorketen bidez definitutako zonalde lineal biskoelastikoan. Neurketak giza gorputzaren tenperaturan ( $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ) burutu dira, hidrogelen aplikazio biomedikoak ebaluatzeko asmoz.

### 2.2.9. Puzte gaitasuna

Hidrogelen puzte gaitasuna metodo grabimetriko bidez aztertu da ( $n = 3$ ). Liofilizatutako hidrogelak  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ -tan oreka punturaino inkubatu dira heste isurkina simulatzen duen gatz-soluzioan (Fosfato *buffer*, PBS,  $\text{pH}=7,4$ ) erabiliz. Aukeratutako denbora tartetan puztutako hidrogela atera, ur gehigarria filtro paperarekin leunki kendu eta pisatu da. Puzte maila (SR) 2.10 ekuazioaren bidez determinatu da:

$$\text{SR (\%)} = \frac{W_s - W_t}{W_t} \times 100 \quad (\text{Ek. 2.10})$$

non  $W_s$  puztutako laginaren pisua den eta  $W_t$  bukaerako lagin lehorraren pisua den. Oreka puntua hidrogelaren pisua gehiago handitzen ez denean lortzen dela aintzat hartu da.

### 2.2.10. Degradazioa hidrolitikoa

Hidrogelen degradazioa metodo grabimetriko bidez aztertu da laginak astebetetz PBSn inkubatuz. Degradazioa 2.11 ekuazioaren bidez kalkulatu da:

$$\text{Degradazioa (\%)} = \frac{W_t}{W_d} \times 100 \quad (\text{Ek. 2.11})$$

non  $W_t$  bukaerako lagin lehorraren pisua den eta  $W_d$  liofilizatutako laginen hasierako pisua.

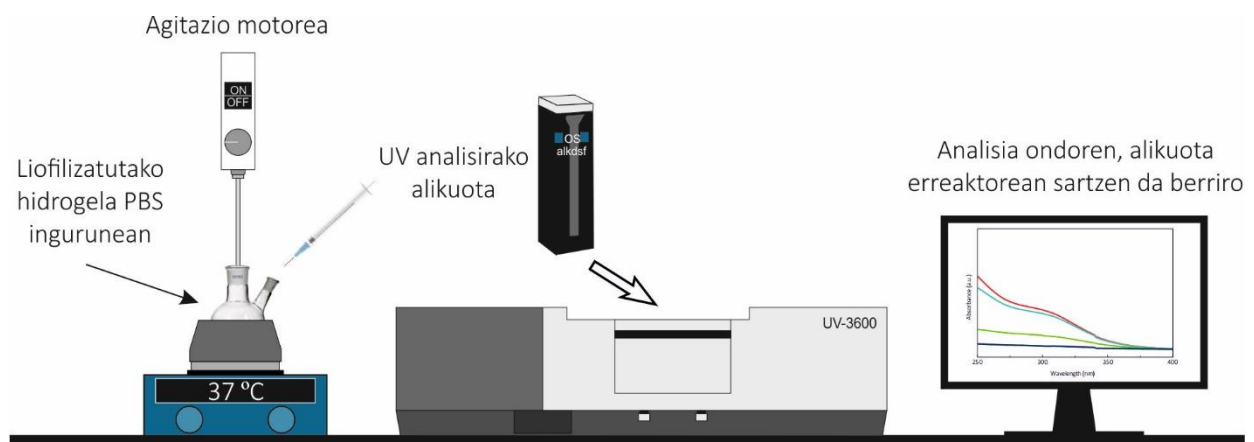
## 2.2.11. Karakterizazio espezifikoa

### 2.2.11.1. Botika askapena

Botika askapen neurketetarako kloranfenikola (CIPh) aukeratu da botika eredu bezala simulatutako heste ingurunean burututako *in vitro* askapen azterketarako. Liofilizatutako hidrogelak botikadun disoluzioarekin (0,5 mg CIPh mL<sup>-1</sup> ur destilatu) kargatu dira 25 °C-tan 3 orduz (baldintza hauek puzte gaitasun neurketen emaitzetan oinarrituta aukeratu dira). Ondoren, laginak giro tenperaturan lehortu dira pisu konstante bat lortu arte. Askapen azterketa burutzeko, lehortutako eta kargatutako hidrogel lagina zulodun esfera metaliko baten barruan 80 mL PBS disoluzioan (pH = 7,4) 37 °C-tan irabiatuz. Aukeratutako denbora tarteetan, disoluzioaren 1 mL-ko alikuota bat hartzen da UV-vis espektroskopia bidez aztertzeko. Ondoren, alikuota erreaktorean sartzen da berriro. Askatutako CIPh kopurua 275 nm-tako absorbantzia (CIPh-aren absorbantzia maximoaren uhin-luzera) seinalea kalibraketa makur estandar batekin alderatuz determinatzen da. Denbora tarte bakoitzean metatutako botika askapena, 2.12. ekuazioa erabilita kalkulatu da:

$$\text{Metatutako botika askapena (\%)} = \frac{m_t}{m_0} \times 100 \quad (\text{Ek. 2.12})$$

Non  $m_t$  denboran askatutako CIPh masa metatua den eta  $m_0$  kargatutako CPh masa totala.



2.1. irudia – Botikaren askapen neurketaren eskema.



### 2.2.11.2. Aktibitate antibakteriar saiakuntzak

*Escherichia coli* CECT 405 (Gram positibo bakterioa) and *Staphylococcus aureus* CECT 239 (Gram negatiboa) bakteriekiko grafenodun nanokonposite hidrogelen aktibitate antimikrobiarra disko-plater antibiograma saiakuntzen bidez aztertu da. Hidrogela mikroorganismoak dituen Petri plaka bateko inokulatutako agarrean kokatzen da. Ondoren, lagina 24 eta 48 orduz 37 °C-tan inkubatzen da.

### 2.2.11.3. Epe laburreko zitotoxikotasun saiakuntzak

CNCak dituzten hidrogela *in vitro* zelulen bideragarritasun eta ugaltzea epe laburreko zitotoxikotasun saiakuntzen bidez aztertu da. Neurketak L929 sagu fibroblasto zelulak eta ISO 10996 araua jarraituz burutu dira.

Laburki, esterilizatutako laginak banan-banan inkubatu dira zelula hazkuntza-ingurune osoan (Eraldatutako Dulbecco's Eagle's ingurunea) eta %10eko behi serum fekalean, antibiotikoak gehituta (100 U mL<sup>-1</sup> penizilina eta 100 g mL<sup>-1</sup> estreptomizina) 37 °C-tan 24 orduz hazkuntza-ingurunea isolatzeko. Horrez gain, L929 sagu fibroblastoak 96-well mikroplateretan, 4 x 10<sup>3</sup> zelula/well dentsitatearekin eta hazkuntza-ingurune estandarrekin, saiakuntza baino 2 h lehenago hazten utzi dira. Zitotoxikotasun saiakuntzan, kultiboa 24 eta 48 orduz tratatzen da isolatutako ingurunearekin. Kontrol gisa, hazkuntza-ingurune estandarra (kontrol negatiboa) eta %10eko dimetil sulfoxidoa (kontrol positiboa) erabili dira.

Zelula bideragarrien jarduera metabolikoa MTT' kolorimetrikoaren analisiaren bidez zehaztu da, non 3-(4,5-dimetiltriazol-2-il)-2,5 difeniltetra-sodio bromatoa zelula bizien mitokondrioetan formazanera erreduzitzen den. Well bakoitzeko zelula kopurua formazan kristalen kopuruarekiko proportzionala da eta mikroplater irakurle bat erabilita 540 nm-tako absorbantzia neurtuz determinatu da. Bideragarritasuna (%), jarraian adierazten den bezala kalkulatu da:

$$\text{Bideragarritasuna (\%)} = \frac{[A]_{\text{test}}}{[A]_{\text{konytols}}} \times 100 \quad (\text{Eq. 2.13})$$

non  $[A]_{\text{test}}$  laginen zelulen absorbantzia den eta  $[A]_{\text{kontrol}}$  kontrol negatiboaren zelulen absorbantzia. Saiakuntza guztiak hiru aldiz errepikatu dira eta batez besteko eta desbideratze estandarra kalkulatu dira.

### 2.2.12. Eroankortasun elektrikoa

G eta GO duten film eta nanokonposite hidrogelen erantzun elektrikoa Keithley 4200-SCS erdieroaleentzako ekipoarekin aztertu da, bi puntuen neurketa teknika erabiliz. Neurketak 0 - 5 V tartean ekorketa lineala eginez, 0,01 V-ko pausukoa eta 0,1 A-ko konpliantzarekin, burutu dira. Hidrogelen kasuan lagin hezeak aztertu dira.

## 2.3. ERREFERENTZIAK

- [1] M.J. Tizzotti, M.C. Sweedman, D. Tang, C. Schaefer, R.G. Gilbert, New  $^1\text{H}$  NMR procedure for the characterization of native and modified food-grade starches, *J. Agric. Food Chem.* 59 (2011) 6913–6919. doi:10.1021/jf201209z.
- [2] M.J. Jivan, A. Madadlou, M. Yarmand, An attempt to cast light into starch nanocrystals preparation and cross-linking, *Food Chem.* 141 (2013) 1661–1666. doi:10.1016/j.foodchem.2013.04.071.
- [3] M.F. Rosa, E.S. Medeiros, J.A. Malmonge, K.S. Gregorski, D.F. Wood, L.H.C. Mattoso, G. Glenn, W.J. Orts, S.H. Imam, Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior, *Carbohydr. Polym.* 81 (2010) 83–92. doi:10.1016/j.carbpol.2010.01.059.
- [4] H. Kargarzadeh, I. Ahmad, I. Abdullah, A. Dufresne, S.Y. Zainudin, R.M. Sheltami, Effects of hydrolysis conditions on the morphology, crystallinity, and thermal stability of cellulose nanocrystals extracted from kenaf bast fibers, *Cellulose.* 19 (2012) 855–866. doi:10.1007/s10570-012-9684-6.
- [5] L. Segal, J.J. Creely, A.E. Martin, C.M. Conrad, An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer, *Text. Res. J.* 29 (1959) 786–794. doi:10.1177/004051755902901003.
- [6] N. Lin, J. Huang, P.R. Chang, L. Feng, J. Yu, Effect of polysaccharide nanocrystals on structure, properties, and drug release kinetics of alginate-based microspheres, *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 85 (2011) 270–279. doi:10.1016/j.colsurfb.2011.02.039.



### **3. KAPITULUA:**

**ARTO ALMIDOIAN  
OINARRITUTAKO FILMAK**



### **3. ARTO ALMIDOIAN OINARRITUTAKO FILMAK**

#### **3.1. HELBURUAK**

Atal honen helburua glizerola, D-isosorbida eta 1,3-propanodiola almidoian oinarritutako filmetan plastifikatzaile bezala erabiltzearen baliagarritasuna aztertzea izan da. Ezaguna den bezala, glizerola oso erabilia izan da material askoren plastifikatzaile gisa. Horregatik, gure kasuan ere glizerolaren erabilerak materialaren hauskortasuna txikitu eta portaera mekanikoa hobetu zezakeela pentsatu genuen. Gainera, iturri berriztagarrietatik eratorritako beste plastifikatzaileak, hala nola, D-isosorbida eta 1,3-propanodiola, aukera berritzaile “berde” bezala proposatu dira.

Almidoian oinarritutako film malguen ekoizpena, askotan laborategi mailan *solvent casting* teknika bidez burutzen da. Hala ere, ikuspuntu industrial eta komertzial batetik, prozesaketa termomekanikoak eskala handiko produkzioak lortzeko aukera ematen du. Horrela, plastifikatutako almidoi film malguak *solvent casting* (PLS) eta estrusio/konpresio (TPS) metodoen bidez prestatzeko bideragarritasuna aztertu da. Gainera, erretrogradazioa dela eta plastifikatutako almidoi materialek zahartzeko joera dutenez, filmen propietateen garapena ere aztertu da.

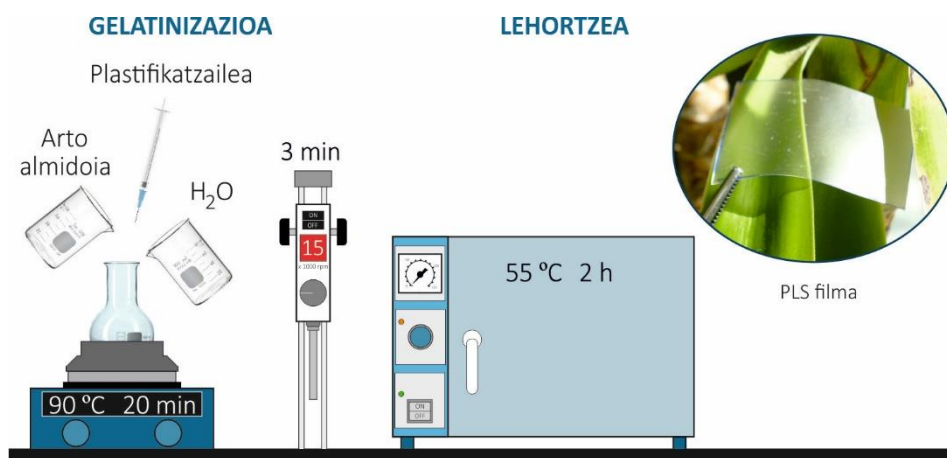
Lortutako film guztien propietate optikoak, egonkortasun termikoa, gainazal propietateak, propietate mekanikoak, hesi propietateak eta morfologia aztertuz karakterizatu dira. Erretrogradazio fenomenoak *solvent casting* bidez lortutako filmen kasuan aztertu da.

#### **3.2. ALMIDOIAN OINARRITUTAKO FILMEN LORPENA**

##### **3.2.1. Plastifikatutako almidoi filmak *solvent casting* bidez (PLS)**

*Solvent casting* bidez prestatutako PLS filmak Angellier eta kideek [1] deskribatutako metodoa jarraituz lortu dira, desberdintasun txikiekin. 3,58 g arto almidoi normal, 35 g ur distilatu eta 1,93 g plastifikatzailekin (glizerola, D-isosorbida edo 1,3-propanodiola) nahastu egin dira. Nahaste hau 90

°C-tan (gelatinizazio tenperatura gaituta) eta etengabeko agitazio magnetikoaz mantendu egin da likatasuna handitu arte (20 minutu inguru). Kasu guztietan, %35eko plastifikatzaile edukia erabili da, almidoi eta plastifikatzailearen pisuarekiko, alegia. Ondoren, lortutako gel likatsua dispersio sistema baten (POLYTRONV R PT 2500 E) laguntzaz homogeneizatu egin da, 3 minutuz eta 15000 rpm-tan. Homogeneizatutako disoluzioa Petri plaketan zabaldu da eta labe batean lehortu da 55 °C-tan 2 orduz. *Solvent casting* bidez lortutako filmen ekoizpena prozesua 3.1. Irudian aurkezten da.



3.1. Irudia – *Solvent casting* bidez prestatutako PLS filmen fabrikazio prozesua.

Laginak CSg35, CSi35 eta CSpd35 bezala izendatu dira, glizerola, D-isosorbida edo 1,3-propanodiolaz plastifikatu badira, hurrenez hurren (3.1. Taula).

Lortutako filmak karakterizazioa burutu aurretik bi astez %43ko HEan gorde egiten dira, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> disoluzio aseak erabilia. Horrez gain, saiakuntza guztiak gelatinizazio unetik 4 asteetara errepikatu dira, zahar bezala identifikatu direnak.

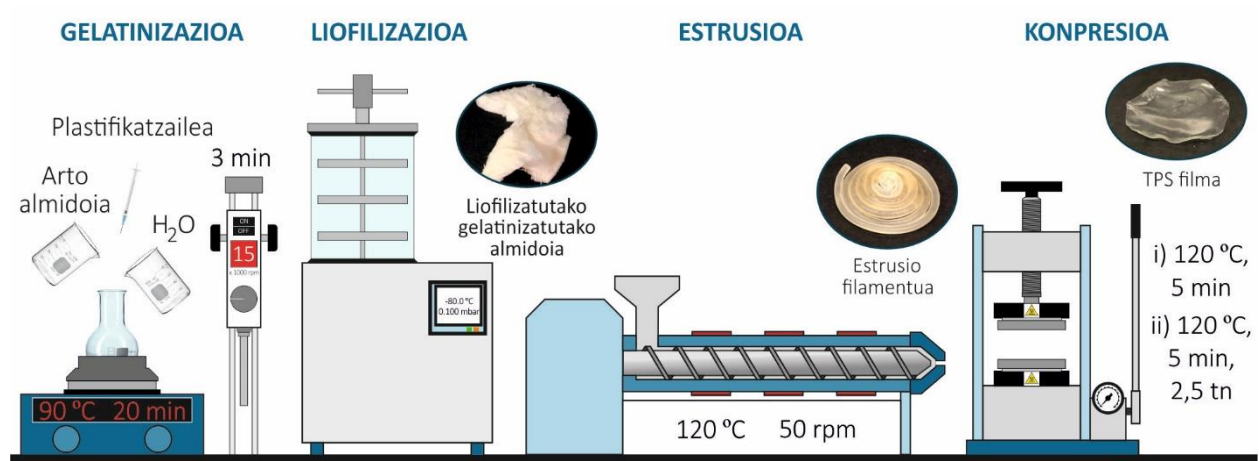
### 3.2.2. Almidoi termoplastiko filmak estrusio/konpresio bidez (TPS)

Estrusio/konpresio bidez lortutako filmak 4 urratsetako metodologia jarraituz prestatu dira: gelatinizazioa, liofilizazioa, estrusioa eta konpresioa. Lehenengo urratsa aurretiko gelatinizazioan datza, *solvent casting* prozedurarentzat egin den modura, hau da, arto almidoi normala (3,59 g), ur destilatua (35 mL) eta hautatutako plastifikatzailea (1,93 g) 90 °C-tan eta 20 minutuz berotu dira.

Gero, nahastea POLYTRON® PT 2500 E sistemarekin homogeneizatu da. PLS laginekin egindakoaren antzera, %35 plastifikatzaile pisu edukia erabili da estrusio bidez lortutako film guztientzat, almidoi eta plastifikatzailearen pisuarekiko.

Ondoren, homogeneizatutako nahastea liofilizatu da. Jarraian, liofilizatutako materiala HAAKE MiniLab estrusio-makina erabiliz prozesatu da 120 °C eta 50 rpm-tan. Azkenik, materiala temperatura kontrolatzen duen zelula batez hornitutako Specac's Atlas Series Manual Hydraulic Pres ekipoarekin konpresio bidez lortu da hurrengo pausuak jarraituz: 1) 120 °C, 5 minutuz eta 2) 120 °C, 2.5 tona eta 5 minutu.

Lortutako filmak bi astez %43ko HEan gorde dira karakterizazioa burutu aurretik. Estrusio/konpresio bidez lortutako filmen ekoizpen prozesua 3.2. Irudian aurkezten da.



3.2. Irudia – Estrusio/konpresio bidez lortutako TPS filmen fabrikazio prozesua.

Glizerol, D-isosorbida eta 1,3-propanodiolaz gelatinizatutako TPS filmak ESg35, ESi35 eta ESpd35 bezala identifikatu dira, hurrenez hurren (3.1. Taula).



3.1. Taula – Lortutako PLS eta TPS filmen deskribapena.

Lagina	Teknika	Plast.	Zahartze denbora	Almid. (g)	Plast. (g)	H <sub>2</sub> O (ml)
CSg35	<i>Solvent casting</i>	glizerola	2 aste			
CSi35	<i>Solvent casting</i>	D-isosorbida	2 aste			
CSpd35	<i>Solvent casting</i>	1,3-propanodiola	2 aste			
ESg35	Estrusio/konpresio	glizerola	2 aste			
ESi35	Estrusio/konpresio	D-isosorbida	2 aste	3,58	1,93	35,0
ESpd35	Estrusio/konpresio	1,3-propanodiola	2 aste			
CSg35-zahar	<i>Solvent casting</i>	glizerola	4 aste			
CSi35-zahar	<i>Solvent casting</i>	D-isosorbida	4 aste			
CSpd35-zahar	<i>Solvent casting</i>	1,3-propanodiola	4 aste			

### 3.3. GELATINIZAZIO PROZESUAREN AZTERKETA

Gelatinizazio tenperatura (T) eta gelatinizazio entalpia ( $\Delta H$ ) DSC bidez aztertu dira, aldiz birrefringentziaren garapena TOM bidez ebaluatu da.

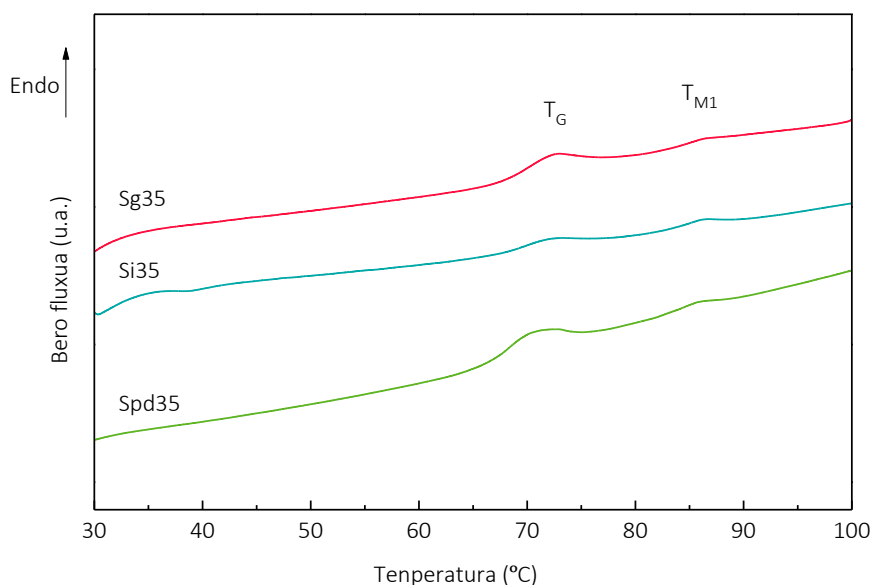
#### 3.3.1. Ekorketa diferentzialeko kalorimetria

Almidoiaren portaera termikoa eta gelatinizazio fenomenoak DSC bidez aztertu daiteke [2]. Literaturan definitzen den bezala, gelatinizazioa lehen mailako trantsizio endotermikoa da [3,4]. Beraz, DSC termogramek almidoi granuluetako domeinu kristalinoak zein tenperaturetan urtzen direnaren informazioa ematen digu, gelatinizazio tenperatura hain zuzen [2]. Gainera, gelatinizazio entalpia ordenatutako kristal kopuruarekin erlazionatzen da eta piko endotermikoaren azpiko azalerarekin determina daiteke [2,5,6]. Gelatinizazio entalpia almidoiaren iturri, ur edukiera, amilosa/amilopektina erlazioaz eta plastifikatzaileaz gain, neurketan erabilitako baldintzen menpekoa da [2,7].

Zentzu honetan, hiru plastifikatzaileekin burututako gelatinizazio prozesuak, hasierako almidoi/ur/plastifikatzaile nahastean beroketa dinamikoko neurketen bidez ebaluatu da [5]. Lortutako DSC termogramak 3.3. Irudian azaltzen dira eta kalkulaturako gelatinizazio tenperaturak eta entalpiak 3.2. Taulan laburbiltzen dira.

Termogrametan ageri den bezala, gelatinizazioa lehen mailako trantsizio endotermikoa bezala detektatzen da, orokorrean amilopektinaren gelatinizazioari atxikitzen dena eta askotan G bezala adierazten dena [3,4].  $T_G$  eta  $\Delta H_G$  piko endotermikoaren maximoa eta kurbaren azpiko azaleraren bidez kalkulatu dira, hurrenez hurren. Ikus daitekeen bezala, gelatinizazio tenperatura ia berdina da sistema guztientzat. Izan ere, lagin guztiek  $72\text{ }^\circ\text{C}$  inguru aurkezten dute  $T_G$ -a, desberdintasun txiki bat Spd35 laginarentzat soilik detektatu delarik. Aldiz, desberdintasun esanguratsuak ikusi dira  $\Delta H_G$  balioei dagokionez. Sg35 eta Spd35 laginek  $1,12$  eta  $1,33\text{ J g}^{-1}$ -ko  $\Delta H_G$  balioak aurkezten dituzte, hurrenez hurren, Si35 laginentzat ordea balioa  $0,43\text{ J g}^{-1}$ -koa delarik. Emaiza hauek Yingfen eta kideek [6,7] lortutako ondorioekin bat datoz, zeintzuek plastifikatzaile desberdinen erabilerak  $\Delta H_G$  balio desberdinak dakarrela ikusi zuten,  $T_G$  balioa konstante mantentzen delarik.  $\Delta H_G$ -rentzat lortutako desberdintasunak plastifikatzaile bakoitzaren pisu molekularrekin eta almidoiaren egituraren sartzeko eta hidrogeno zubiak eratzeko gaitasunarekin erlazionatzen dituzte. Aitzitik, gure kasuan aurkako efektua nabari da, Si35 laginak pisu molekular altuena izan arren  $\Delta H_G$  balio txikiena baitu. Kontutan hartu behar da ere, gelatinizazioa etapa anitzeko fenomeno dela non almidoi granuluen xehatzea, kristalinitatearen galera eta almidoiaren depolimerizazio partziala ematen den [3]. Horrela, gelatinizazioa batzuetan emaitza eztabaidagarrietara eraman dezakeen mekanismo termiko konplexua da [2]. Beraz, gure kasuan, plastifikatzaileak gelatinizazio mekanismoan zeregin garrantzitsua duela kontsideratu da. Horrela, glizerol eta 1,3-propanodiolarentzat, antzeko egitura kimikoa duten molekulak izanik, antzeko  $\Delta H_G$  balioak lortu dira eta, beraz, antzeko gelatinizazio mekanismoa dutela iradoki daiteke. Aldi berean, D-isosorbidarentzat  $\Delta H_G$  balio txikiagoa lortu da eta, beraz, gelatinizazio mekanismoa desberdina dela ondoriozta daiteke.

Aipatu behar da lagin guztiek bigarren piko endotermiko bat aurkezten dutela 86 °C inguru, M1 bezala identifikatzen dena eta kasu guztietan 0,10 J g<sup>-1</sup> inguruko entalpia balioa duena. Bigarren piko endotermiko hau orekan aurkitzen ez diren kristalei atxikitzen zaio [4]. Liu eta kideek [2], arto almidoi/ur sistemen gelatinizazio prozesua DSC bidez aztertu zuten eta piko endotermiko kopurua eta gelatinizazio-entalpia amilosa/amilopektina erlazioaren eta hezetasun eta lipido edukieraren menpekoak direla ondorioztatu zuten. Hala eta guztiz ere, jasotako DSC emaitzak ez dira beti erabakigarriak almidoien portaera termiko konplexua dela eta. Dena dela, almidoia jatorrizko granuluen domeinu kristalino guztiak suntsitu direla ziurtatzeko, gelatinizazio guztiak 90 °C-tan burutu dira.



3.3. Irudia – Plastifikatzaile desberdinak erabiliz burututako gelatinizazioen DSC termogramak.

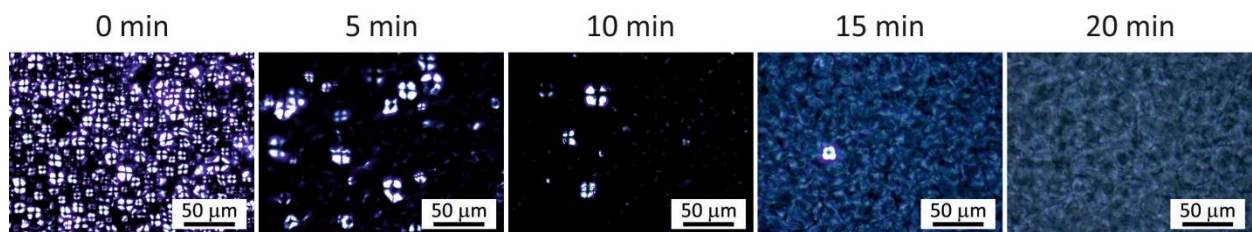
3.2. Taula – Plastifikatzaile desberdinak erabiliz burututako gelatinizazioen gelatinizazio tenperatura (T) eta entalpia ( $\Delta H$ ) balioak.

Lagina	G		M1	
	T <sub>G</sub> (°C)	$\Delta H_G$ (J g <sup>-1</sup> )	T <sub>M1</sub> (°C)	$\Delta H_{M1}$ (J g <sup>-1</sup> )
<b>Sg35</b>	72,5	1,12	86,5	0,10
<b>Si35</b>	72,3	0,43	86,3	0,12
<b>Spd35</b>	70,5	1,33	85,8	0,10

### 3.3.2. Transmisiozko mikroskopia optikoa

Almidoia argi polarizatupean aztertzen denean, almidoi granuluen karaktere edikristalinoen ondorioz birrefringentziarekin erlazionatutako Maltako gurutzeak ikusi ohi dira [8–10]. Horrela, gelatinizazio prozesuaren bilakaera TOM bidez jarraitu da, denbora tarte jakinetan argi polarizatupean irudiak jasoaz. Sg35 laginarentzat bildutako irudi sekuentzia 3.4. Irudian azaltzen da.

Ikus daitekeen modura, almidoi granuluen haustea nabarmenki ikusten da, Maltako gurutze kopurua txikitzen baitoa, prozesu amaieran guztiz desagertu arte. Beraz, behin gelatinizazioa erabat amaitua, almidoi granuluen domeinu kristalinoak ez dira antzematen. Ondorioz, proposatutako prozesaketa baldintzak jarraituz gelatinizazioa modu egokian eman dela baieztatu daiteke.



3.4. Irudia – Sg35 gelatinizazioaren argi polarizatuko irudiak hautatutako denbora tartetan.

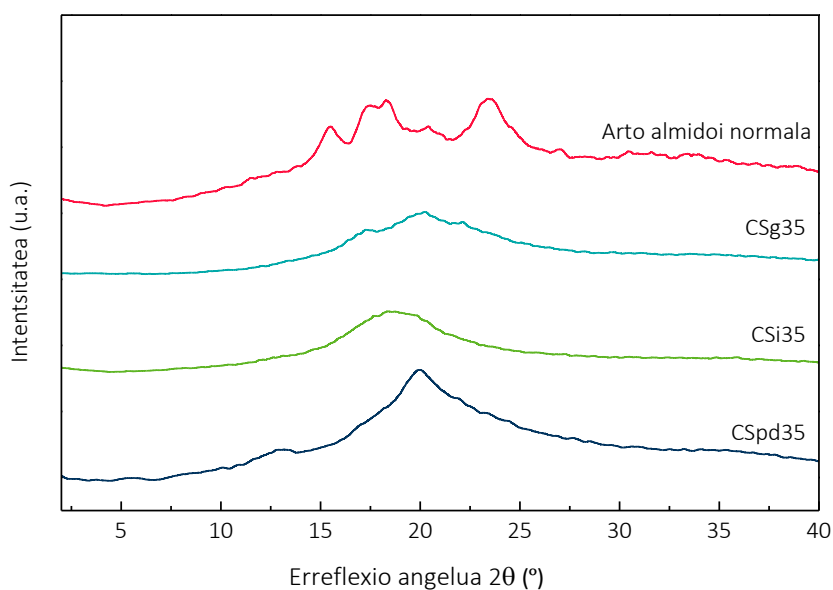
## 3.4. PLASTIFIKATZAILEAREN ERAGINA PLS FILMEN PROPIETATEETAN

Glizerola, D-isosorbida eta 1,3-propanodiola almidoian oinarritutako materialetan plastifikatzaile gisa erabil daitezkeela frogatu ondoren, PLS filmak prestatu dira aipatutako hiru plastifikatzaileak erabilita. Atal honetan *solvent casting* bidez lortutako PLS filmen emaitzak eztabaidatzen dira.

### 3.4.1. X-izpien difrakzioa

Glizerola, D-isosorbida eta 1,3-propanodiola erabiliz burututako gelatinizazio prozesuen eraginkortasuna XRD difraktogramen bidez ondorioztatu da (3.5. Irudia). Beste egileek definitzen duten bezala [11,12], jatorrizko arto almidoia beste zerealen antzera, A motako polimorfismoan

sailkatzen da, ondorengo difrakzio pikoak aurkezten dituelarik: bi piko  $2\theta = 10,1^\circ$  eta  $2\theta = 11,5^\circ$ -tan,  $2\theta = 15,2^\circ$ -tan kokatutako intentsitate handiko piko bat, piko bikoitz bat  $2\theta = 17,3^\circ/18,1^\circ$ -tan eta azken piko bat  $2\theta = 23,2^\circ$ -tan. 1. Atalean azaldu den bezala, almidoiaren gelatinizazioan zehar egitura kristalinoa suntsitzen da, granuluetan uraren difusioa eta amilosaren solubilizazioa ematen baita. Ikus daitekeen modura, CSg35, CSi35 eta CSpd35 laginen difraktogramek kristalinitate azalera txikiagoa aurkezten dute eta  $2\theta = 20,0^\circ$  inguru intentsitate txikiko piko bat ageri da, gelatinizatutako hiru materialak modu egokian lortu direla adieraziz. Argitaratutako beste lanekin bat eginez [13], plastifikatzaileen artean desberdintasun txikiak nabari dira. Gure kasuan,  $2\theta = 20,0^\circ$  inguru agertzen den pikoaren intentsitatea handiagoa da CSpd35 laginentzat, amaierako antolamendu kristalinoan desberdintasunak daudela adieraziz eta 1,3-propanodiola erabiltzerakoan plastifikazio maila baxuagoa lortu dela iradokiz.



3.5. Irudia – Arto almidoi normala eta PLS filmen XRD difraktogramak.

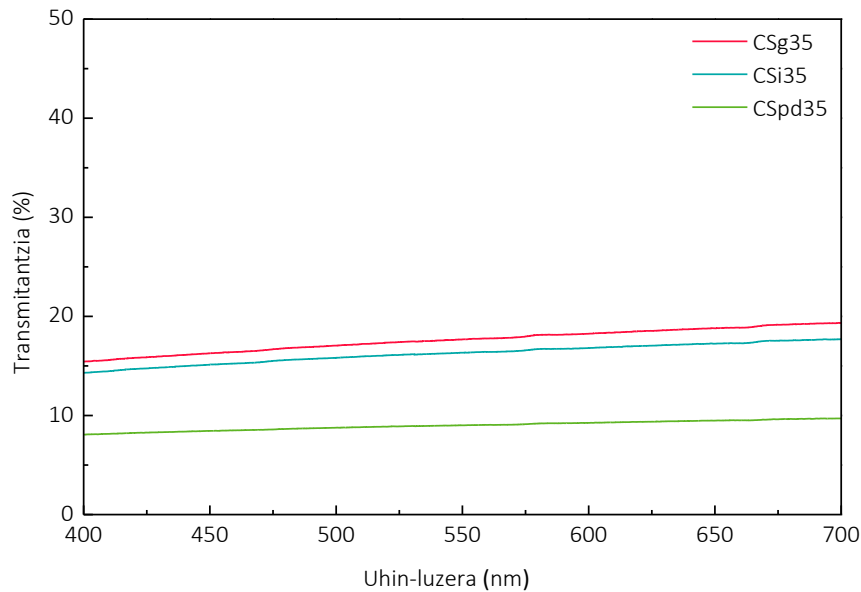
### 3.4.2. Propietate optikoak

Industri eta merkataritza ikuspuntuetatik, funtsezkoa da argi transmitantzia balioen neurketak burutzea filmek paketatze material bezala erabiltzeko duten ahalmena aztertzeko. Castillo eta kideek

[14] azaldu bezala, transmitantzia baxuko materialek paketatuko produktuen iraupena hobetzen dute. Aldiz, argi transmitantzia altuko filmak baliogarriak izan daitezke esterilizaziorako UV-vis irradiazioa behar duten elikagaien kasuetan [14]. Horrela, *solvent casting* bidez lortutako filmen gardentasuna UV-vis espektroskopia bidez ebaluatu dira, espektro ikusgai tartean (400 - 700 nm) transmitantzia balioa neurtuz. Lortutako emaitzak 3.6. Irudian azaltzen dira.

Ikus daitekeen bezala, lortutako PLS filmen propietate optikoak plastifikatzaile motaren menpekoak dira. Glizerola eta D-isosorbidarekin plastifikatutako filmak transmitantzia altuagoa aurkezten dute eta beraz, 1,3-propanodiola dutenak baino gardentasun handiagoa dute. Glizerola eta D-isosorbida konparatuz, antzeko transmitantzia balioak lortu dira (%18,2 CSg35 laginarentzat eta %16,8 CSi35 laginarentzat, 600 nm-tan) tarte ikuskorrean. Bestalde, CSpd35 laginaren kasuan transmitantzia balioa %9,2ra txikitu egiten da.

Lagin guztientzat lortutako transmitantzia balio baxuak, gelatinizazioan erabilitako plastifikatzaile eduki handiarekin (%35 kasu guztietan) erlaziona daiteke. Hala ere, Thomé eta kideek [15] antzeko emaitzak lortu zituzten, %20ko transmitantzia balioak alegia, glizerol eduki baxuagoa duten materialetan. Bertuzzi eta kideek azaldu bezala [16], filmen opakotasuna handitu egiten da plastifikatzaile eduki handiak erabiltzearen ondorioz. Bestalde, 1,3-propanodiolaz plastifikatutako laginentzat lortutako transmitantzia balio baxuak, almidoiaren eta plastifikatzailearen arteko bateragarritasun faltarekin erlaziona daitezke. Gainera, 3.4.1. Ataleko XRD emaitzek erakusten duten moduan, CSpd35 laginentzat lortutako antolamendu kristalino desberdinak gelatinizazio prozesuan 1,3-propanodiolak duen eraginkortasun baxuagoaren isla izan daiteke.



3.6. Irudia – PLS filmen UV-vis transmitantzia neurketak.

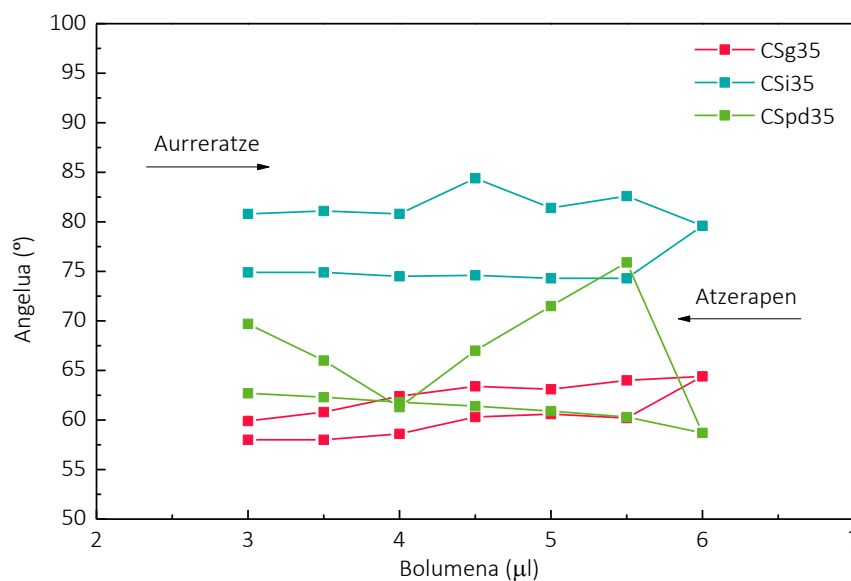
### 3.4.3. Gainazal propietateak

Materialen hidrofobotasunaren azterketari dagokionez, kontaktu angelu saiakuntza estatiko eta dinamikoak funtsezkoak dira. Gure kasuan, kontaktu angelu dinamiko neurketak (aurrerapen eta atzerapen) *needle-in drop* teknika erabiliaz burutu dira, plastifikatzaileak PLS filmen bustitzean duten efektua aztertzeko. Filmek hidrofilitasun altuak angeluak neurtzeko sortutako arazoak saihesteko, saiakuntza guztiak etilen glikola erabiliz burutu dira ura erabili beharrean. Emaitzak 3.7. Irudian azaltzen dira.

Emaitzek erakusten duten bezala, aurreratze kontaktu angelu balioak ( $\theta_a$ ) atzeratze kontaktu balioak ( $\theta_r$ ) baino handiagoak dira, zeinak likido polarrekin lan egiten denean gainazaleko talde dispersibo eta polarrekin sortutako interakzioekin erlazionatuta dauden [17]. Plastifikatzaileen egitura kimikoak PLS filmek gainazal propietateetan eragina duela baieztatu da. Nabari den bezala, CSi35 filmek kontaktu angelu balio altuenak erakusten dituzte, materialaren bustitze baxuena erakutsiz eta beraz, gainazal energi balio baxuenak. CSg35 eta CSpd35 laginentzat kontaktu angelu

balio baxuagoak lortu dira. Glizerol eta 1,3-propanodiolaz plastifikatutako filmek antzeko angelu balioak erakusten dituzte, nahiz eta azkenekoaren neurketa batzuk joera orokorretik urruntzen diren.

Likidoaren eta gainazalaren arteko interakzio desberdinak kontaktu angelu histeresiaren erantzule dira, hau da, likidoaren eta gainazalaren arteko interakzio polar eta dispertsibo kopurua, gainazalaren zimurtasuna edo heterogeneitate kimikoa [17]. Oro har, likido polarrak erabiltzean aurreratze kontaktu angelua kontaktu angelu estatikoaren antzekoa dela onartzen da eta kontaktu angelu dinamikoa baino txikiagoa dela. Lortutako emaitzak kontutan hartuta, glizerolaren kasuan gainazal polar homogeneoa ondoriozta daiteke, aurreratze eta atzeratze kontaktu angelu txikiak lortu baitira. Aldiz, D-isosorbidarekin plastifikatutako PLS filmetan lortutako aurrerapen kontaktu eta histeresi balio altuek talde dispertsiboen kontribuzioa erakusten dute.



3.7. Irudia – PLS filmen aurreratze eta atzeratze kontaktu angelu neurketak.

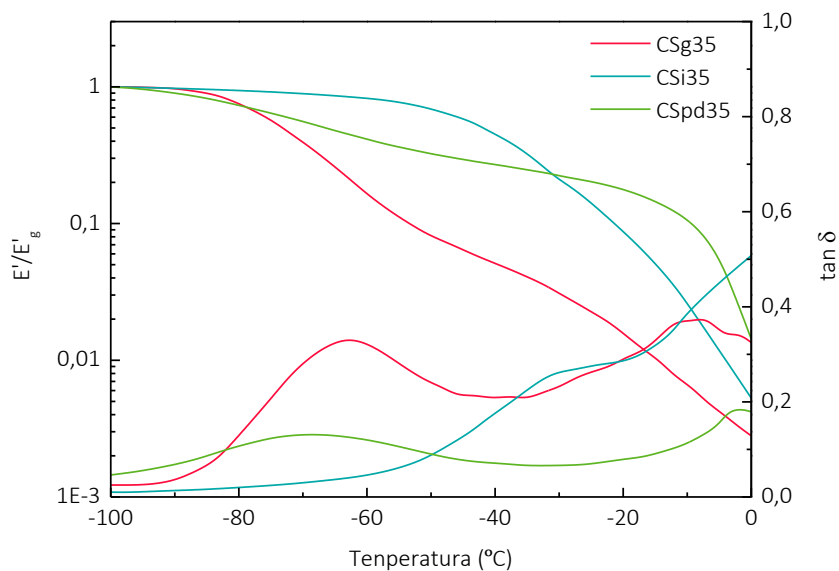
#### 3.4.4. Analisi mekaniko dinamikoa

DMA neurketak filmen portaera biskoelastikoa ebaluatzeko eta erlaxazio trantsizio nagusiak zein tenperaturan ematen diren determinatzeko burutu dira. Tenperaturarekiko pilaketa modulu



normalizatua ( $E'/E'_g$ ) (non  $E'_g$  -100 °C-tako pilaketa moduluari dagokion) eta  $\tan \delta$ -k duten garapena 3.8. Irudian aurkezten dira.

Lagin guztiek bi modulu erorketa aurkezten dituzte  $\tan \delta$  pikoaren temperaturarekin bat eginez eta plastifikatzailean aberatsa den fasea ( $T_{\alpha 1}$ ) eta almidoian aberatsa den faseari ( $T_{\alpha 2}$ ) atxikiak daudenak [8,18,19]. Nabari den bezala, plastifikatzailean aberatsak diren domeinuekin erlazionatutako erlaxazio tenperatura plastifikatzaile motaren menpekoa da. Horrela, -70 °C, -63 °C eta -30 °C-tako  $\tan \delta$  maximoaren tenperatura balioak neurtu dira CSpd35, CSg35 eta CSi35 laginentzat, hurrenez hurren. Hala ere, azpimarratu behar da 1,3-propanodiolaren kasuan bi erlaxazio nagusiak oso banatuak daudela, hurbilago glizerolaren kasua eta ia gainezarrita D-isosorbidarentzat. Emaitza honen arabera, almidoi plastifikatuaren antolaketa bifasikoa ez dela kasu guztietan eskala berdinean eman ondoriozta daiteke, CSpd35ko guztiz banatutako bi faseetatik CSi35 laginaren antolamendu monofasikora pasaz. Emaitza hauek CSpd35 laginarentzat lortutako transmitantzia balio baxuekin bat datoz.



3.8. Irudia – PLS filmen  $E'/E'_g$  eta  $\tan \delta$ -ren bilakaera temperaturarekin.

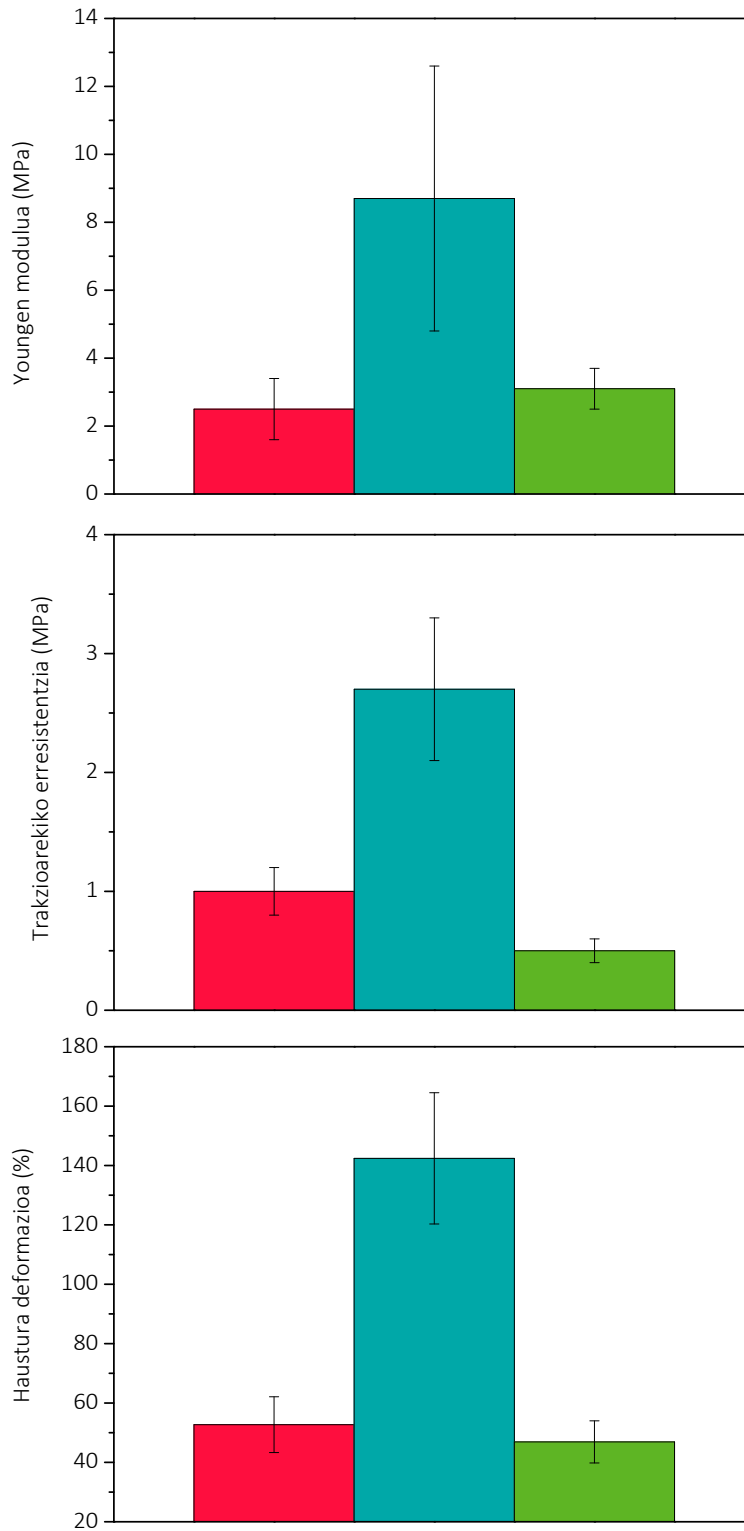
### 3.4.5. Propietate mekanikoak

Trakzio saiakuntzak burutu dira hiru plastifikatzaileekin gelatinizatutako PLS filmen portaera mekanikoa aztertzeko. Lortutako emaitzak 3.9 Irudian jasotzen dira. Literaturan frogatu den bezala, almidoiaren gelatinizaziorako soilik tenperatura eta ura erabiltzen denean, bukaerako materiala oso hauskorra da. Literaturan azaltzen den bezala [16,20,21], plastifikatzaileen erabilpenak almidoian oinarritutako materialen malgutasun eta prozesagarritasuna hobetzen ditu. Izan ere, plastifikatzaileek almidoi kateen arteko hidrogeno lotura intermolekurrak txikitzeko gaitasuna dute, bolumen askea handituz, eta ondorioz, kate polimerikoen mugikortasuna handituz. Gelatinizazioaren ondoren eratutako almidoi-plastifikatzaile indar intermolekular berriek, bukaerako  $T_g$  balioa txikitzen dute material prozesagarri bat lortuz [22].

Aurreikusi zen bezala, lortutako filmen tentsio propietateak erabilitako plastifikatzaileen oso menpekoak dira. Aipatu behar da portaera mekanikoarekin lotutako zenbait aldagai, halaber hezetasun erlatiboa edo biltegitratze denbora [23,24], kasu guztietan berdinak direla eta, ondorioz, pisu molekularra, egitura kimikoa edo plastifikatzailearen hidrofobotasuna faktore erabakigarriak izango dira lortutako emaitzak aztertzerakoan. Ikus daitekeen bezala, desberdintasun esanguratsuak nabari dira glizerol eta 1,3-propanodiolaz plastifikatutako filmak, D-isosorbidaz plastifikatutakoekin alderatuz, azken honentzat Youngen modulu altuagoak lortu direlarik.

D-isosorbidaren pisu molekular handia eta bere egitura kimiko ziklikoa, CSi35 laginarentzat neurtutako zurruntasun altuaren erantzule izan daiteke. Horrez gain, D-isosorbidaz plastifikatutako filmek tentsio balio altuena aurkezten dute, glizerolaz plastifikatutakoez jarraituta, 1,3-propanodiola dutenek portaera okerreana aurkezten dutelarik. Gainera, 3.9. Irudian azaltzen den bezala, D-isosorbidaren erabilerak deformazio balio altuak dakartza trakzio erresistentzia eta Youngen modulua handitzearekin batera, CSi35 materialaren zailtasunaren hobekuntza bikaina lortuz.

Emaitzek almidoia eta D-isosorbidaren arteko bateragarritasun ona berretsi egiten dute erantzun mekanikoa interfaseko hidrogeno lotura eraginkorrekin erlazioa baitaiteke [21].



3.9. Irudia – CSG35, CSI35 eta CSPD35 laginen propietate mekanikoak.

### **3.4.6. Hesi propietateak**

Filmetan zehar gas eta ur baporearen garraioa neurtu da, plastifikatzaileak hesi propietateetan duten eragina aztertzeko. Jakina den bezala, polisakarido oinarri duten filmek gas ( $O_2$ ,  $CO_2$ ) iragazkortasun balio baxuak azaltzen dituzte eta, aldiz, urarekiko iragazkortasun handiegia aurkezten dute [16,20]. Ur bapore eta oxigeno iragazkortasun (WVP eta OP) balioak 2.8 eta 2.9 ekuazioak erabiliz kalkulatu dira. WVP eta OP emaitzak 3.3. Taulan biltzen dira.

Ur bapore iragazkortasunari (WVP) dagokionez, iragazkortasun balio altuak lortu dira lagin guztientzat, soilik desberdintasun txikiak nabariz. Filma zeharkatzen duten bapore molekulen garraioa difusio eta disolbagarritasun fenomenoek goberna dezakete [25], bai ur molekulek filma zeharkatzeko duten gaitasuna baita polimero/ur interakzio mailarekin erlazionatuta, hurrenez hurren. Plastifikatzaileen erabilerak kate polimerikoen arteko bolumen askea handitzen du, ondorioz difusio koefizientea handituz. Gainera, almidoi eta plastifikatzailearen arteko afinitate ona eta hidrogeno zubiko interakzioek disolbagarritasun koefizientearen handitzea dakarte [16,21,25,26]. Horrez gain, alboko kate polimerikoen polaritate eta egitura ezaugarriak, hidrogeno loturak, pisu molekularra eta polisakabanaketa, adarkatze eta saretze maila, prozesatze metodologia eta kristalinitate maila disolbagarritasun eta difusio koefizienteetan eragina izan dezakete, eta ondorioz, materialaren hesi propietateetan [27]. Lagin guztientzat lortutako antzeko WVP balioek, PLS filmen kasuan uraren disolbagarritasun handiak garraio prozesu osoa zuzentzen duela adierazten dute, almidoia eta plastifikatzailearen arteko interakzioen kalitatearen menpe ez dagoelarik.

Beste aldetik, desberdintasun esanguratsuak ikusi dira OP balioentzat. D-isosorbida erabiliz plastifikatutako filmentzat lortutako OP balio baxuak nabarmendu behar dira. Plastifikazioak bolumen askearen handitzean duen eraginaren arabera, emaitzek D-isosorbida duten filmen kasuan plastifikazioaren eragina txikiagoa izan dela adierazten dute. Kasu honetan, iragazkortasunaren txikitzeak oxigeno molekula txikien hedapenerako bidea oztopatua dagoela adieraz dezake, almidoia

eta plastifikatzailearen arteko interakzio maila hobea dela ondorioztatuz. Emaitza hauek DMAren erlaxazio trantsizio nagusien ondorioekin bat datoz, D-isosorbidak almidoiarekin bateragarritasun handiagoa aurkezten duela baieztatuz. Bestalde, 1,3-propanodiolaz plastifikatutako laginei dagokienez, OP balio nabarmen handiagoak lortu dira aurrez ikusitako almidoia eta plastifikatzailearen arteko bateragarritasun txarrarekin lotu zitekeena.

3.3. Taula – PLS filmen hesi propietateak.

<b>Lagina</b>	<b>WVP</b> <b>(kg m m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> Pa<sup>-1</sup>) x 10<sup>13</sup></b>	<b>OP</b> <b>(cm<sup>3</sup> mm m<sup>-2</sup> egun<sup>-1</sup> atm<sup>-1</sup>)</b>
<b>CSg35</b>	6,8 ± 0,6	3,7 ± 0,1
<b>CSi35</b>	6,0 ± 0,6	0,5 ± 0,0
<b>CSpd35</b>	8,5 ± 0,6	10,9 ± 0,1

#### 3.4.7. Analisi termograbitmetrikoa

TGA neurketak plastifikatzaile desberdinek PLS filmen egonkortasun termikoan duten eragina aztertzeko burutu dira. Plastifikatzaile puruen eta lortutako filmen degradazio termikoaren portaera eta azken hauen ur edukiak 3.10. Irudian eta 3.4. Taulan erakusten dira, hurrenez hurren.

Konparatzeko helburuarekin, lehenik plastifikatzaileen TGA neurketak burutu dira. 3.10. Irudian ageri den bezala, 1,3-propanodiola, glizerola eta D-isosorbidaren deskonposizio termikoak degradazio etapa bakar batean ematen dira 160, 230 eta 242 °C -tan, hurrenez hurren.

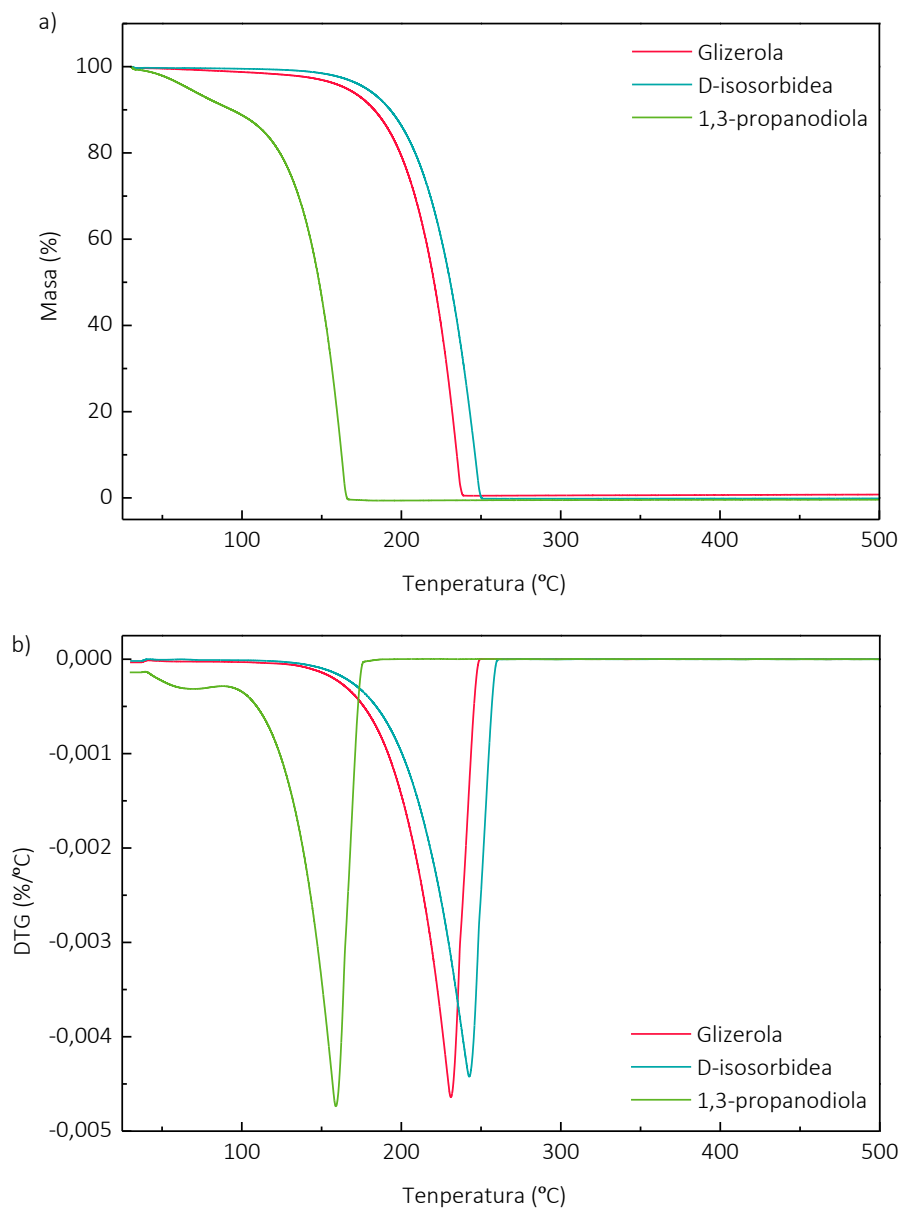
PLS filmei dagokienez, emaitzek almidoian oinarritutako filmen degradazio termikoa plastifikatzailearen jatorriaren menpekoa dela baieztatzen dute, bereziki lehenengo etapari dagokionean. Nitrogeno atmosferan burututako glizerolaz plastifikatutako almidoia filmen degradazioak hiru masa galera etapa barne hartzen ditu [8,28] hau da 1) hezetasunaren galera (25-100 °C), 2) glizerolean aberatsa den fasearen deskonposizioa (100-200 °C) eta 3) partzialki deskonposatutako almidoiaaren oxidazioa (340 °C inguru). Gure kasuan, glizerolaz plastifikatutako

laginek, azaldu berri den hiru etapetako eredu hau aurkezten dute. D-isosorbida eta 1,3-propanodiolaz plastifikatutako laginek ordea, hainbat desberdintasun azaltzen dituzte bere portaeran. Alde batetik, CSpd35 laginaren kasuan, 200 °C azpitik masa galera tarte zabal batean gradualki ematen da, non tenperatura baxuko bi etapak ia gainezartzen diren eta degradazio nagusiaren *onset* balioa tenperatura altuagoetara aldatzen den. Beste aldetik, CSi35 filmen degradazioa bi etapa nagusietan ematen da. Lehenengo etapa, gainontzeko filmen antzera 100 °C inguru ematen da, ondoren materialaren degradazioak etapa bakar bat aurkezten duelarik, 170 °C eta 370 °C tartean. Kontutan hartu behar da, plastifikatzaile edukia berdina izanik ere, kasu honetan, filmaren egonkortasun termikoa ia degradazio etapa nagusiraino mantentzen dela, 300 °C hurbil alegia. Emaidza hauek estrusioz lortutako D-isosorbida/almidoi nahasteentzat argitaratutako literaturarekin bat datoz [29].

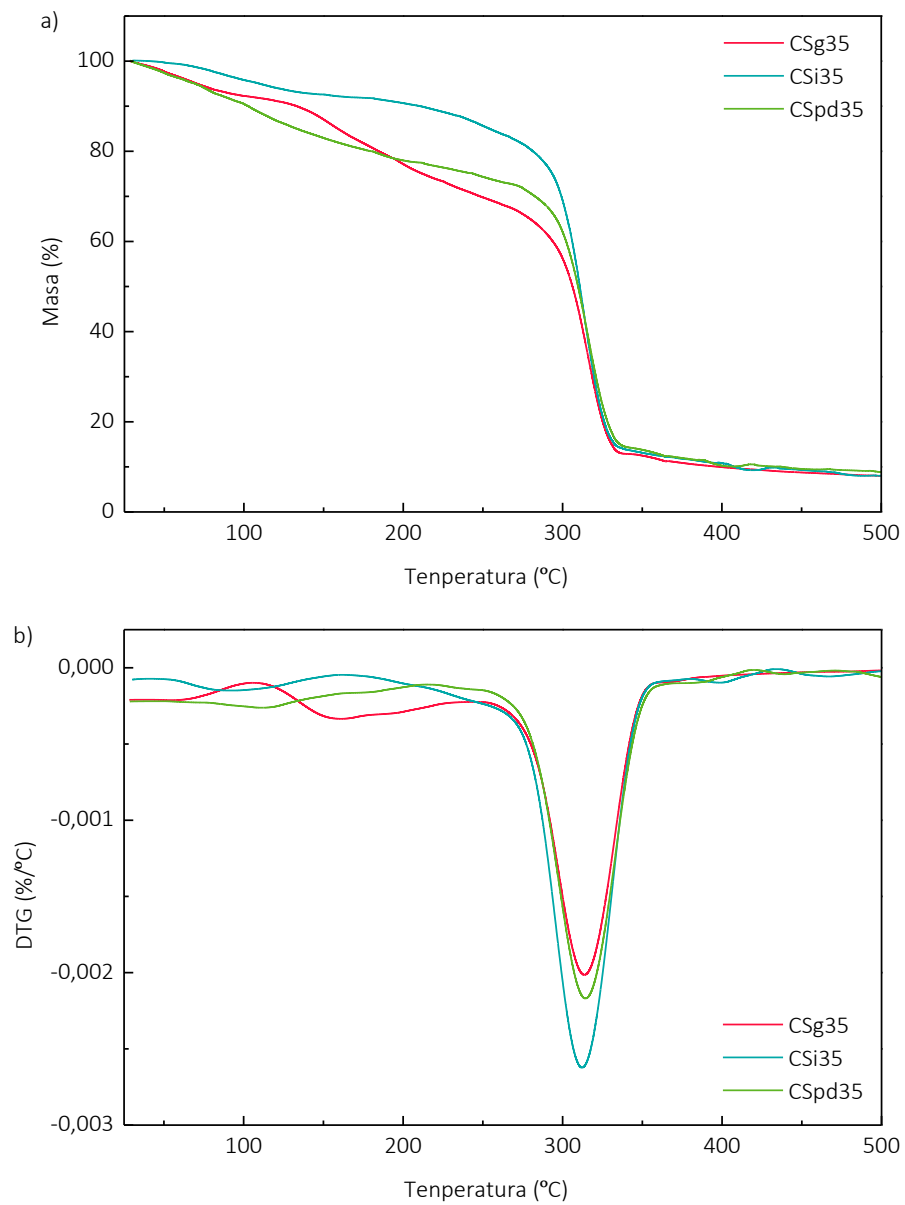
Rico eta kideek [30] poliol desberdinek almidoi materialetan plastifikatzaile bezala erabiltzearen efektua aztertu zuten eta PLSaren egonkortasun termikoa plastifikatzaileen pisu molekularrarekin batera handitzen dela ondorioztatu zuten. Horrez gain, almidoi/plastifikatzaile interakzio mailaren menpe dagoen hezetasun edukiak ere, egonkortasun termikoan eragin dezake [31]. 3.4. Taulan TG kurbetatik kalkulaturako hezetasun edukiak aurkezten dira. Emaidzetan ikus daitekeen bezala, D-isosorbida laginek hezetasun eduki txikiak aurkezten dituzte. Averous eta Pollet-ek [19] plastifikatzailearen jatorri eta edukiaren arabera, sisteman interakzio desberdinak emango direla baieztatu zuten. Almidoi/plastifikatzaile interakzioak sendoak direnean, plastifikatzaileak xurgatze gune espezifikokoak betetzen ditu eta ur edukia txikitzen da. Horrela, 1,3-propanodiolaz plastifikatutako laginen ur eduki altua, kate polisakarido eta plastifikatzailearen arteko interakzio ahulei atxiki daiteke [19]. 1,3-propanodiol eta glizerolaz plastifikatutako laginen kasuan, bigarren degradazio etapa, dagokien plastifikatzaile puruaren ebaporazio tenperaturarekin bat dator, 160 °C eta 230 °C, hurrenez hurren. D-isosorbidez plastifikatutako laginek aldiz, egonkortasun hobe aurkezten dute tenperatura altuetaraino, kasu honetan plastifikatzailean aberatsak diren

domeinuen degradazio etaparik nabarmendu gabe. Emaitza hauek, D-isosorbidez plastifikatutako laginek, glizerol eta 1,3-propandiolaz plastifikatutakoak baino homogeneousun hobeazaltzen dutela baieztatzen dute. Ondorio hauek UV-vis espektroskopia, DMA neurketak eta OP balioak berresten dituzte.

Azkenik, hondakin portzentajeaz plastifikatzailearen jatorriari lotutako desberdintasunik ez da nabari. %10ko hondakina lortu da kasu guztietarako, laginen almidoi kopuruarekin bat eginik.



3.10. Irudia – Plastifikatzaile puruen a) TG eta b) DTG kurbak.



3.11. Irudia – PLS filmen a) TG eta b) DTG kurbak.

3.4. Taula – PLS filmen hezetasun espezifikoa.

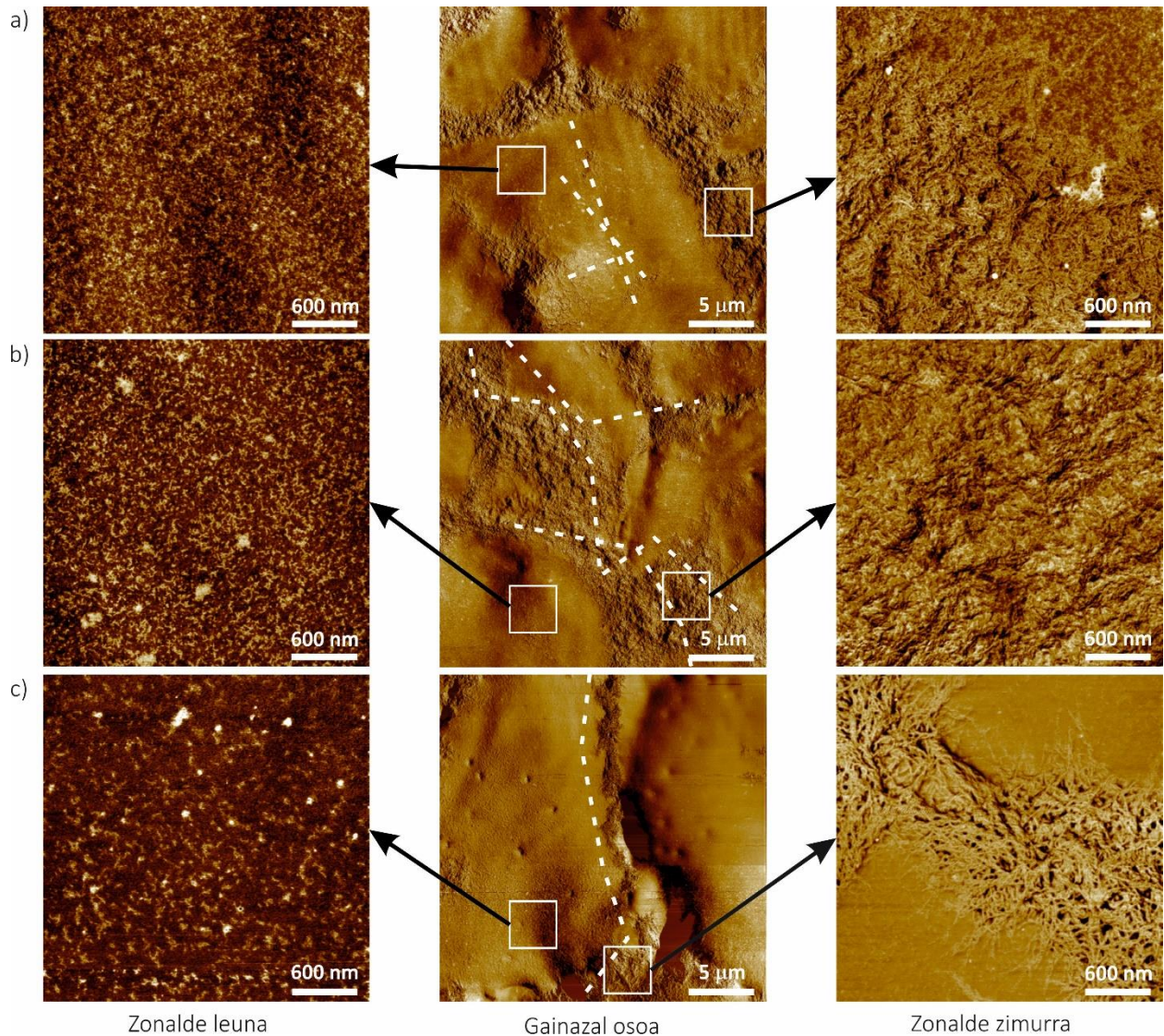
Lagina	Hezetasun espezifikoa (%)
CSg35	7,68
CSi35	4,71
CSpd35	10,23



### 3.4.8. Karakterizazio morfologikoa

Laginen karakterizazio morfologikoa eta plastifikatzaileek laginen topografian duten eragina AFM bidez aztertu da. Lortutako AFM irudiak 3.12. Irudian jasotzen dira.

Lagin guztien AFM irudiak zimurtasun desberdinaz bereizten diren bi faseko mikroegitura aurkezten dutela ikusi da. Zoritxarrez, literaturan almidoian oinarritutako materialen fase distribuzio eta morfologia ezaugarriekin erlazionatutako AFM lan gutxi argitaratu dira [32–35]. Horien artean, Thiré eta kideek [34] AFM teknika erabili zuren arto almidoi eta glizerol suspentsioen gelatinizazio prozesua jarraitzeko. Halaber, aipatutako bi zonalde edo domeinuak ere desberdintzen zituzten eta, 3.12. Irudian (a - c) (azalera osoa,  $25 \mu\text{m} \times 25 \mu\text{m}$ ) erakusten den bezala, domeinu zurrungatik inguratutako eremu leunak agertzen direlarik. Azalera osoko zenbait irudietan antzeman daitekeen bezala, inguruko eremu zimurrak itxura ia poliedrikoa du, almidoi granuluen jatorrizko formari atxiki daitekeena [34]. Rindlav-Westling eta Gatenholmek [36] amilosa eta amilopektina filmak AFM bidez aztertu zituzten eta almidoi filmetan aurkeztutako zonalde zimurrak amilosari zegozkiela ondorioztatu zuten bere izaera erdikristalinoa dela eta, zonalde leunak aldiz amilopektina domeinui atxikiz. Eskualde bakoitzean sakonago lortutako irudiak (3.12. Irudia (a – c), zonalde leun eta zimurrak,  $3 \mu\text{m} \times 3 \mu\text{m}$ ) aipatutako domeinuen ezaugarri zehatzak erakusten dituzte: hiru kasuetan zonalde leunek bi eremu azaltzen dituzte, AFM fase irudietan ilunagoak eta argiak agertzen direnak beraien zurruntasun baxu eta altuagatik, hurrenez hurren. Zurruntasun desberdintasun hauek ez dira zonalde zimurretan bereizgarri. Filmen zimurtasunari dagokionez, 1,3-propanodiolaz plastifikatutako filmek balio handienak aurkezten dituzte ( $R_q = 356 \text{ nm}$ ,  $R_q = 281 \text{ nm}$  eta  $R_q = 205 \text{ nm}$  CSpd35, CSg35 eta CSi35 laginentzat, hurrenez hurren). 3.12. Irudian (c) (zonalde zimurra) ikus daitekeen modura, 1,3-propanodiolaz plastifikatutako laginek zonalde zimurrean itxura fibrilar argia erakusten dute, zimurtasun balioaren handitzea dakarrena.



3.12. Irudia – a) CSg35, b) CSI35 eta c) CSpd35 filmen AFM altura irudiak.

### 3.5. PLASTIFIKATZAILEAREN ERAGINA TPS FILMEN PROPIETATEETAN

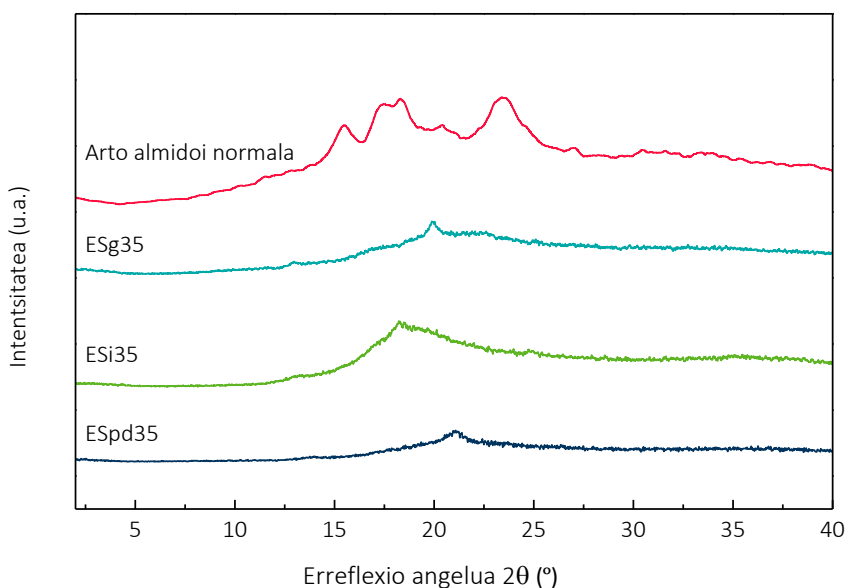
Industri ikuspuntua kontutan hartuta, estrusio eta konpresio teknikak fabrikazio metodo egoki bezala aukeratu dira. TPS filmak glizerola, D-isosorbida eta 1,3-propanodiola gehituz prestatu dira propietate oparoak eta eskala handiko ekoizpenak lortzeko. Propietate fisiko-kimiko, termiko, mekaniko eta hesi propietateetan plastifikatzaile mota eta fabrikazio teknikek duten eragina ebaluatu da.

### 3.5.1. X-izpien difrakzioa

Plastifikatzailearen eraginkortasuna XRD bidez aztertu da (Ikusi 3.13).

Antzeman daitekeen bezala, hasierako A motako egitura kristalinoa, almidoia/ura/plastifikatzaile nahasketari aplikatutako energia termomekanikoaren bidez suntsitu egin da. ESg35, ESi35 eta ESpd35 almidoizko filmen difraktogramen kristalinitate azalera nabarmenki txikitzen da eta  $2\theta = 19^\circ$ ,  $2\theta = 18^\circ$  eta  $2\theta = 21^\circ$ -tan intentsitate txikiko piko bana ageri da hurrenez hurren, hiru materialak modu zuzenean lortu direla adieraziz.

Glizerola duten laginentzat  $2\theta = 19^\circ$ -tan agertzen den piko, normalean  $2\theta = 13.3^\circ$ -tako beste pikoarekin batera azaldu ohi da eta orokorrean aplikatutako ebakidura tentsioaren ondorioz sortutako Vh motako kristalinitate egiturari atxikitzen zaio [29]. Hala ere, ESi35 laginaren kasuan, piko  $2\theta = 18^\circ$ -tan agertzen da, Eh-motako kristalinitate egiturarekin erlazionatzen dena eta, oro har, Vh egitura eratzeko baina ebakidura tentsio handiagoaz prozesatzen denean sortzen dena. Emaitza hauek beste egileek argitaratutakoarekin bat datoz [29] eta D-isosorbidak almidoia plastifikatzeko duen gaitasuna adieraz dezake, baita prozesatze temperatura txikietan ere.

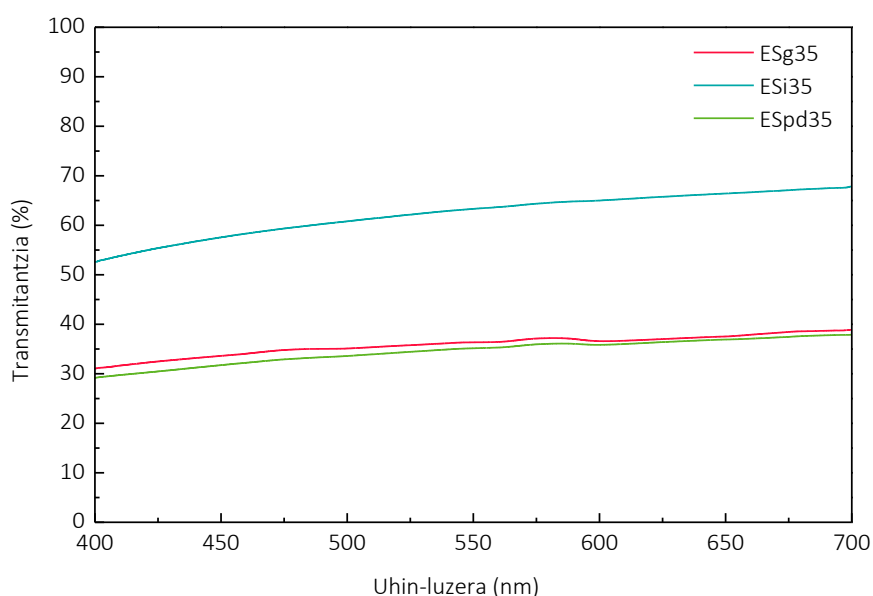


3.13. Irudia – Arto almidoi normala eta TPS filmen XRD difraktogramak.

### 3.5.2. Propietate optikoak

TPS laginen gardentasuna UV-vis espektroskopia bidez aztertu da. Emaitzak 3.14. Irudian azaltzen dira. Ikus daitekeen bezala, hiru TPS artean transmitantzia balio diferentzia nabarmenak ikusi dira plastifikatzaileak duen eragina adieraziz. Normalean gertatzen den bezala, kasu guztietan transmitantzia balioa handitu egiten da uhin luzera handitzen denean [37]. Hala ere, D-isosorbidez plastifikatutako filmek (%65,0), glizerol eta 1,3-propanodiolaz plastifikatutakoak baino transmitantzia balio askoz handiagoak erakusten dituzte (%36,5 eta %35,8, hurrenez hurren).

Gainera, estrusio/konpresio bidez lortutako filmen transmitantzia balioak kasu guztietan PLS filmentzat lortutakoak baino handiagoak direla ikusi da, halaber, %18,2 CSg35 laginarentzat, %16,8 CSi35 laginarentzat eta %9,2 Cspd35 laginarentzat (3.4.2. Atalean). Gardentasuna filmen lodieraren menpe egon daitekeen arren [38], aipatutako desberdintasunak ezin dira faktore honekin erlazionatu *solvent casting* bidez lortutako filmen lodiera estrusio/konpresio bidez lortutakoen oso antzekoa baita. Hori dela eta, estrusio prozesuaren bitartean aplikatutako ebakidura tentsioaren ondorioz almidoi/plastifikatzaile bateragarritasuna hobetzen dela ondorioztatzen da, prozesaketa termomekanikoari esker gardentasun propietateak hobetuz.

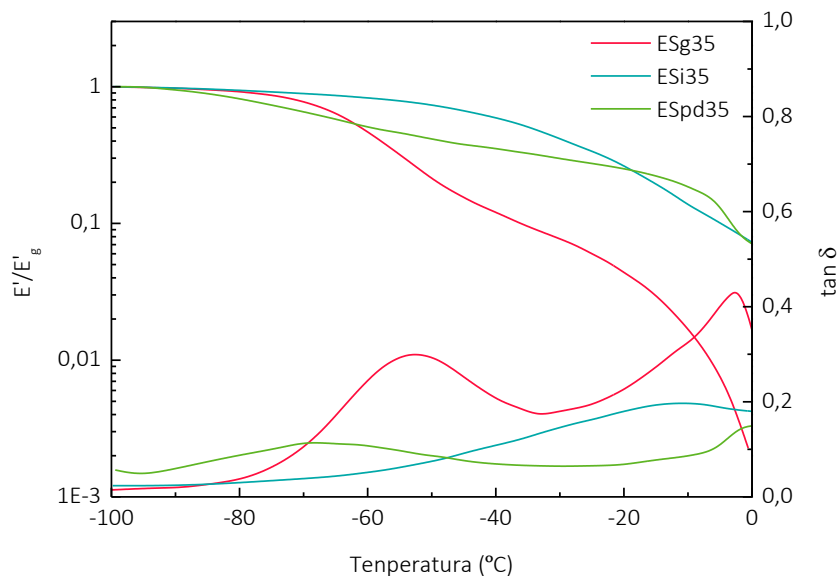


3.14. Irudia – TPS filmen UV-vis transmitantzia neurketak.

### 3.5.3. Analisi mekaniko dinamiko

DMA neurketak glizerola, D-isosorbida eta 1,3-propanodiolaz plastifikatutako TPS filmen erlaxazio tenperatura nagusiak aztertzeko burutu dira. Pilaketa modulu normalizatua ( $E'/E'_g$ ) eta  $\tan \delta$ -k tenperaturarekiko duten bilakaera 3.15. Irudian aurkezten dira.

Antzematen den bezala, glizerola eta 1,3-propanodiolaz plastifikatutako laginek plastifikatzailean aberatsa den fasea ( $T_{\alpha 1}$ ) eta almidoian aberatsa den fasearekin ( $T_{\alpha 2}$ ) erlazionatzen diren bi modulu erorketak aurkezten dituzte, PLS filmetan ematen diren tenperatura beretan [18,39,40]. Aitzitik, D-isosorbidarekin lortutako TPS filmek beste portaera biskoelastiko bat aurkezten dute, izan ere, modulu erorketa bakarra aurkezten dute tenperatura nabarmenki handiagotan. Emaitzek gainera ESi35ren kasuan nahaskortasun maila handiagoa lortu dela adierazten dute bere baliokide den CSi35 laginarekin konparatuz, non bi trantsizio nagusiak gainjartzen diren arren erraz bereizi daitezkeen. Fase bakarreko material homogeneoa lortzeak TPS laginek duten transmitantzia balio handiagoa ere azaltzen du, PLS materialekin konparatuz.

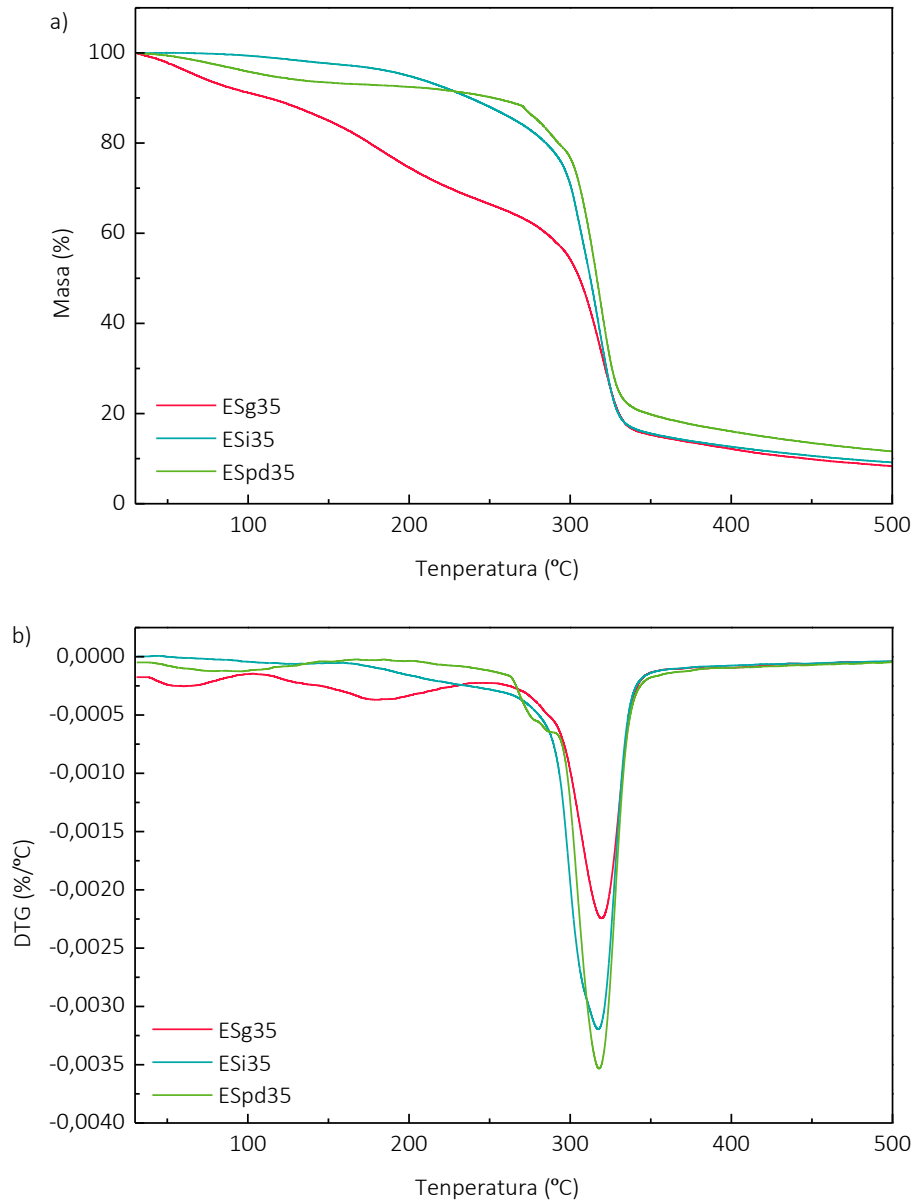


3.15. Irudia –TPS filmen  $E'/E'_g$  eta  $\tan \delta$ -ren bilakaera tenperaturarekin.

### 3.5.4. Analisi termograbitrikoa

Estrusio/konpresio bidez lortutako TPS filmen degradazio termikoa TGA bidez aztertu da.

3.16. Irudian ESg35, ESi35 eta ESpd35 filmen TG eta DTG kurbak aurkezten dira.



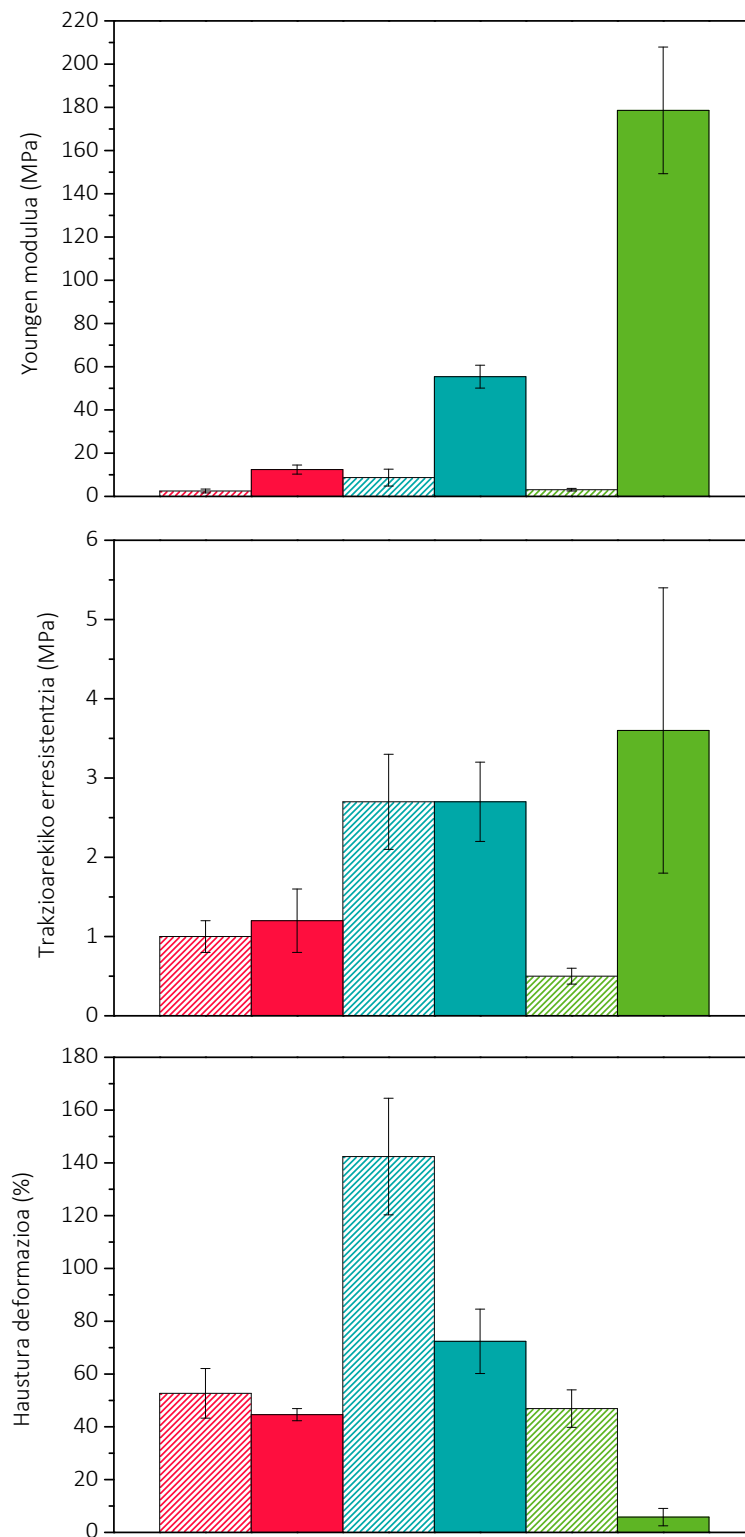
3.16. Irudia – TPS filmen a) TG eta b) DTG kurbak.

Ikus daitekeen modura, almidoian oinarritutako TPS filmen degradazio termikoa plastifikatzaile motaren menpekua da. Emaitzek PLS filmen portaera berdina erakusten dute. Aipatzekoa da ESi35 laginarentzat hezetasun edukiera murrizten dela. Bestalde, CSpd35 eta ESpd35 laginak alderatuz, ESpd35 laginaren kasuan, masa galera txikiagoa ikusten da plastifikatzailearekin erlazionatutako bigarren degradazio etapan. Honek, estrusio eta konpresio urratsetan plastifikatzailea galdu egin dela iradoki dezake, tenperatura altuetan 1,3-propanodiola lurrundu edo degradatu baitaiteke (Ikusi 3.10. Irudia).

### **3.5.5. Propietate mekanikoak**

Plastifikatzaileak estrusio/konpresio bidez lortutako filmen portaera mekanikoan duen eragina trakzio-saiakuntza neurketen bidez aztertu da. Lagin guztien emaitzak 3.17. Irudian aurkezten dira. PLS filmen tentsio-deformazio balioak ere konparazio modura aurkezten dira (3.4.5. Atala).

PLS filmetan gertatzen den modura, plastifikatzaile motak materialaren portaera mekaniko orokorrean eragiten du, desberdintasun esanguratsuak ikus daitezkeelarik, bereziki 1,3-propanodiolaren kasuan. Hain zuzen ere, ESpd35 laginak, material hauskorren antzera, Youngen modulu eta trakzio erresistentzia altuena erakusten du, haustura-deformazio balio oso txikiak aurkezten dituen bitartean. Emaitza hauen arabera, 1,3-propanodiolaz plastifikatutako filmetan plastifikazio eraginkorra lortu ez dela iradoki daiteke, estrusio eta konpresio urratsetan zehar ematen den 1,3-propanodiolaren lurrunketa edo degradazioarekin erlazionatu daitekeena. Bestalde, glizerola eta D-isosorbida duten filmek portaera mekaniko hobea aurkezten dute. Bi lagin hauek konparatuz, bigarrenaren portaera mekanikoan zailtasun eta zurruntasun handiagoa antezman daiteke. Hain zuzen ere, ESi35 laginaren Youngen modulua ESg35 laginarena baino 5 aldiz handiagoa da, haustura deformazioa ere nabarmenki handiagoa izanik. Emaitza hauetatik D-isosorbidak plastifikazio eraginkorrena ekarri duela ondoriozta daiteke, 1,3-propanodiolarentzat aldiz aurreikusten ez den portaera ahula lortu da.



3.17. Irudia – *Solvent casting* (marradun patroia) eta estrusio/kompresio (betetako patroia) bidez lortutako eta ■ Glizerol, ■ D-isosorbida and ■ 1,3-propanodiolaz plastifikatutako filmen propietate mekanikoak.



Lortutako TPS filmak *solvent casting* bidez prestatutakoekin alderatuz, prozesaketa termomekanikoaren bidez material zurrunagoak lortu dira, trakzio erresistentzia balio handiagoak eta deformazio txikiagoak erakutsiz. 1,3-propanodiolarentzat lortutako emaitzen arabera, portaera mekanikoan filmen prestaketa baldintzek eragin handia dutela ondoriozta daiteke, 1,3-propanodiolaren lurruntze eta degradazio tenperaturak estrusio eta konpresio tenperaturengatik oso hurbil baitaude. Beraz, 1,3-propanodiola ez da TPS filmen plastifikatzaile eraginkorra, PLS filmetarako egokia izan daitekeen bitartean. Emaitza hauek TGA ondorioekin bat datoz, estrusio eta konpresio prozesuetan ematen den 1,3-propanodiolaren lurruntze edo degradazioak plastifikazio efektu txikiagoa dakar, portaera mekaniko ez aproposa lortuz.

### 3.5.6. Hesi propietateak

Estrusio bidez lortutako almidoian oinarritutako materialen hesi propietateak grabimetrikoki neurtu dira ur lurrun eta oxigeno garraioa filmaren zehar ebaluatuz. Emaitzak 3.5. Taulan laburbiltzen dira. ESpd35 lagina oso hauskorra da eta zoritxarrez ezin izan dira hesi propietateak aztertu.

PLS filmentzat aurkeztutako emaitzen bidez (3.4.6. Atala) WVPa, almidoi/ur afinitate handia dela eta, ur molekulen eta filmaren elkarrekintzen eta filmean sartzeko duten gaitasunaren menpe dagoela frogatu da batez ere, beraz almidoi/plastifikatzaile interakzioen kalitateak ez du eraginik. Kontutan hartu behar da plastifikatzaile edukia hesi propietateetan faktore garrantzitsua dela ere [41]. TPS filmentzat lortutako emaitzak *solvent casting* bidez eta plastifikatzaile edukiera berdinarekin lortutako filmen antzekoak dira, WVP desberdintasun nabariak ikusi ez direlarik plastifikatzaile desberdinen eraginez.  $(8,3 \pm 1,5) \times 10^{-13}$  eta  $(10,9 \pm 3,7) \times 10^{-13} \text{ kg m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$  WVP balioak neurtu dira ESg35 eta ESi35 laginentzat, hurrenez hurren. Aldiz, plastifikatzaile motak eragin handia du OP emaitzetan, hogeitxikiagoak diren balioak lortuz ESi35 laginarentzat glizerolarekin plastifikatutakoarekin konparatuz,  $10,9 \pm 3,5$  and  $0,6 \pm 0,3 \text{ cm}^3 \text{ mm m}^{-2} \text{ day}^{-1} \text{ atm}^{-1}$ -ko ESg35 eta

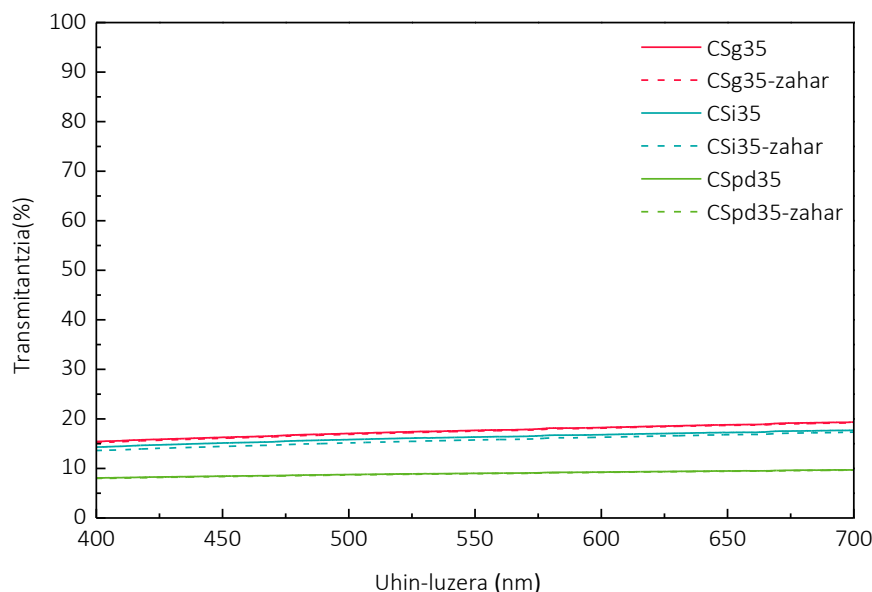
ESi35 lagingentzat, hurrenez hurren. Plastifikatzaile molekula eta kate polimerikoen arteko elkarrekintza sendoen ondorioz, eta aldi berean plastifikatzailearen egitura kimiko ziklikoak sor dezakeen mugikortasun murrizteari esker, plastifikazioa D-isosorbidarekin burutzen denean bolumen askea txikitzen da eta honek OP propietatearen hobekuntza dakar.

### **3.6. ERRETROGRADAZIOAREN ERAGINA TPS FILMEN PROPIETATEETAN**

Erretrogradazioak amilosa eta amilopektina kateen berrantolaketa eta birkristaltzea dakar berehala gelatinizazioaren ondoren eta biltegitratze denboran zehar, almidoian oinarritutako filmen portaera mekanikoari eraginez eta beraz, materialen aplikagarritasuna arriskuan jarriz [37,42]. Erretrogradazioak almidoian oinarritutako materialetan duen garrantzia kontutan hartuta, karakterizazioa biltegitratze denbora zehatz baten ondoren errepikatu da, plastifikatzaile motak erretrogradazio mailan duen eragina aztertzeko asmoz. Horrela, *solvent casting* bidez lortutako PLS filmak (3.2.1. Atala) gelatinizazio unetik lau astez zahartzen utzi dira.

#### **3.6.1. Propietate optikoak**

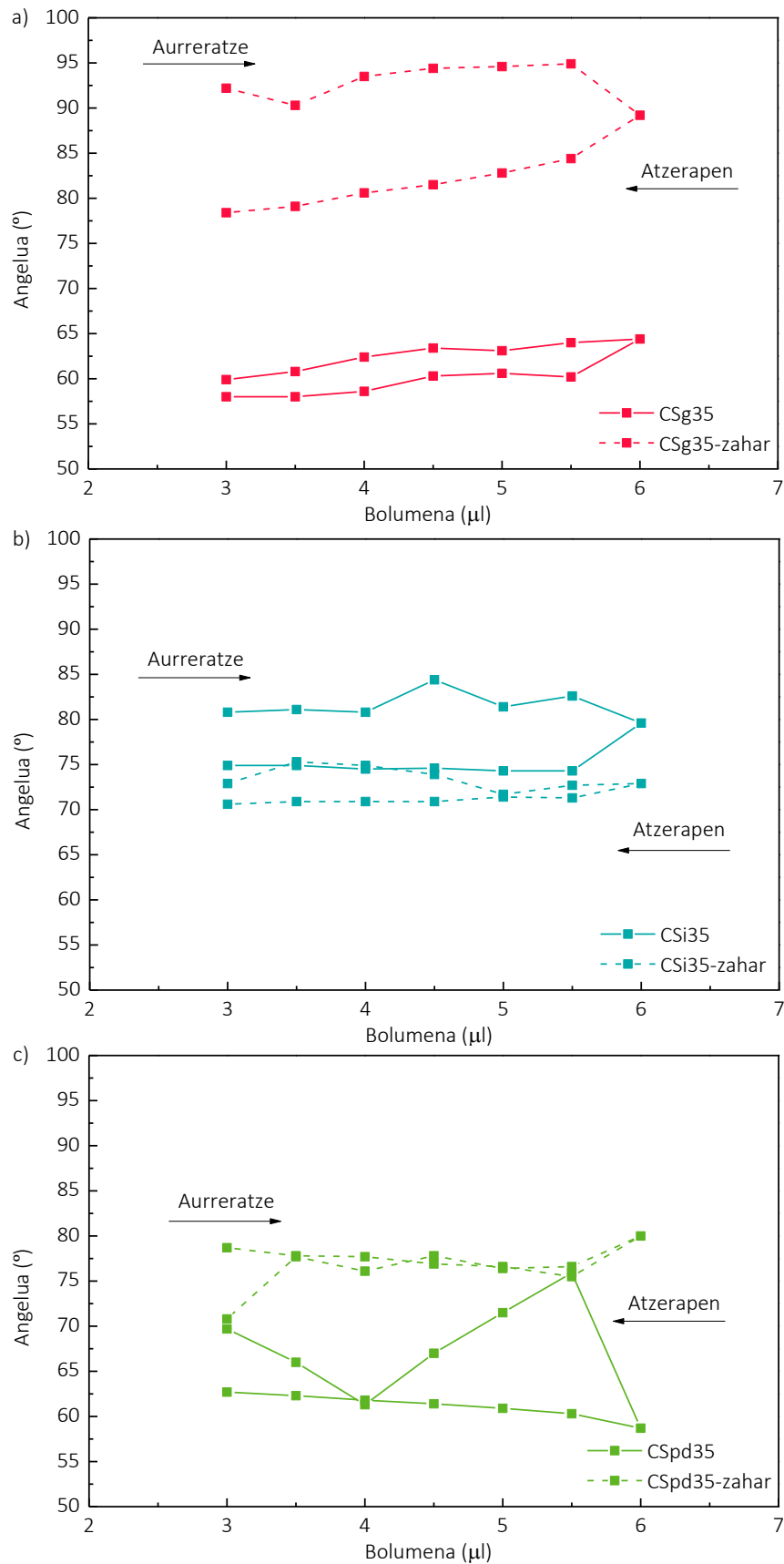
Propietate optikoen aldaera aztertzeko, laginguztien UV-vis saiakuntzak zahartutako laginekin errepikatu dira (lehenengo karakterizazioa egin eta 2 asteetara). Emaitzak 3.18. Irudian aurkezten dira eta, ikus daitekeen bezala zahartutako laginen transmitantziak zahartu gabeko laginen balio berdinak azaltzen dituzte. Beraz, propietate optikoen egonkortasuna birkristaltutako zonalde kopuru gutxiekin erlaziona daiteke. Emaitza hauek Jiménez eta kideek [43] lortutakoekin bat datoz, non erretrogradazio prozesuak almidoian oinarritutako filmen propietate optikoengan eraginik ez duela ondorioztatzen den.



3.18. Irudia – PLS (lerro jarraitua) eta zahartutako (lerro ez-jarraitua) filmen UV-vis transmitantzia neurketak.

### 3.6.2. Gainazal propietateak

Erretrogradazioak filmen gainazal propietateetan duen eragina kontaktu angelu dinamikoaren eboluzioaren bidez aztertu da (3.19. Irudia). Antzematen den bezala, filmen erretrogradazioaren ondorioz desberdintasun nabariak ageri dira. Hain zuzen ere, biltegitratze denboraren ondoren glizerola eta 1,3-propanodiolaz plastifikatutako laginen kontaktu angelu balioak nabarmenki handitzen dira, bereziki CSg35-zahar filmentzat. Aldiz, CSi35 laginaren kasuan kontaktu angeluaren balioa txikitu egiten da zahartzearen ondorioz. PLS materialen erretrogradazioa, amilosa kateen lerrokapenarekin eta amilopektinaren birkristaltzea partzialarekin erlazionatu ohi da, eta gure emaitzak kontutan hartuta filmen gainazal energian eragiten duela dirudi. Beraz, erretrogradazioaren eragin garrantzitsua nabari da glizerol eta 1,3-propanodiola duten laginentzat, aldiz D-isosorbida plastifikatzaile gisa erabiltzeak fenomeno honen efektua txikitzen duela dirudi. Avérous eta Pollet-ek [19] jaso bezala, almidoian oinarritutako materialen erretrogradazioak  $T_g$ -rekin erlazio handia du, honen balio txikiak kate polimerikoen mugikortasun handiagoa adierazten baitute, ondorioz berrantolaketa erraztuz [19].



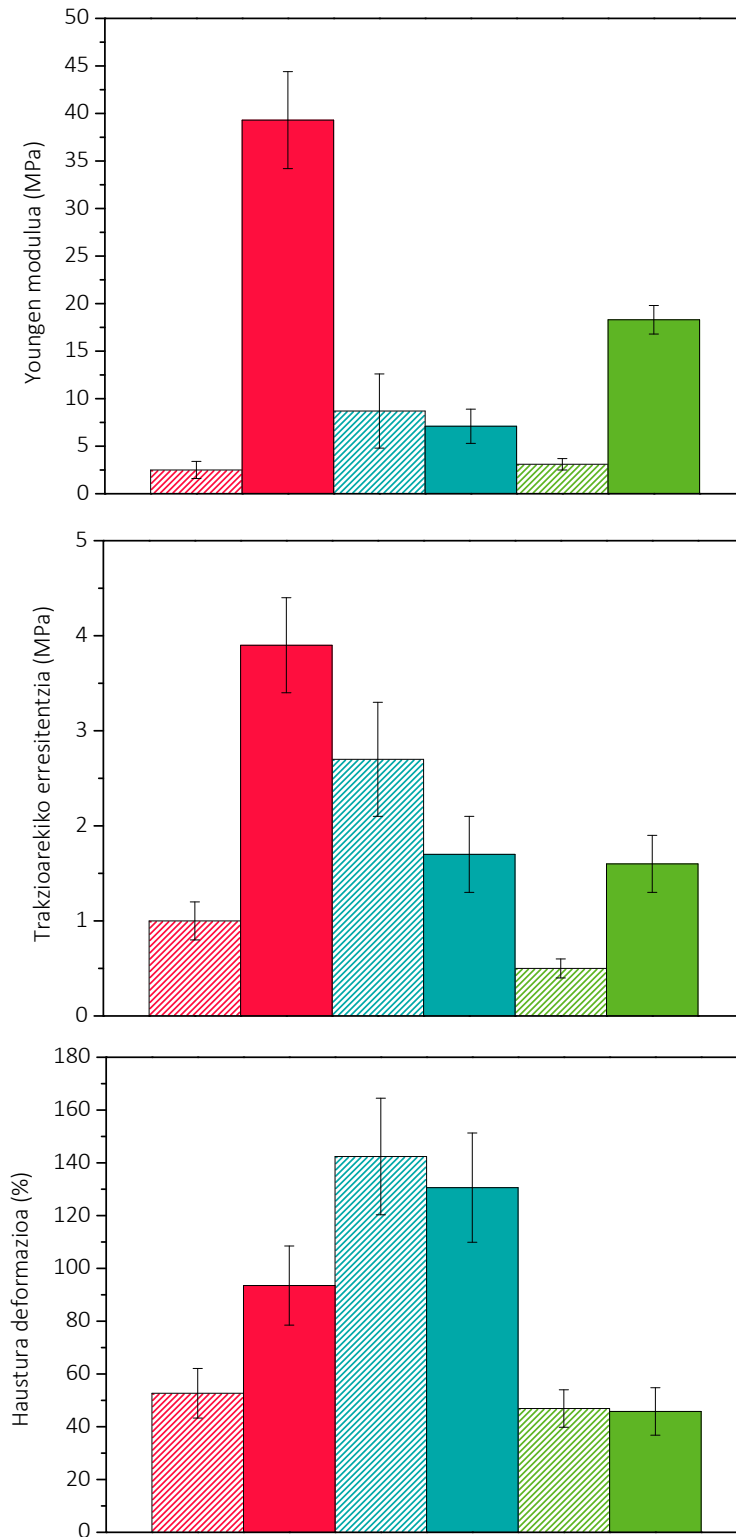
3.19. Irudia – PLS (lerro jarraitua) eta zahartzearen ondorengo filmen (lerro ez-jarraitua) aurreratze eta atzerapen kontaktu angelu neurketak.

3.4.4. Ataleko DMA neurketekin frogatu den bezala, plastifikatzailean aberatsak diren domeinuek ( $T_{\alpha 1}$ ) plastifikatzaile motaren menpekotasun handia dute, izan ere  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $-63\text{ }^{\circ}\text{C}$ , eta  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ -tako tenperaturak lortu dira  $\tan \delta$  maximoarentzat CSpd35, CSg35 eta CSi35 laginentzat, hurrenez hurren. Giro tenperaturan, erretrogradazioak kate polisakaridoen berrantolaketa dakarrenez [19] eta 1,3-propandiol eta glizerolaz plastifikatutako laginen kasuan plastifikatzailean aberatsak diren domeinuetan aurkitzen diren almidoi kateen mugikortasuna CSi35 laginentzat baino handiagoa denez, CSpd35 eta CSg35 laginen kasuan erretrogradazioa neurri handiagoan emango da, kontaktu angeluaren balioan aldaketa esanguratsua nabaritzen delarik. Hala ere, biltegitratze denboran plastifikatzailearen migrazioa ere eman daitekeela kontutan hartu behar da [44]. 3.19. Irudian antzematen den bezala, kontaktu angelua CSg35-zahar laginarentzat nabarmenki handitzen da, eta aldi berean, aurreratze eta atzerapen angeluen arteko histeresia ere handitzen da. Emaitzei atentzia ipiniz, glizerolarekin plastifikatutako filmen gainazaleko molekulen bilakaera nabarmena da, erretrogradazioaren ondoren interakzio dispertsiboen presentzia erakutsiz. Dena den, D-isosorbida PLS filmetan plastifikatzaile gisa erabiltzean, gainazal propietateen egonkortasuna handitzea dakarrela ondorioztatu da.

### 3.6.3. Propietate mekanikoak

Erretrogradazioaren ondoriozko filmen erresistentziaren aldaera trakzio saiakuntzak errepikatuz aztertu dira (3.20. Irudia). CSg35-zahar eta CSpd35-zahar laginentzat Youngen modulua eta trakzio erresistentziaren handitze esanguratsuak antzeman dira. Aldiz, CSi35-zahar filmen portaera mekanikoak ez du horrelako aldaketa nabaria erakusten. Literaturaren arabera [8,23,26], gelatinizatutako almidoiaren erretrogradazioaren efektu nagusienetakoa erresistentzia handitzeaz gain, kateen mugikortasuna mugatzen duen birorientazio eta birkristaltzearen ondoriozko Youngen modulua handitzea da [23,30]. Hala ere, portaera orokor hau ez da D-isosorbidez plastifikatutako laginentzat nabari. Emaitza hauek Bategazore eta kideek [29] D-isosorbidez estrapatutako

almidoiarentzat lortutako DMA emaitzekin bat datoz. Propietate mekanikoen egonkortasun eta kontaktu angelu neurketek CSi35 laginak erretrogradazio maila txikiagoa duela baieztatzen dute.



3.20. Irudia – ■ Glizerol, ■ D-isosorbida and ■ 1,3-propanodiolaz plastifikatutako PLS (marradun patroia) eta zahartzearen ondorengo filmen (betetako patroia) propietate mekanikoak.

### 3.6.4. Hesi propietateak

Erretrogradazioak hesi propietateetan duen eragina aztertzeko, ur lurrin eta oxigeno garraio neurketak aukeratutako biltegitatze denboraren ondoren errepikatu dira. Emaitzak 3.6. Taulan jasotzen dira. Antzematen den bezala, WVP eta OP propietateek ez dute erretrogradazio fenomenoaren eraginik jasaten. 3.4.6. Atalean ondorioztatu den bezala, WVP almidoi/ur interakzioen menpekua da, aldiz OP plastifikatzaile motaren arabera. Nahiz eta desberdintasun txikiak nabari, biltegitatze denboraren ondoren iragazkortasun balioak konstante dira.

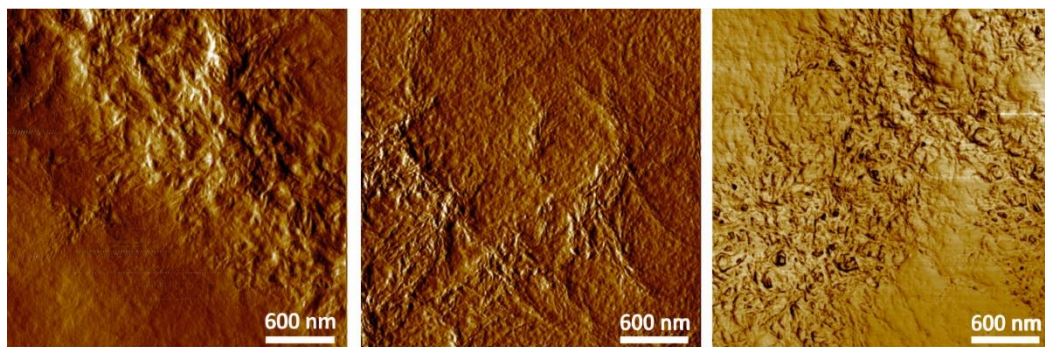
3.5. Taula – PLS eta zahartzearen ondorengo filmen hesi propietateak.

Lagina	WVP (kg m m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> Pa <sup>-1</sup> ) x 10 <sup>13</sup>	OP (cm <sup>3</sup> mm m <sup>-2</sup> day <sup>-1</sup> atm <sup>-1</sup> )
CSg35	6,8 ± 0,6	3,7 ± 0,1
CSg35-zahar	6,4 ± 0,7	3,1 ± 0,3
CSi35	6,0 ± 0,6	0,5 ± 0,0
CSi35- zahar	6,6 ± 1,1	0,3 ± 0,0
CSpd35	8,5 ± 0,6	10,9 ± 0,1
CSpd35- zahar	7,1 ± 0,3	11,1 ± 0,6

### 3.6.5. Karakterizazio morfologikoa

Zahartutako laginen AFM irudiak burutu ziren almidoiaren erretrogradazioaren eragina morfologiaren bilakaeran aztertzeko. 3.21. Irudian CSg35-zahar, CSi35-zahar eta CSpd35-zahar laginen emaitzak aurkezten dira (3 µm × 3 µm). Biltegitatze denboraren ondoren, aurretik eztabaidatu diren bi zonaldeak ikus daitezke, baina itxura orokor homogeen eta zimurtasun uniformeago bat ageri da. Filmaren gainazalean antzematen diren aldaketa hauek, erretrogradazioak eragiten duen fase berrantolaketarekin erlaziona daitezke. Aurretik aipatu den bezala, amilosa kateen lerrokatzea *casting* eta lehortze prozesuen ostean berehala ematen da, aldiz amilopektina kateen birkristaltzea biltegitatze denbora luzeagoak behar dituzte. Izan ere, amilopektinan aberatsak diren

domeinuekin erlazionatzen diren eremu leunek zimurtasun handiagoa erakusten dute biltegitze bi asteren ondoren. Kontutan hartu behar da zahartutako laginen fase irudiek ez dutela zahartu gabeko laginek azaltzen zituzten eremu argi eta ilunak erakusten. Hau erretrogradazio fenomenoarekin erlaziona daiteke, baina kontutan hartu behar da ere plastifikatzaileak gainazalera migratu dezakeela eta honek punta eta gainazalaren arteko interakzioetan eragin dezakela, erresoluzio oztopokoak suertatu ahal direlarik.



CSg35-zahar

CSi35-zahar

CSpd35-zahar

3.21. Irudia – PLS eta zahartzearen ondorengo filmen AFM fase irudiak.

### 3.7. ONDORIOAK

Almidoian oinarritutako filmak glizerola, D-isosorbida eta 1,3-propanodiola erabiliz modu egokian prestatu dira hiru substantziak *solvent casting* eta estrusio/konpresio metodoetan plastifikatzaile gisa erabiltzeko egokiak diren aztertzeko. Lehenik, plastifikatzaile guztien almidoiaren berezko granuluetako domeinu kristalinoak suntsitzeko gaitasuna, DSC eta TOM bidez aztertu da.

Ondoren, PLS filmak *solvent casting* bidez prestatu dira eta plastifikatzaile desberdinen erabilerak desberdintasun esanguratsuak dakartzala baieztatu da. CSi35 laginak transmitantzia balio nabarmenki handiagoak erakusten ditu, baita Youngen modulu, haustura deformazio eta trakzio erresistentzia balio handiagoak eta OP balio txikiagoak ere. Gainazal morfologiari dagokionez, AFM bidez kasu guztietan amilosa eta amilopektinan aberatsak diren domeinuekin erlazionatutako bi faseetako mikroegitura antzematen da.



Jarraian, estrusio/konpresio tekniken bideragarritasuna frogatu da. Gainera, plastifikatzailearen eta fabrikazio tekniken eragina ere aztertu da. Baieztatu den bezala, D-isosorbida et almidoiaren arteko afinitate onari esker propietate optiko, mekaniko eta hesi propietate bikainak lortu dira. 1,3-propanodiola duten laginak ordea, oso hauskorak dira, itxuraz prozesatzean zehar plastifikatzailea galtzen baita. Azkenik, PLS filmek erretrogradazioaren ondorioz jasaten duten aldaketak aztertu dira, D-isosorbidadaz plastifikatutako laginetan erretrogradazioaren eragina txikiagoa izan dela eta egonkortasun nabarmenki hobea lortzen dela ondorioztatuz. Horrela, D-isosorbidaren erabilerak materialaren fidagarritasuna hobetzen duela esan daiteke.

### 3.8. ERREFERENTZIAK

- [1] H. Angellier, S. Molina-Boisseau, P. Dole, A. Dufresne, Thermoplastic starch - Waxy maize starch nanocrystals nanocomposites, *Biomacromolecules*. 7 (2006) 531–539. doi:10.1021/bm050797s.
- [2] H. Liu, L. Yu, F. Xie, L. Chen, Gelatinization of corn starch with different amylose/amylopectin content, *Carbohydr. Polym.* 65 (2006) 357–363. doi:10.1016/j.carbpol.2006.01.026.
- [3] A. Taghizadeh, B.D. Favis, Effect of high molecular weight plasticizers on the gelatinization of starch under static and shear conditions, *Carbohydr. Polym.* 92 (2013) 1799–1808. doi:10.1016/j.carbpol.2012.11.018.
- [4] H. Liu, F. Xie, L. Yu, L. Chen, L. Li, Thermal processing of starch-based polymers, *Prog. Polym. Sci.* 34 (2009) 1348–1368. doi:10.1016/j.progpolymsci.2009.07.001.
- [5] R.P. Cuevas, V.D. Daygon, H.M. Corpuz, L. Nora, R.F. Reinke, D.L.E. Waters, M.A. Fitzgerald, Melting the secrets of gelatinisation temperature in rice, *Funct. Plant Biol.* 37 (2010) 439–447. doi:10.1071/FP09258.
- [6] Y. Zuo, J. Gu, H. Tan, Y. Zhang, Thermoplastic starch prepared with different plasticizers: Relation between degree of plasticization and properties, *J. Wuhan Univ. Technol. Mater. Sci. Ed.* 30 (2015) 423–428. doi:10.1007/s11595-015-1164-z.
- [7] Z. Yingfeng, G. Jiyou, T. Haiyan, Z. Yanhua, Comparative study of plasticizing effect of corn starch using formamide and urea, *Proc. 2012 Int. Conf. Biobase Mater. Sci. Eng. BMSE 2012.* (2012) 4–7. doi:10.1109/BMSE.2012.6466167.
- [8] N.L. García, L. Ribba, A. Dufresne, M.I. Aranguren, S. Goyanes, Physico-mechanical properties of biodegradable starch nanocomposites physico-mechanical properties of biodegradable starch nanocomposites, *Macromol. Mater. Eng.* 294 (2009) 169–177. doi:10.1002/mame.200800271.

- [9] S. Pérez, E. Bertoft, The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review, *Starch - Stärke*. 62 (2010) 389–420. doi:10.1002/star.201000013.
- [10] J.-L. Jane, J.F. Robyt, H. Zobel, S. Leas, T. Kasemsuwan, Anthology of starch granule morphology by scanning electron microscopy, *Starch - Stärke*. 46 (2006) 121–129. doi:10.1002/star.19940460402.
- [11] Y.V. García-Tejeda, Y. Salinas-Moreno, F. Martínez-Bustos, Preparation and characterization of octenyl succinylated normal and waxy starches of maize as encapsulating agents for anthocyanins by spray-drying, *Food Bioprod. Process.* 94 (2015) 717–726. doi:10.1016/j.fbp.2014.10.003.
- [12] W. Li, X. Tian, P. Wang, A.S.M. Saleh, Q. Luo, J. Zheng, S. Ouyang, G. Zhang, Recrystallization characteristics of high hydrostatic pressure gelatinized normal and waxy corn starch, *Int. J. Biol. Macromol.* 83 (2016) 171–177. doi:10.1016/j.ijbiomac.2015.11.057.
- [13] S. Sharma, N. Dhiman, D. Pathak, R. Kumar, Effect of nano-size fumed silica on ionic conductivity of PVdF-HFP-based plasticized nano-composite polymer electrolytes, *Ionics (Kiel)*. 22 (2016) 1865–1872. doi:10.1007/s11581-016-1721-2.
- [14] L. Castillo, O. López, C. López, N. Zaritzky, M.A. García, S. Barbosa, M. Villar, Thermoplastic starch films reinforced with talc nanoparticles, *Carbohydr. Polym.* 95 (2013) 664–674. doi:10.1016/j.carbpol.2013.03.026.
- [15] L.C. Tomé, S.C.M. Fernandes, D.S. Perez, P. Sadocco, A.J.D. Silvestre, C.P. Neto, I.M. Marrucho, C.S.R. Freire, The role of nanocellulose fibers, starch and chitosan on multipolysaccharide based films, *Cellulose*. 20 (2013) 1807–1818. doi:10.1007/s10570-013-9959-6.
- [16] M.A. Bertuzzi, M. Armada, J.C. Gottifredi, Physicochemical characterization of starch based films, *J. Food Eng.* 82 (2007) 17–25. doi:10.1016/j.jfoodeng.2006.12.016.
- [17] D. Polster, H. Graaf, Advancing and receding angles – Dynamic contact angle measurements on mixed alkyl monolayers, *Appl. Surf. Sci.* 265 (2013) 88–93. doi:10.1016/j.apsusc.2012.10.128.
- [18] J.M. Lagarón, A. López-Rubio, M. J. Fabra, Bio-based packaging, *J. Appl. Polym. Sci.* 133 (2016). doi:10.1002/app.42971.
- [19] L. Averous, E. Pollet, Nanobiocomposites based on plasticized starch, 2014. doi:10.1016/B978-0-444-53730-0.00028-2.
- [20] X. Tang, S. Alavi, Recent advances in starch, polyvinyl alcohol based polymer blends, nanocomposites and their biodegradability, *Carbohydr. Polym.* 85 (2011) 7–16. doi:10.1016/j.carbpol.2011.01.030.
- [21] A.P. Mathew, A. Dufresne, Plasticized waxy maize starch: Effect of polyols and relative humidity on material properties, *Biomacromolecules*. 3 (2002) 1101–1108.
- [22] T. Mekonnen, P. Mussone, H. Khalil, D. Bressler, Progress in bio-based plastics and plasticizing modifications, *J. Mater. Chem. A*. 1 (2013) 13379–13398. doi:10.1039/c3ta12555f.

- [23] J. Vigiúé, S. Molina-Boisseau, A. Dufresne, Processing and characterization of waxy maize starch films plasticized by sorbitol and reinforced with starch nanocrystals, *Macromol. Biosci.* 7 (2007) 1206–1216. doi:10.1002/mabi.200700136.
- [24] A. Jiménez, M.J. Fabra, P. Talens, A. Chiralt, Effect of re-crystallization on tensile, optical and water vapour barrier properties of corn starch films containing fatty acids, *Food Hydrocoll.* 26 (2012) 302–310. doi:10.1016/j.foodhyd.2011.06.009.
- [25] R.P. Herrera Brandelero, F. Yamashita, M.V. Eiras Grossmann, The effect of surfactant Tween 80 on the hydrophilicity, water vapor permeation, and the mechanical properties of cassava starch and poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) blend films, *Carbohydr. Polym.* 82 (2010) 1102–1109. doi:10.1016/j.carbpol.2010.06.034.
- [26] A. Cano, A. Jiménez, M. Cháfer, C. González, A. Chiralt, Effect of amylose:amylopectin ratio and rice bran addition on starch films properties, *Carbohydr. Polym.* 111 (2014) 543–555. doi:10.1016/j.carbpol.2014.04.075.
- [27] T.V. Duncan, Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors, *J. Colloid Interface Sci.* 363 (2011) 1–24. doi:10.1016/j.jcis.2011.07.017.
- [28] N.L. García, L. Ribba, A. Dufresne, M. Aranguren, S. Goyanes, Effect of glycerol on the morphology of nanocomposites made from thermoplastic starch and starch nanocrystals, *Carbohydr. Polym.* 84 (2011) 203–210. doi:10.1016/j.carbpol.2010.11.024.
- [29] D. Battagazzore, S. Bocchini, G. Nicola, E. Martini, A. Frache, Isosorbide, a green plasticizer for thermoplastic starch that does not retrograde, *Carbohydr. Polym.* 119 (2015) 78–84. doi:10.1016/j.carbpol.2014.11.030.
- [30] M. Rico, S. Rodríguez-Llamazares, L. Barral, R. Bouza, B. Montero, Processing and characterization of polyols plasticized-starch reinforced with microcrystalline cellulose, *Carbohydr. Polym.* 149 (2016) 83–93. doi:10.1016/j.carbpol.2016.04.087.
- [31] D. Lecorre, J. Bras, A. Dufresne, Influence of native starch's properties on starch nanocrystals thermal properties, *Carbohydr. Polym.* 87 (2012) 658–666. doi:10.1016/j.carbpol.2011.08.042.
- [32] D.C. Bastos, A.E.F. Santos, M.L.V.J. da Silva, R.A. Simao, Hydrophobic corn starch thermoplastic films produced by plasma treatment, *Ultramicroscopy.* 109 (2009) 1089–1093. doi:10.1016/j.ultramic.2009.03.031.
- [33] R.A. Simão, R.M.S.M. Thiré, P.R. Coutinho, P.J.G. Araújo, C.A. Achete, C.T. Andrade, Application of glow discharge butadiene coatings on plasticized cornstarch substrates, *Thin Solid Films.* 515 (2006) 1714–1720. doi:10.1016/j.tsf.2006.06.013.
- [34] R.M.S.M. Thiré, R.A. Simao, C.T. Andrade, High resolution imaging of the microstructure of maize starch films, *Carbohydr. Polym.* 54 (2003) 149–158. doi:10.1016/S0144-8617(03)00167-X.
- [35] W. Ning, Z. Xingxiang, L. Haihui, H. Benqiao, 1-Allyl-3-methylimidazolium chloride plasticized-corn starch as solid biopolymer electrolytes, *Carbohydr. Polym.* 76 (2009) 482–484. doi:10.1016/j.carbpol.2008.11.005.

- [36] A. Rindlav-Westling, P. Gatenholm, Surface composition and morphology of starch, amylose, and amylopectin Films, *Biomacromolecules*. 4 (2003) 166–172.
- [37] K.M. Dang, R. Yoksan, Development of thermoplastic starch blown film by incorporating plasticized chitosan, *Carbohydr. Polym.* 115 (2015) 575–581. doi:10.1016/j.carbpol.2014.09.005.
- [38] J. González-Gutiérrez, P. Partal, M. García-Morales, C. Gallegos, Effect of processing on the viscoelastic, tensile and optical properties of albumen/starch-based bioplastics, *Carbohydr. Polym.* 84 (2011) 308–315. doi:10.1016/j.carbpol.2010.11.040.
- [39] W.H. Ferreira, C.T. Andrade, Characterization of glycerol-plasticized starch and graphene oxide extruded hybrids, *Ind. Crops Prod.* 77 (2015) 684–690. doi:10.1016/j.indcrop.2015.09.051.
- [40] N.L. Garcia, L. Ribba, A. Dufresne, M.I. Aranguren, S. Goyanes, Physico-mechanical properties of biodegradable starch nanocomposites, *Macromol. Mater. Eng.* 294 (2009) 169–177. doi:10.1002/mame.200800271.
- [41] M.A. Bertuzzi, E.F. Castro Vidaurre, M. Armada, J.C. Gottifredi, Water vapor permeability of edible starch based films, *J. Food Eng.* 80 (2007) 972–978. doi:10.1016/j.jfoodeng.2006.07.016.
- [42] S.C. Lara, F. Salcedo, Gelatinization and retrogradation phenomena in starch/montmorillonite nanocomposites plasticized with different glycerol/water ratios, *Carbohydr. Polym.* 151 (2016) 206–212. doi:10.1016/j.carbpol.2016.05.065.
- [43] A. Jiménez, M.J. Fabra, P. Talens, A. Chiralt, Effect of sodium caseinate on properties and ageing behaviour of corn starch based films, *Food Hydrocoll.* 29 (2012) 265–271. doi:10.1016/j.foodhyd.2012.03.014.
- [44] J. Zhu, X. Li, C. Huang, L. Chen, L. Li, Structural changes and triacetin migration of starch acetate film contacting with distilled water as food simulant, *Carbohydr. Polym.* 104 (2014) 1–7. doi:10.1016/j.carbpol.2013.12.087.



# **4. KAPITULUA: NANOENTITATEAK**



## 4. NANOENTITATEAK

### 4.1. HELBURUA

Kapitulu honen helburua, ikerkuntza honetan erabili diren bi nanoentitate moten lorpena eta karakterizazioa deskribatzea izan da, hain zuzen bi polisakarido nanokristal mota (NC) eta grafenoa (G) eta grafeno oxidoa (GO).

Polisakarido nanokristalei (NC) dagokienez, *waxy* arto almidoi nanokristalak (WSNC) eta zelulosa nanokristalak (CNC) erabili dira. NCak hidrolisi azido bidez isolatu dira *waxy* arto almidoi eta zelulosa mikrokristalinoaren zonalde kristalinoak lortuz. Nanokristalen egitura kristalinoa XRD bidez aztertu da eta morfologia ezaugarrien eta dimentsio nanometrikoen karakterizazioa AFM bidez burutu da.

Horrez gain, G eta GO lortu dira. G grafitotik esfoliatu da, aldiz GO grafitoaren oxidazio erreakzio bidez lortu da. Bi nanoxafla moten egitura kristalinoa XRD bidez aztertu da. Egitura kimikoa Raman espektroskopia bidez berretsi da eta morfologia, berriz, TEM bidez analizatu da.

Lortutako polisakarido NCak eta G edo GO nanoxaflak, almidoian oinarritutako nanokonposite film eta hidrogeletan nanoerrefortzu gisa erabili dira.

### 4.2. POLISAKARIDO NANOKRISTALEN ISOLAMENDUA

*Waxy* arto almidoi (~%99 amilopektina) eta zelulosa mikrokristalinoaren zonalde amorfoak kontrolatutako hidrolisi azido bidez degradatu eta disolbatu dira, tamaina nanometrikoko kristalinitate handiko nanopartikula polisakaridoak lortzeko, hau da WSNC eta CNC.

#### 4.2.1. *Waxy* arto almidoi nanokristalen isolamendua (WSNC)

WSNCen lorpena hidrolisi azido bidez burutu da Angellier eta kideek [1,2] proposatutako metodoa jarraituz. 36,3 g *waxy* arto almidoi 250 mL azido sulfuriko disoluzioarekin (3,16 M) nahastu



eta erreakzionarazi dira 5 egunez 40 °C-ko tenperaturan, etengabeko irabiatze magnetikoan. Erreakzioa ur destilatua gehituz geldiarazi da eta jarraian, suspentsioa ur destilatuaz garbitu eta zentrifugatu da, neutralizazio puntura iritsi arte. Lortutako WSNCak 4 °C-tan eta kloroformo tanta batzuk gehituz gorde eta liofilizatu dira.

#### **4.2.2. Zelulosa nanokristalen isolamendua (CNC)**

Era berean, zelulosa mikrokristalinoaren (MCC) zonalde kristalinoen erauzketa hidrolisi azido bitartez burutu da Saralegi eta kideek [3] eta Santamaria Echart eta kideek [4] definitutako prozedura jarraituz. 5 g MCC %64ko kontzentrazioko azido sulfuriko disoluzio batekin tratatu dira, 30 minutuz 45 °C-tan etengabeko irabiatze magnetikoan. Erreakzioa geldiarazteko suspentsioa ur destilatua gehituz diluitu da. Ondoren, azidotasuna aurrenekoz zentrifugazio bitartez jaitsi da (4500 rpm, 20 min, bi aldiz) eta jarraian hauspeakina dialisi bidez (4-5 egun) neutralizatu da. Azkenik, suspentsioa ultrasonikatu (15 min) eta liofilizatu egin da.

### **4.3. POLISAKARIDO NANOKRISTALEN KARAKTERIZAZIOA**

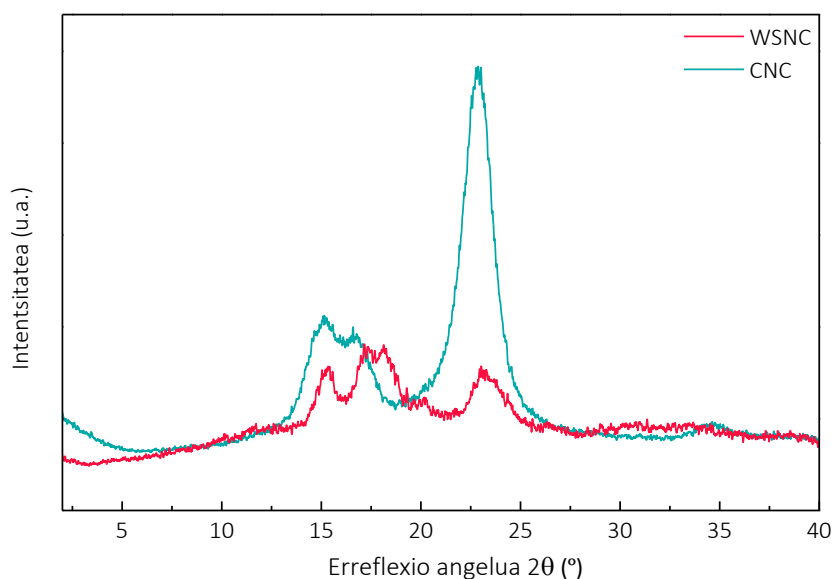
Azaldu berri den bezala, *waxy* arto almidoi eta zelulosa mikrokristalinoen zonalde kristalinoak hidrolisi azido bitartez isolatu dira, nanoeskalako nanoerrefortzu polisakaridoak lortzeko helburuz, hots WSNC eta CNC. NCen egitura kristalinoa eta kristalinitate maila XRD bidez determinatu da, egonkortasun termikoa TGAg aztertu da eta morfologia eta dimentsio nanometrikoak AFM bidez baieztatu dira.

#### **4.3.1. X-izpien difrakzioa**

XRD neurketak NC polisakaridoen polimorfismo kristalinoa aztertzeko burutu dira. Lortutako emaitzak 4.1. Irudian aurkezten dira. Berezko almidoiak, jatorriaren arabera, hiru egitura kristalino aurkez ditzake, hain zuzen ere A, B eta C-motako polimorfismoak, zeintzuk helize bikoitzaren paketatze antolamenduaren arabera desberdinak diren [5,6]. WSNCen XRD difraktogramak ohiko

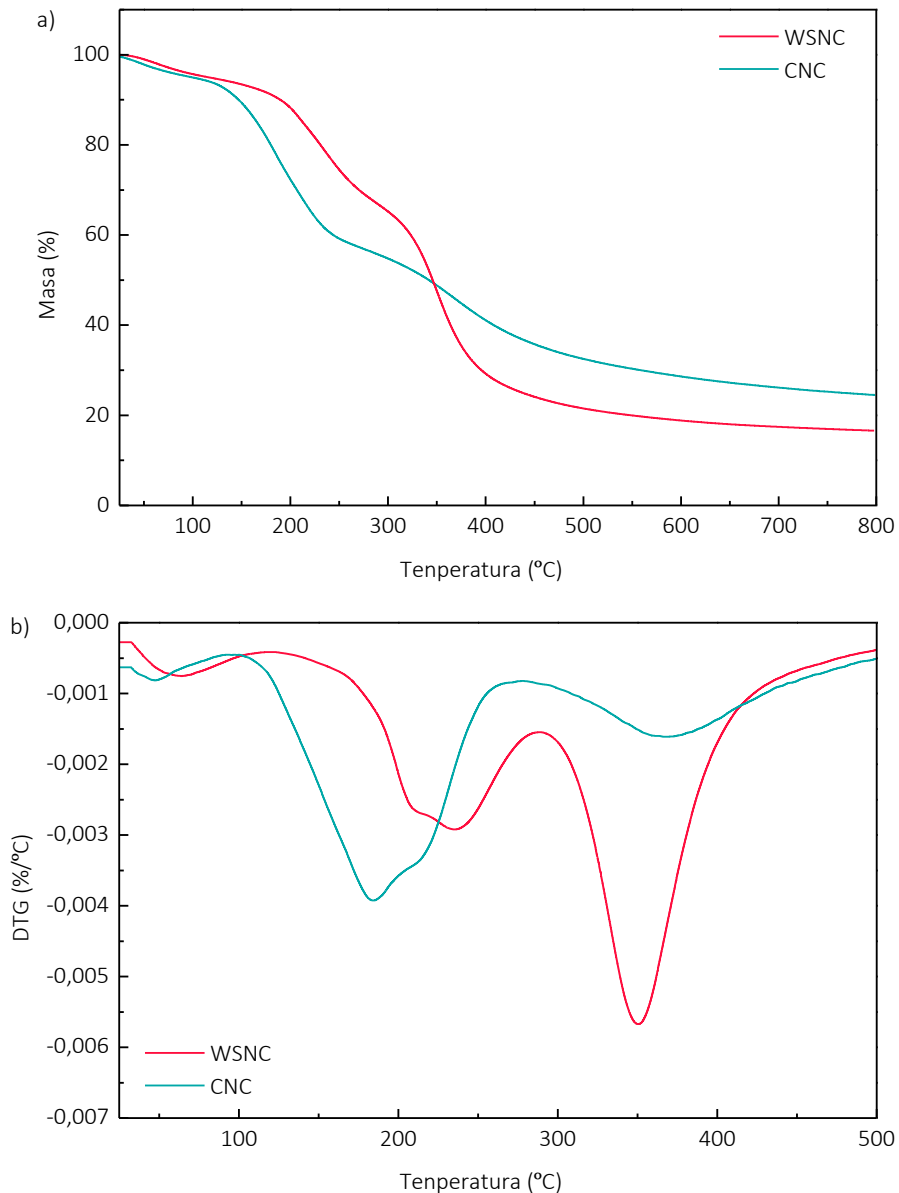
A-motako polimorfismoa [7] erakusten du, aurretik 3. Kapituluari jada definitutakoa. CNCen XRD difraktogramari dagokionez ordea, zelulosa I egiturarekin erlazionatutako intentsitate handiko pikoak ageri dira,  $2\theta = 14,5^\circ$ ,  $2\theta = 16,8^\circ$ ,  $2\theta = 22,7^\circ$  balioetan eta piko txiki bat  $2\theta = 34,5^\circ$ -tan [8].

Lin eta kideek [9] azaldu bezala, polisakarido nanokristalen kristalinitate maila %100ekoa izan beharko litzateke. Ordea, hidrolisi bidez eremu amorfo edo desordenatuak ezin dira erabat deuseztatu eta, ondorioz, kristalinitate maila baxuagoak lortzen dira. Literaturan definitutako metodoaren arabera [10,11] WSNCen kristalinitate maila %22,8koa dela kalkulatu da (2.1. Ekuazioa, 2.2.1.3. Atala). Bestalde, aurretik zehaztutako metodologia jarraituz [12], CNCen kristalinitate maila %83,6koa dela determinatu da. Beste ikertzaileek antzeko balioak aurkezten dituzte MCCtik eratorritako CNCentzat (%54-88) [9], aldiz, kristalinitate maila portzentaje altuagoak (%38-48) WSNCentzat [13]. Nanokristalen isolamendurako erabilitako protokolo desberdinak, halaber kristalinitate maila determinatzeko erabilitako metodoa [10,11] desberdintasun hauen arrazoi izan daitezke. WSNCen kristalinitatearen balioa kalkulu metodoarengatik apur bat baldintzatua egon daitekeen arren, CNCen kristalinitate maila aurreikusten zen bezala nabarmenki altuagoa da.



### 4.3.2. Analisi termograbitrikoa

TGA neurketak WSNC eta CNCen portaera termikoa aztertzeko burutu dira. Lortutako TG eta DTG kurbak 4.2. Irudian aurkezten dira.



4.2. Irudia – WSNC eta CNCen a) TG eta b) DTG kurbak.

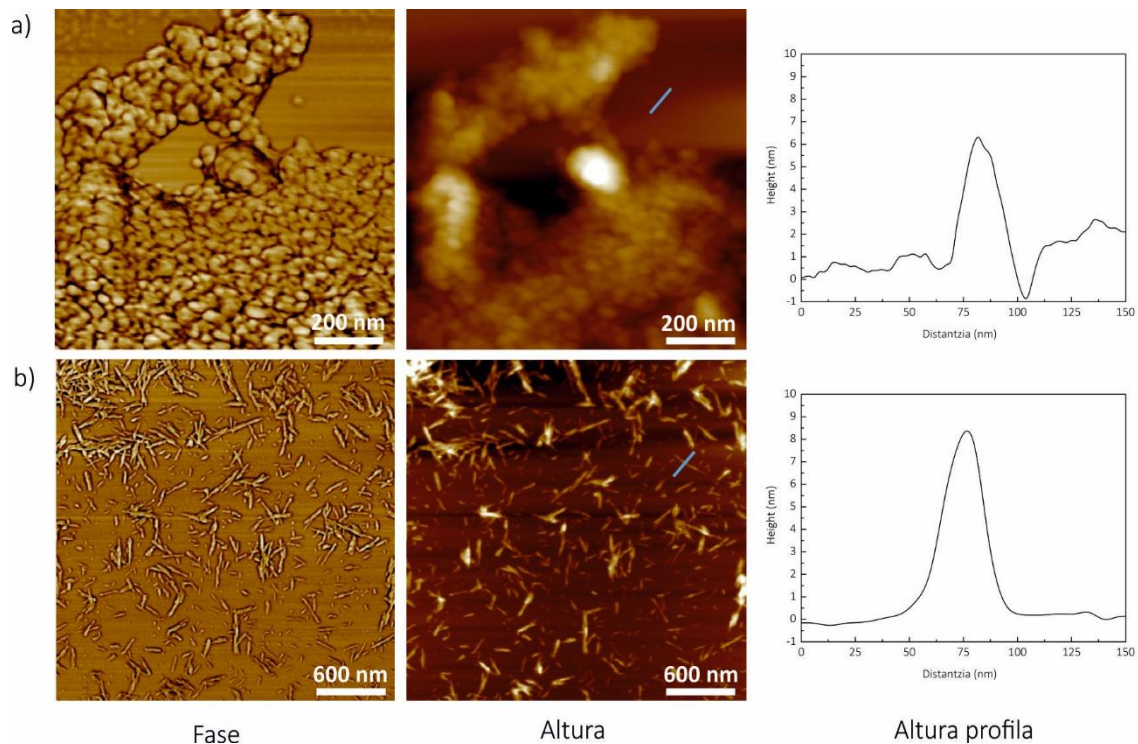
Bi nanokristal moten degradazio prozesuek hiru etapa ageri dituzte. Wang eta kideek [14] azaldutakoaren arabera, azido sulfurikoarekin burututako hidrolisiaren bidez lortutako CNCek hiru degradazio etapa aurkezten dituzte. Lehenengo etapa xurgatutako uraren lurrunketari dagokio ( 120

°C azpitik). Ondoren, bigarrena, CNCen gainazalean txertatutako sulfato taldeek eragindako degradazioarekin erlazionatzen da (180 °C inguru), azkenekoa aldiz zelulosaren degradazioari dagokiolarik (370 °C inguru). Gure kasuan, desberdintasun txikiak ageri dira, zelulosaren jatorri botaniko eta erabilitako erreakzio baldintza desberdinen ondorioz. Bestalde, azido sulfuriko hidrolisiaz ere lortutako WSNCek, Wang eta kideek [14] deskribatutako degradazio termiko patroia berdina erakusten dute, aipatutako hiru degradazio etapak azalduz eta sulfato taldeek eragindako degradazioa eta almidoiaren degradazioa 225 eta 350 °C-tan gertatzen diren, hurrenez hurren.

### 4.3.3. Indar atomikozko mikroskopia

NCen ezaugarri morfologiko eta nanoeskalako dimentsioak AFM bidez atertu dira. 4.3. Irudian lortutako fase eta altuera irudiez gain, zeharkako ebakiduren altuera profilen adibide bana (lerro urdinez adierazita) aurkezten dira. WSNCen zabalera eta luzera balioak eta CNCen luzera neurriak AFM altuera irudiak erabilia determinatu dira. CNCen forma zilindrikoa aintzat hartuta [3], euren batez besteko diametro balioak AFM altuera irudien profilen bitartez determinatu dira, ehun CNC unitate neurtuz. Era berean, AFM altuera irudien profilak WSNCen lodiera determinatzeko eta neurtutako luzera balioak baieztatzeko erabili dira. WSNCek aglomeratzeko duten joera dela eta, nanokristal kopuru gutxiago neurtu ahal izan dira dimentsio emaitzak lortzeko. Emaitzetan ikus daitekeen bezala, WSNC eta CNCen nanoeskala dimentsioak berretsi dira. WSNCek *platelet-like* egitura aurkezten dute,  $28,2 \pm 7,4$  nm-ko zabalera eta  $35,0 \pm 7,9$  nm-ko luzera dutelarik. Gainera, lodiera 6 nm ingurukoa dela determinatu da. Emaitza hauek aurretik lortutako ondorioekin bat datoz [1,5]. CNCek ohiko itxura fibrilarra dute,  $9,1 \pm 2,6$  nm-ko diametroa eta  $150,6 \pm 29,1$  nm-ko luzera balioak neurtu direlarik. Emaitza hauek ere literaturan [1,3,4,15] lortutakoekin bat datoz.

XRD eta AFM emaitzak kontutan hartuta, erabilitako hidrolisi metodoak egokiak izan direla ondorioztatu da.



4.3. Irudia – a) WSNC eta b) CNCen AFM fase eta altuera irudiak eta lerro urdinez adierazitako zonaldeetan lortutako altuera profilak.

#### 4.4. GRAFENO ETA GRAFENO OXIDOAREN LORPENEA

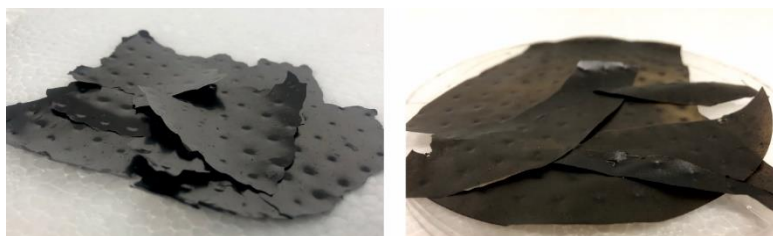
G eta GO, grafitoaren ultrasonikazioz lagundutako esfoliazio bidez eta oxidazio metodoak jarraituz lortu dira, hurrenez hurren. Gainera, GO azido arkorbikoaren bitartez erreduzitu da rGO lortuz.

##### 4.4.1. Grafeno nanoxaflen lorpena

Garen esfoliazioa Ugarte et kideek [16] definitutako metodoaren arabera gauzatu da. 20 g grafito 1,5 L N-metil pirrolidonan (NMP) ultrasonikatu dira, 100 orduz. Lortutako dispersioa 4000 rpm-tan eta 45 minutuz zentrifugatu ondoren gain-likidoa iragazi (Poliamida iragazkiak, Sartorius, poro tamaina 0,2  $\mu\text{m}$ ), aztonarekin garbitu eta 48 orduz giro tenperaturan lehortu da.

#### 4.4.2. Grafeno oxido nanoxaflen lorpena

GO nanoxaflak Hummersen metodoa jarraituz lortu dira [17], desberdintasun txiki batzuekin. 1 g grafito 0,5 g sodio nitrato eta 23 mL azido sulfurikoarekin (%96ko purutasuna) nahastu eta irabiatu egin da, 30 minutuz 0 °C-tan. Ondoren, 3 g potasio permanganato gehitu dira eta lortutako dispersioa etengabeko irabiaketa magnetikoarekin mantendu da, 2 orduz 0 °C-tan. Gero, nahastea 30 minutuz 35 °C-tara berotu eta jarraian, 46 mL ur destilatu tantaz tanta gehitu dira, azkenik 98 °C-tara berotuz eta 30 minutuz mantendu delarik. Bukatzeko, 10 mL hidrogeno peroxido (%30-ko purutasuna) giro tenperaturan gehitu dira eta burbuilarik nabari ez direnean, 150 mL ur destilatu gehitu dira. Nahastearen gain-likidoa baztertu egin da eta lortutako hauspeakina azido klorhidriko disoluzioarekin lehenengo (%5ean) (4500 rpm, 20 min, 5 aldiz) eta ur destilatuarekin ondoren zentrifugazioz garbitu egin da (4500 rpm, 20 min, neutralizazio punturaino iritsi arte). Hauspeakina iragazi (Poliamida iragazkiak, Sartorius, poro tamaina 0,2 µm) eta labe batean 48 orduz eta 50 °C-tan lehortu da. 4.4. Irudian lortutako G eta GOren irudiak azaltzen dira.



Grafenoa  
(G)

Grafeno oxidoa  
(GO)

4.4. Irudia – Isolatutako G eta GOren irudiak.

#### 4.4.3. Erreduzitutako grafeno oxidoa

Erreduzitutako grafeno oxidoa (rGO) azido askorbikoa erredukzio agente bezala erabilia lortu da. Horrela, GO azido askorbiko ur disoluzio batean (30 g azido askorbiko L<sup>-1</sup> ur destilatu) murgildu da 95 °C-tan 2 orduz. Ondoren, azido askorbiko soberakina kentzeko, rGO hainbat aldiz ur destilatuarekin garbitu eta giro tenperaturan 24 orduz lehortu da.

## 4.5. GRAFENO ETA GRAFENO OXIDOAREN KARAKTERIZAZIOA

G zein GO nanoxaflak grafitotik lortu dira, ultrasonikazioz lagundutako esfoliazio prozedura eta Hummersen metodoa jarraituz, hurrenez hurren. G, GO eta rGO nanopartikulen egitura kimikoa eta xafla kopurua Raman espektroskopia bidez berretsi dira eta egitura kristalinoa berriz XRD bidez. Egonkortasun termikoa TGAg aztertu da. Azkenik, morfologia TEM bidez aztertu da.

### 4.5.1. Raman espektroskopia

Raman espektroskopia grafito eta bere deribatu G, GO eta rGOrentzat erabili da beraien egitura analizatzeko helburuarekin. Lortutako Raman espektroak 4.5. Irudian aurkezten dira.

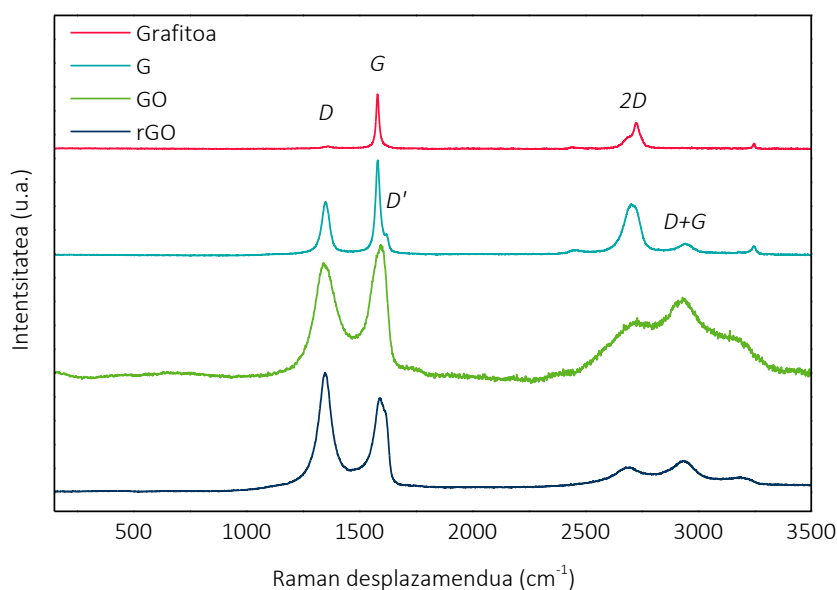
Lagin guztiek karbono materialen ohiko bandak aurkezten dituzte [16,18]. Grafitoaren kasuan, aktibatzeak akatsen (toki libreak, ale-mugak eta karbono amorfoen tartekak) presentzia behar duen eta nanoxaflen ertzeekin erlazionatzen den *D* banda  $1364\text{ cm}^{-1}$ -tan ageri da [16,19,20]. Banda hau intentsitate txikikoa da, grafitoaren bentzeno egitura perfektuaren ondorioz [21]. Plano barruko  $\text{sp}^2$  C-C luzapen moduarekin erlazionatzen den lehenengo ordenako *G* banda  $1580\text{ cm}^{-1}$  aurkitzen da. Gainera, fonoiaren bigarren ordenako gaintonuari dagokion eta xaflen pilaketarekiko oso sentikorra den *2D* banda [16,20]  $2711\text{ cm}^{-1}$ -tan ageri da.

Gren espektroari dagokionez, *D* bandaren intentsitatearen handitzeak, *D'* sorbaldaren agerpenak eta *D+G*  $2939\text{ cm}^{-1}$ -tan ageri den banda berriak grafitoaren esfoliazioa modu egokian eman dela frogatzen dute [22]. *D+G* banda GO eta rGO laginentzat ere ageri da. Gainera, GOren kasuan *G* banda balio handiagoetara desplazatzen da egiturako oxigeno talde funtzional berrien presentziaren eta  $\text{sp}^3$  karbono atomoen eraketaren ondorioz. *D* bandaren zabaltzea ordea, oxidazio eta erredukzioaren ondoren sortutako akats, toki libre eta distortsioengatik ematen da [23].

*D* eta *G* banden intentsitate erlazioa,  $I_D/I_G$ , akatsik gabeko  $\text{sp}^2$  kluster zonaldearekiko alderantziz proportzionala da [16,22], eta beraz, materialaren kalitatearen eta desordena mailaren

adierazle da [19,24]. Gak 0,54-ko  $I_D/I_G$  erlazioa duela kalkulatu da, aldiz GO eta rGOrentzat balioa handitu egiten da, 0,87 eta 1,26ko balioak lortuz, hurrenez hurren. Horrela, ultrasonikazioaren laguntzat burututako grafitoaren esfoliazio prozeduraren bidez akats gutxiagoko nanoxaflak lortu direla ondorioztatu da.

Bestalde,  $2D$  eta  $G$  banden intentsitatea erlazioa,  $I_{2D}/I_G$ , karbono materialen xafla kopuruarekin erlazionatuta dago,  $\sim 1,6$ ,  $\sim 0,8$ ,  $\sim 0,30$  eta  $\sim 0,07$  ohiko balioak lortzen dira xafla bakarreko, bikoitzeko, hirukoitzeko eta multilamina materialen kasuan, hurrenez hurren [18,25]. Gure kasuan, 0,53 eta 0,41  $I_{2D}/I_G$  balioak kalkulatu dira  $G$  eta  $GO$ rentzat, hurrenez hurren, beraz bi nanoentitateek xafla gutxiko material gisa lortu direla ondorioztatu da.



4.5. Irudia – Grafito, G, GO eta rGOren Raman espektruak.

#### 4.5.2. X-izpien difrakzioa

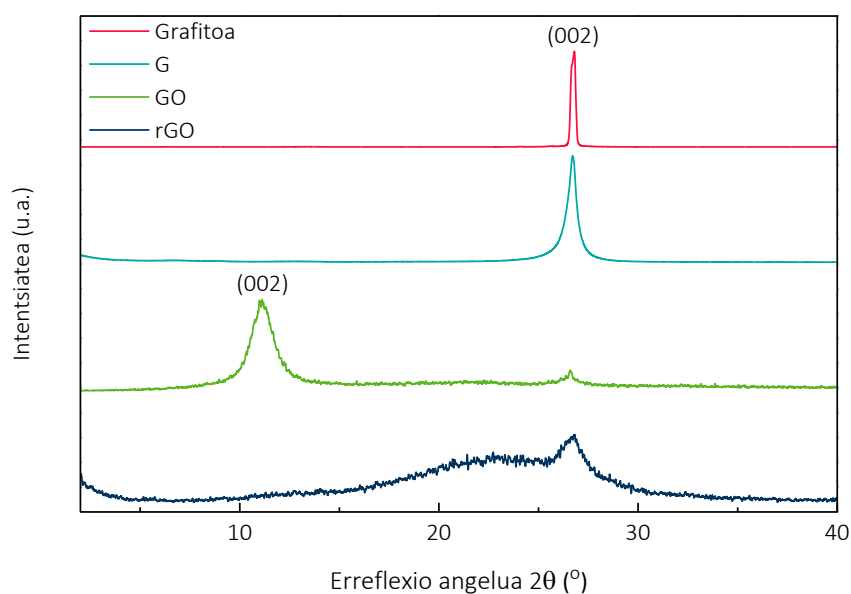
XRD neurketak lortutako karbono materialen egitura kristalinoa aztertzeko burutu dira. 4.6. Irudian G, GO eta rGOren difraktogramak, baita diskusioa errazteko grafitoarena azaltzen dira. Lortutako XRD emaitzak xaflen arteko distantzia kalkulatzeko erabili dira, 4.1. Ekuazioan definitutako Bragg-en legea jarraituz [26]:



$$n \lambda = 2 d \sin \theta \quad (4.1. \text{ Ek.})$$

non  $n$  zenbaki osoa (gure kasuan, 1),  $\lambda$  erradiazio eragilearen uhin-luzera (0,154 nm),  $d$  kristalean jarraian ezarritako plano berdinen arteko distantzia (xaflen arteko distantziarekin lotua) eta  $\theta$  planoan eragiten duten izpi primarioen angelua diren.

G-aren XRD espektroan grafito puruaren egitura hexagonalaren (002) planoarekin erlazionatutako piko  $2\theta = 26,8^\circ$ -tan ageri da 3,32 Å-ko xaflen arteko distantziarekin. Emaizta hauek grafitoarentzat lortutako emaitzen oso antzekoak dira ( $2\theta = 26,7^\circ$  eta 3,33 Å) eta baita literaturan publikatutakoekin ere [27–29]. GOaren kasuan,  $2\theta = 26,6^\circ$ -tan ageri den piko txikiaz gain, GOaren (002) planoari dagokion seinale berri bat agertzen da  $2\theta = 11,2^\circ$ -tan 7,89 Å-ko xaflen arteko distantziarekin [30]. Xaflen arteko distantziaren handitze hau GO xaflen artean tartekatutako ur molekula eta oxigenoa duten talde funtzionalen presentziari atxikitzen zaio. Gainera, GOaren kasuan, grafito puruari dagokion pikoaren presentziak (Grentzat ere ageri dena), GO nanoxafla batzuk oraindik grafitoaren egitura mantentzen dutela adierazten du. GOaren erredukzioaren ondoren, rGOak ez du GOaren ohiko piko azaltzen eta  $2\theta = 26,8^\circ$ -tan piko bat ageri delarik, 3,32 Å-ko xaflen arteko distantziarekin. Honek, erredukzioan oxigenodun talde funtzionalak kanporatzean G nanoxaflen arteko  $\pi$ - $\pi$  pilaketa ematen dela iradokitzen du. Gainera, GO kanpo faktoreen bidez erreduzitzen denean, adibidez tratamendu termikoak edo erredukzio agenteak, GO nanoxafleri dagokion piko islapen angelu balio handiagoetara mugitzen da, erredukzio mailaren arabera [31]. Horrela,  $2\theta = 22,5^\circ$ -tan ageri den piko partzialki erreduzitu gabeko GOari atxikitzen zaio.



4.6. Irudia – G, GO eta rGOren XRD difraktogramak.

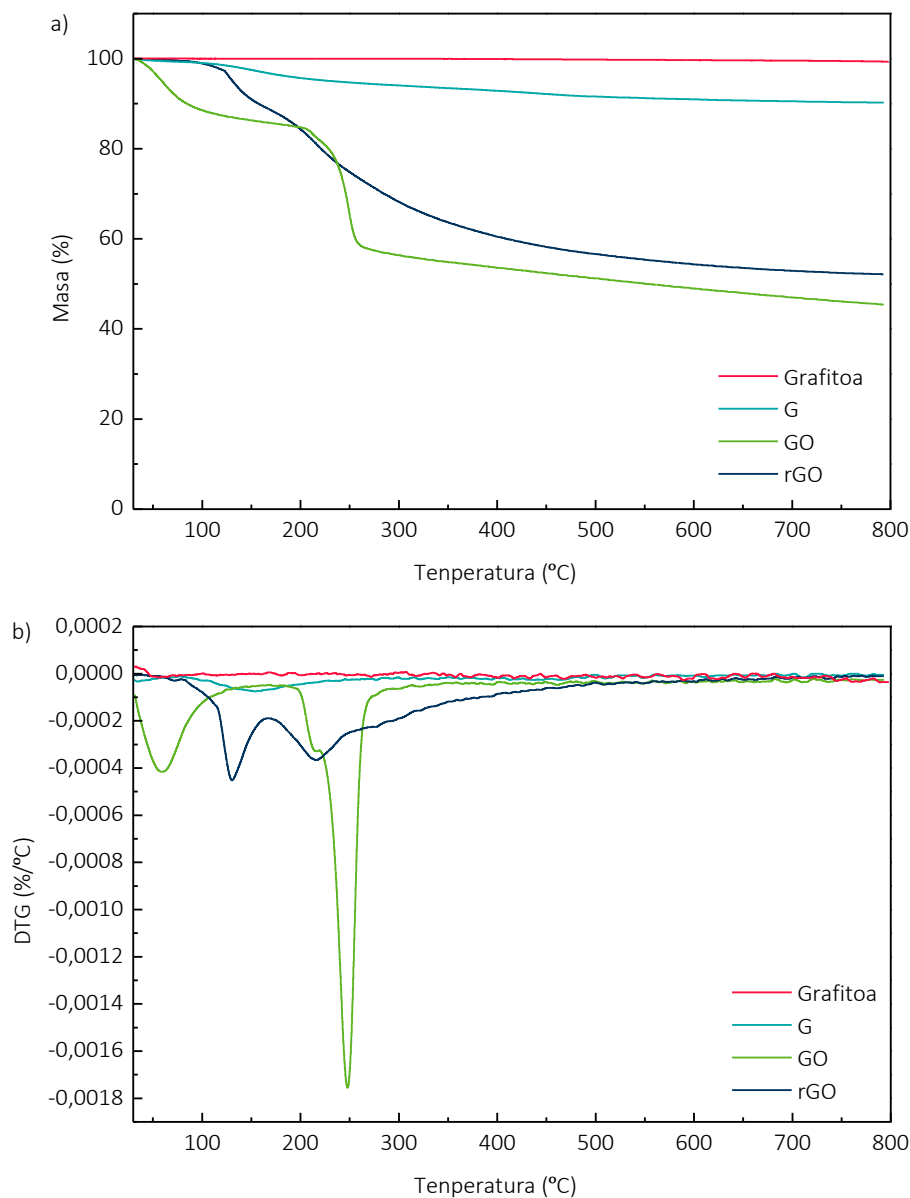
#### 4.5.3. Analisi termograbimetricoa

Grafito, G, GO eta rGOren egonkortasun termikoa TGA analisiaren bitartez determinatu da.

4.7. Irudian lagin guztien TG eta DTG kurbak erakusten dira.

Aurreikusten zen bezala, grafitoarentzat ez da degradaziorik antzematen aztertutako tenperatura tartean [32]. Halaber, G  $sp^2$  loturez bakarrik eratuta dagoenez [33] masa galera oso txikia dauka, zeina aurkezten dituen akats eta disolbatzaile hondarrarekin erlazionatzen den [34]. Aitzitik, GO degradazioaren kasuan masa galera handiagoa da eta bi etapa nagusitan ematen da: 1) GO gainazaleko ur molekulen eliminazioa (25 – 150 °C) eta 2) karbono monoxidoa, karbono dioxidoa eta ura sortzen duten oxigenoa duten talde funtzionalen pirolisia (175 – 320 °C) [35–37]. 320 °C-tik gora, pisuak ia konstante jarraitzen du [35]. TG analisiak urarekin erlazionatutako %14ko masa galera iradokitzen du eta %33ko masa galera oxigenoa duten taldeentzat. Ma eta kideek [38] lortutako ondorioen arabera, rGOk GOarekin alderatuz antzeko portaera aurkezten du baina masa galera txikiagoa erakutsiz. rGOren kasuan, oxigenoa duten taldeen %20ko masa galera determinatu

da. Emaitza hauek oxigeno taldeak guztiz ez direla eliminatu eta Gren egitura hein batean bakarrik berrezarri litzatekeela adieraz dezakete.



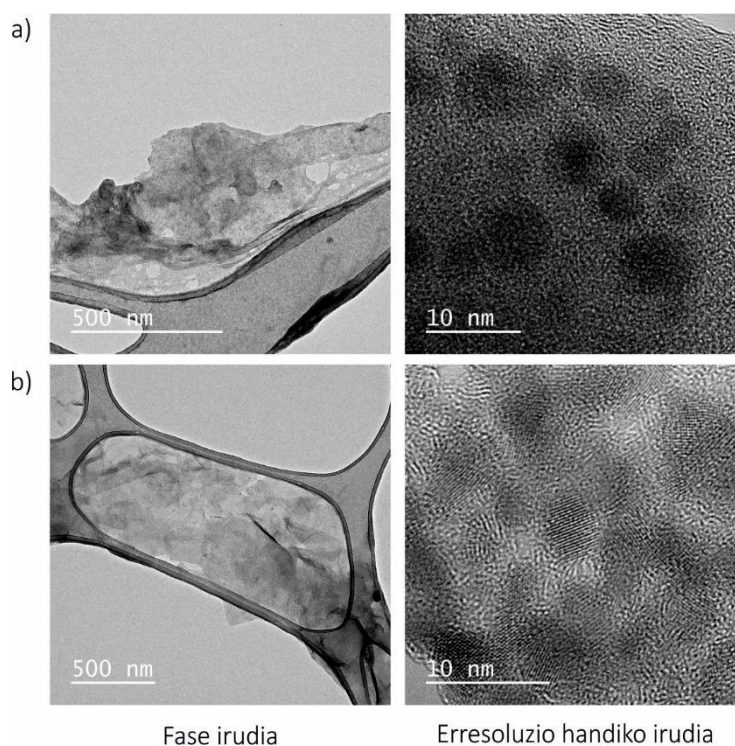
4.7. Irudia – Grafitoa, G, GO eta rGOren a) TG eta b) DTG kurbak.

#### 4.5.4. Transmisiozko mikroskopia elektronikoa

G eta GOaren morfologia TEM bidez karakterizatu da. Laginak ur destilatuan (%0,5ean) ultrasonikazio bidez prestatu dira ordu betez. Garen kasuan, *Salvia* estraktuak erabili dira dispersioaren egonkortasuna uretan hobetzeko helburuarekin. Prestatutako suspentsioaren tanta bat

karbonozko pelikula batez estalitako kobrezko TEM sare batean kokatzen da. Azkenik, lagina hutsune bidez lehortu egin da. 4.8. Irudian karbonodun bi nanopartikulen TEM irudiak erakusten dira.

G eta GOren TEM fase irudiak konparatuz (4.8. Irudia, ezkerreko zutabea), bigarrenak morfologia homogeenago bat erakusten duela ondoriozta daiteke. Garen TEM irudiak uretan *Salvia* estraktuak emulSIONATZAILE gisa erabilia lortu direla kontutan hartu behar da, *Salvia*ren presentziak G nanoxafilen antolamenduan eragin dezakeela pentsa daitekeelarik. Bestalde, bi laginen erresoluzio handiko TEM irudiak alderatuz (4.8. Irudia, eskuineko zutabea), GOaren kasuan oso orientaturiko domeinuak ikus daitezke, Garen kasuan aldiz ez dira hain nabarmenak. Beraz, *Salvia* Garen orientazioan ere interferitzen duela iradoki daiteke.



4.8. Irudia – a) G eta b) GOren TEM fase eta erresoluzio handiko irudiak.

#### 4.6. ONDORIOAK

WSNC eta CNCak arrakastaz isolatu dira hidrolisi azido bidez. XRD emaitzen arabera, bi NC motek espero zen polimorfismoa erakusten dutela ondorioztatu da. Gainera, aurreikusten zen bezala, CNCen kristalinitate maila nabarmenki handiagoa dela ikusi da. AFM irudiei esker WSNCek aurreikusitako *platelet-like* itxura dutela baieztatu da, CNCek ordea geometria fibrilarra erakutsi dutelarik. Hortaz, AFM eta XRD emaitzek kasu bakoitzean erabilitako hidrolisi azido protokoloak egokiak izan direla baieztatu dute, eta beraz, NCak almidoian oinarritutako nanokonpositeetan nanoerrefortzu gisa erabiltzeko aproposak dira.

Bestalde, karbonodun nanopartikulak, grafitotik modu arrakastatsuan lortu dira. Nanopartikula guztien egitura Raman espektroskopia eta XRD bidez baieztatu da eta morfologia TEM bitartez. GOak nanoxafla arteko distantzia handiagoa aurkezten duela ondorioztatu da. Aldiz, G nanoxaflen morfologian *Salvia* estraktuen eragina nabari dela ikusi ahal izan da.

#### 4.7. ERREFERENTZIAK

- [1] H. Angellier, L. Choisnard, S. Molina-Boisseau, P. Ozil, A. Dufresne, Optimization of the preparation of aqueous suspensions of waxy maize starch nanocrystals using a response surface methodology, *Biomacromolecules*. 5 (2004) 1545–51. doi:10.1021/bm049914u.
- [2] N.L. García, L. Ribba, A. Dufresne, M. Aranguren, S. Goyanes, Effect of glycerol on the morphology of nanocomposites made from thermoplastic starch and starch nanocrystals, *Carbohydr. Polym.* 84 (2011) 203–210. doi:10.1016/j.carbpol.2010.11.024.
- [3] A. Saralegi, L. Rueda, L. Martin, A. Arbelaiz, A. Eceiza, M.A. Corcuera, From elastomeric to rigid polyurethane/cellulose nanocrystal bionanocomposites, *Compos. Sci. Technol.* 88 (2013) 39–47. doi:10.1016/j.compscitech.2013.08.025.
- [4] A. Santamaria-Echart, L. Ugarte, C. García-Astrain, A. Arbelaiz, M.A. Corcuera, A. Eceiza, Cellulose nanocrystals reinforced environmentally-friendly waterborne polyurethane nanocomposites, *Carbohydr. Polym.* 151 (2016) 1203–1209. doi:10.1016/j.carbpol.2016.06.069.
- [5] D. Le Corre, A. Dufresne, Starch Nanoparticles: A review starch nanoparticles: A review, (2010) 1139–1153. doi:10.1021/bm901428y.
- [6] A. Dufresne, Crystalline starch based nanoparticles, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 19 (2014) 397–408. doi:10.1016/j.cocis.2014.06.001.

- 
- [7] B.B. Sanchez de la Concha, E. Agama-Acevedo, M.C. Nuñez-Santiago, L.A. Bello-Perez, H.S. Garcia, J. Alvarez-Ramirez, Acid hydrolysis of waxy starches with different granule size for nanocrystal production, *J. Cereal Sci.* 79 (2018) 193–200. doi:10.1016/j.jcs.2017.10.018.
- [8] M.C. Li, Q. Wu, K. Song, S. Lee, Y. Qing, Y. Wu, Cellulose nanoparticles: Structure-morphology-rheology relationships, *ACS Sustain. Chem. Eng.* 3 (2015) 821–832. doi:10.1021/acssuschemeng.5b00144.
- [9] N. Lin, J. Huang, A. Dufresne, Preparation, properties and applications of polysaccharide nanocrystals in advanced functional nanomaterials: a review, *Nanoscale*. 4 (2012) 3274–3294. doi:10.1039/c2nr30260h.
- [10] M.J. Jivan, A. Madadlou, M. Yarmand, An attempt to cast light into starch nanocrystals preparation and cross-linking, *Food Chem.* 141 (2013) 1661–1666. doi:10.1016/j.foodchem.2013.04.071.
- [11] M.F. Rosa, E.S. Medeiros, J.A. Malmonge, K.S. Gregorski, D.F. Wood, L.H.C. Mattoso, G. Glenn, W.J. Orts, S.H. Imam, Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior, *Carbohydr. Polym.* 81 (2010) 83–92. doi:10.1016/j.carbpol.2010.01.059.
- [12] H. Kargarzadeh, I. Ahmad, I. Abdullah, A. Dufresne, S.Y. Zainudin, R.M. Sheltami, Effects of hydrolysis conditions on the morphology, crystallinity, and thermal stability of cellulose nanocrystals extracted from kenaf bast fibers, *Cellulose*. 19 (2012) 855–866. doi:10.1007/s10570-012-9684-6.
- [13] A. Bullon, P. Colonna, V. Planchot, S. Ball, Starch granules: Structure and biosynthesis, *Int. J. Biol. Macromol.* 23 (1998) 85–112. doi:10.1016/S0141-8130(98)00040-3.
- [14] N. Wang, E. Ding, R. Cheng, Thermal degradation behaviors of spherical cellulose nanocrystals with sulfate groups, *Polymer (Guildf)*. 48 (2007) 3486–3493. doi:10.1016/j.polymer.2007.03.062.
- [15] Y. Wang, H. Tian, L. Zhang, Role of starch nanocrystals and cellulose whiskers in synergistic reinforcement of waterborne polyurethane, *Carbohydr. Polym.* 80 (2010) 665–671. doi:10.1016/j.carbpol.2009.10.043.
- [16] L. Ugarte, S. Gómez-Fernández, A. Tercjak, A. Martínez-Amesti, M.A. Corcuera, A. Eceiza, Strain sensitive conductive polyurethane foam/graphene nanocomposites prepared by impregnation method, *Eur. Polym. J.* 90 (2017) 323–333. doi:10.1016/j.eurpolymj.2017.03.035.
- [17] J.Ri.E.O. William S. Hummers, Preparation of graphitic oxide, *J. Am. Chem. Soc.* 80 (1958) 1339–1339.
- [18] H. Luo, J. Dong, F. Yao, Z. Yang, W. Li, J. Wang, X. Xu, J. Hu, Y. Wan, Layer-by-layer assembled bacterial cellulose/graphene oxide hydrogels with extremely enhanced mechanical properties, *Nano-Micro Lett.* 10 (2018) 1–10. doi:10.1007/s40820-018-0195-3.
- [19] F.T. Johra, J.W. Lee, W.G. Jung, Facile and safe graphene preparation on solution based platform, *J. Ind. Eng. Chem.* 20 (2014) 2883–2887. doi:10.1016/j.jiec.2013.11.022.
- [20] R. Beams, L. G. Cançado, L. Novotny, Raman characterization of defects and dopants in
-

- graphene, *J. Phys. Condens. Matter.* 27 (2015). doi:10.1088/0953-8984/27/8/083002.
- [21] H. Li, L. Song, H. Liu, J. Li, A. Yang, C. Sun, R. Li, Y. Fu, C. Yu, Antimony-doped tin oxide embedding graphene-based aerogel for infrared barriering, *Ceram. Int.* 45 (2019) 7894–7905. doi:10.1016/j.ceramint.2019.01.100.
- [22] J. Dickson Joseph, N. Tyagi, A. Ghimire, K. E. Geckeler, A direct route towards preparing pH-sensitive graphene nanosheets with anti-cancer activity, *RSC Adv.* 4 (2014) 4085–4093. doi:10.1039/c3ra45984e.
- [23] A. You, M.A.Y. Be, I. In, White light Z-scan measurements of ultrafast optical nonlinearity in reduced graphene oxide nanosheets in the 400 – 700 nm region, 051104 (2015). doi:10.1063/1.4928124.
- [24] M.Z. Ansari, R. Johari, W.A. Siddiqi, Novel and green synthesis of chemically reduced graphene sheets using *Phyllanthus emblica* (Indian Gooseberry) and its photovoltaic activity, *Mater. Res. Express.* 6 (2019). doi:10.1088/2053-1591/ab0439.
- [25] O. Akhavan, Bacteriorhodopsin as a superior substitute for hydrazine in chemical reduction of single-layer graphene oxide sheets, *Carbon N. Y.* 81 (2015) 158–166. doi:10.1016/j.carbon.2014.09.044.
- [26] W.L. Bragg, The dawn of X-ray crystallography, *Proc. Camb. Philol. Soc.* 12 (1913) 43–57.
- [27] J. Fan, Z. Shi, J. Wang, J. Yin, Glycidyl methacrylate-modified gum arabic mediated graphene exfoliation and its use for enhancing mechanical performance of hydrogel, *Polymer (Guildf).* 54 (2013) 3921–3930. doi:10.1016/j.polymer.2013.05.057.
- [28] J. Cao, Y. Zhu, X. Yang, Y. Chen, Y. Li, H. Xiao, W. Hou, J. Liu, The promising photo anode of graphene/zinc titanium mixed metal oxides for the CdS quantum dot-sensitized solar cell, *Sol. Energy Mater. Sol. Cells.* 157 (2016) 814–819. doi:10.1016/j.solmat.2016.08.003.
- [29] E. Mahmoudi, L.Y. Ng, M.M. Ba-Abbad, A.W. Mohammad, Novel nanohybrid polysulfone membrane embedded with silver nanoparticles on graphene oxide nanoplates, *Chem. Eng. J.* 277 (2015) 1–10. doi:10.1016/j.cej.2015.04.107.
- [30] J. Guerrero-Contreras, F. Caballero-Briones, Graphene oxide powders with different oxidation degree, prepared by synthesis variations of the Hummers method, *Mater. Chem. Phys.* 153 (2015) 209–220. doi:10.1016/j.matchemphys.2015.01.005.
- [31] M. Lee, S.K. Balasingam, H.Y. Jeong, W.G. Hong, H.B.R. Lee, B.H. Kim, Y. Jun, One-step hydrothermal synthesis of Graphene decorated V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> nanobelts for enhanced electrochemical energy storage, *Sci. Rep.* 5 (2015) 1–8. doi:10.1038/srep08151.
- [32] V. Loryuenyong, K. Totepvimarn, P. Eimburanaprat, W. Boonchompoo, A. Buasri, Preparation and characterization of reduced graphene oxide sheets via water-based exfoliation and reduction methods, *Adv. Mater. Sci. Eng.* 2013 (2013) 1–5. doi:10.1155/2013/923403.
- [33] A. Graziano, S. Jaffer, M. Sain, B. Processing, Graphene oxide modification for enhancing high density polyethylene properties: A comparison between solvent reaction and melt mixing, *J Polym Eng* 39 (2019) 1–16. doi:10.1515/polyeng-2018-0106

- [34] X. Zhang, W.R. Browne, B.L. Feringa, Preparation of dispersible graphene through organic functionalization of graphene using a zwitterion intermediate cycloaddition approach, *RSC Adv.* 2 (2012) 12173–12176. doi:10.1039/c2ra22440b.
- [35] S. Gupta, V. Subramanian, Encapsulating Bi<sub>2</sub>Ti<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (BTO) with reduced graphene oxide (RGO): An effective strategy to enhance photocatalytic and photoelectrocatalytic activity of BTO, *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 6 (2014) 18597–18608. doi:10.1021/am503396r.
- [36] T. Wu, X. Wang, H. Qiu, J. Gao, W. Wang, Y. Liu, Graphene oxide reduced and modified by soft nanoparticles and its catalysis of the Knoevenagel condensation, *J. Mater. Chem.* 22 (2012) 4772–4779. doi:10.1039/c2jm15311d.
- [37] S. Jin, Q. Gao, X. Zeng, R. Zhang, K. Liu, X. Shao, M. Jin, Effects of reduction methods on the structure and thermal conductivity of free-standing reduced graphene oxide films, *Diam. Relat. Mater.* 58 (2015) 54–61. doi:10.1016/j.diamond.2015.06.005.
- [38] T. Ma, P.R. Chang, P. Zheng, X. Ma, The composites based on plasticized starch and graphene oxide/reduced graphene oxide, *Carbohydr. Polym.* 94 (2013) 63–70. doi:10.1016/j.carbpol.2013.01.007.





## **5. KAPITULUA:**

**ALMIDOI ETA POLISAKARIDO  
NANOKRISTALETAN  
OINARRITUTAKO  
NANOKONPOSITE FILMAK**



## 5. ALMIDOI ETA POLISAKARIDO NANOKRISTALETAN OINARRITUTAKO NANOKONPOSITE FILMAK

### 5.1. HELBURUA

3. Kapituluaren burutu den ikerketan, 1,3-propanodiolak almidoia plastifikatzeko ahalmen txikia duela ikusi da, bien arteko bateragarritasun mugatuaren ondorioz fase banaketa gertatzen delarik. Ondorioz, 1,3-propanodiolarekin plastifikatutako almidoi filmek opakotasun, hauskortasun eta iragazkortasun balio altuenak erakusten dituzte. Gainera, TPS filmen kasuan, prozesaketan erabiltzen diren tenperatura altuen ondorioz, 1,3-propanodiolaren galera gertatzen dela ikusi da, hauskortasuna areagotuz. Aldiz, D-isosorbida erabiltzean, gardentasuna areagotzen dela eta bai propietate mekanikoak, baita hesi propietateak hobetzen direla ikusi da. Glizerolarekin plastifikatutako filmek 1,3-propanodiolarekin plastifikatutakoak baino almidoi/plastifikatzaile bateragarritasun handiagoa erakutsi duten arren, D-isosorbidekin alderatuz, propietate mekaniko eta hesi propietate okerragoak erakutsi dituzte. Beraz, glizerolarekin plastifikatutako filmen prestakuntzak hobetzarren, glizerolarekin plastifikatutako PLS eta TPS matrizeetan polisakarido NCak gehitzearekin materialen portaera, batez ere propietate mekaniko eta hesi propietateekin erlazionatutakoa, hobetuko dela kontsideratzen dugu.

Beraz, kapitulu honen helburu nagusia polisakarido NCen gehikuntza medio nanokonposite filmak prestatzea izan da. Glizerolarekin plastifikatutako arto almidoi matrize batean WSNC eduki ezberdinen eragina aztertuko da. Horretaz gain, antzeko egitura kimikoa baino geometria ezberdina duten NCak batera erabiltzearen efektua ere aztertuko da.

Gainera, filmak *solvent casting* bidez eta estrusio/konpresioz prestatuko dira, PLS eta TPS nanokonpositeak prestatuz, hurrenez hurren. 3. Kapituluaren estrusio/konpresioz prestatutako filmek *solvent casting* bidez prestatutakoak baino propietate mekaniko hobeak erakutsi dituzten arren,

nanokonpositeak *solvent casting* bidez ere prestatzea erabaki da. Izan ere, *solvent casting* bidez errefortzuaren dispersio hobekoak lortzea espero da. Beraz, hipotesi hauek baieztatzearen, almidoian oinarritutako filmen propietateetan prozesatze teknika ezberdinen eragina aztertuko da. Lortutako nanokonposite guztiak egonkortasun termiko, propietate mekaniko eta hesi propietate eta morfologiaren ikuspuntutik ezaugarrituko dira.

## **5.2. ALMIDOI/POLISAKARIDO NANOKRISTAL NANOKONPOSITE FILMEN LORPENA**

### **5.2.1. PLS eta polisakarido nanokristaletan oinarritutako nanokonpositeen prestaketa**

Nanokonpositeak 3.2.1. Atalean deskribatzen den metodoa jarraituz prestatu dira. 3,58 g arto almidoi, 1,93 g glizerol eta 35 g ur destilatu 90 °C-tan berotu dira, nahastea 20 minutuz irabiatu delarik gelatinizazioa gerta dadin. Ondoren, aurretik uretan ultrasonikazioz dispersatu diren NCak gehitu dira, kantitate ezberdinetan. WSCNen gelatinizazioa ekiditeko, NCak gehitu aurretik nahastea 50 °C-taraino hoztu da. Jarraian, lortutako gel likatsua, 15000 rpm eta 3 minutuz dispersio sistema batean (POLYTRON® PT 2500 E) homogeneizatu da. Azkenik, materiala Petri plaka batean zabaldu da eta 55 °C-tan 2 orduz labe batean lehortu da. Laginak, CSg35 + % (WSCN/CNC) izendatu dira, non %ak nanokristalen ehuneko pisu-edukia eta WSCN/CNCak erabilitako NCen ehuneko erlazioa adierazten duten.

Glizerol edukia, lagin guztientzat %35an finkatu da, eta almidoi eta plastifikatzaile edukiarekiko adierazita dago. Nanokristalen edukia, almidoi eta glizerol pisuarekiko adierazita dago eta WSCN edo CNC edukia, NC guztien pisuarekiko adierazita dago. Lagin guztiak, karakterizazio saiakuntzak burutu aurretik, %43ko HEan bi astez gorde dira.

### **5.2.2. TPS eta polisakaridoen nanokristaletan oinarritutako nanokonpositeen prestaketa**

TPS nanokonpositeen prestaketa 3.2.2. Atalean deskribatzen den 4 etapako prozedura jarraituz burutu da: gelatinizazioa, liofilizazioa, estrusioa eta konpresioa. *Solvent casting* bidez deskribatu den gelatinizazio prozesu berdina burutu ostean, nanokonpositeen prestaketarako NCak, eduki ezberdinetan gehitu dira, materiala homogeneizatu eta azkenik liofilizatu delarik. Jarraian, liofilizatutako materiala, 3. Kapituluaren deskribatutako prozesaketa-metodologia jarraituz, estrusioz eta konpresioz moldeatu da, hau da, estrusioa, 120 °C-tan 50 rpm-tara eta konpresioa bi etapatan: 1) 120 °C/0 tona/5 minutu eta 2) 120 °C/2,5 tona/5 minutu. Laginak, ESg35 + % (WSCN/CNC) bezala izendatu dira, %ak, nanokristalen ehuneko edukia eta WSCN/CNCak, erabilitako NC-en ehuneko adierazten duten.

*Solvent casting* bidez prestatutako filmetan bezala, lagin guztien glizerol edukia %35 izan da, almidoi eta plastifikatzaile edukiarekiko adierazita egonik. Nanokristalen edukia, almidoi eta glizerol pisuarekiko adierazita dago eta WSCN edo CNC edukia, NC guztien pisuarekiko adierazita dago. Lagin guztiak, karakterizazio saiakuntzak burutu aurretik, %43ko HEan bi astez gorde dira.

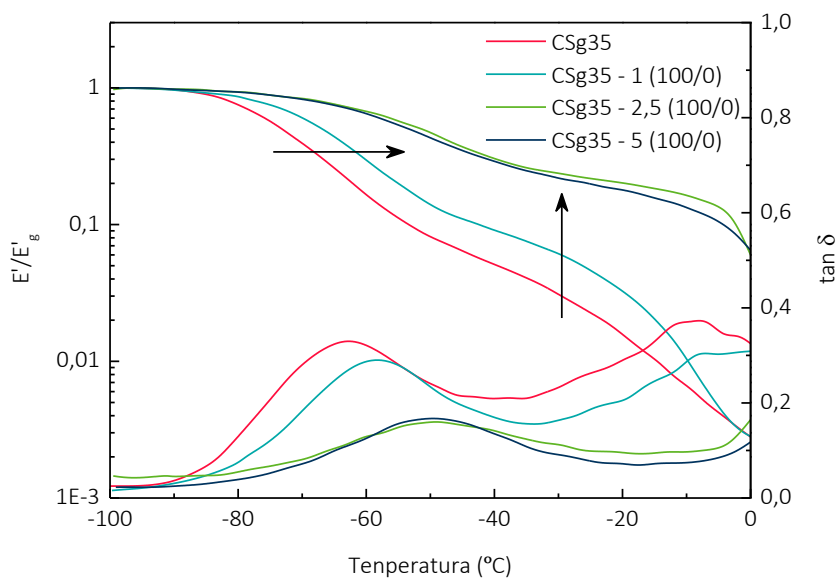
## **5.3. WAXYARTO ALMIDOI NANOKRISTALEN EDUKIAREN ERAGINA PLS FILMEN PROPIETATEETAN**

Glizerolarekin plastifikatutako PLS filmen portaera orokorra hobetzarren WSNCak gehitu dira. Beraz, nanokonpositeen propietateengan WSNC eduki ezberdinak (%1, 2,5 eta 5) gehitzearen eragina aztertuko da.

### **5.3.1. Analisi mekaniko dinamikoa**

Bionanokonpositeen portaera biskoelastikoa DMAz aztertu da. 5.1. Irudian *solvent casting* bidez lortutako filmen  $E'/E'_g$  eta  $\tan \delta$ -ren tenperaturarekiko menpekotasuna aurkezten da. 3.4.4. Atalean

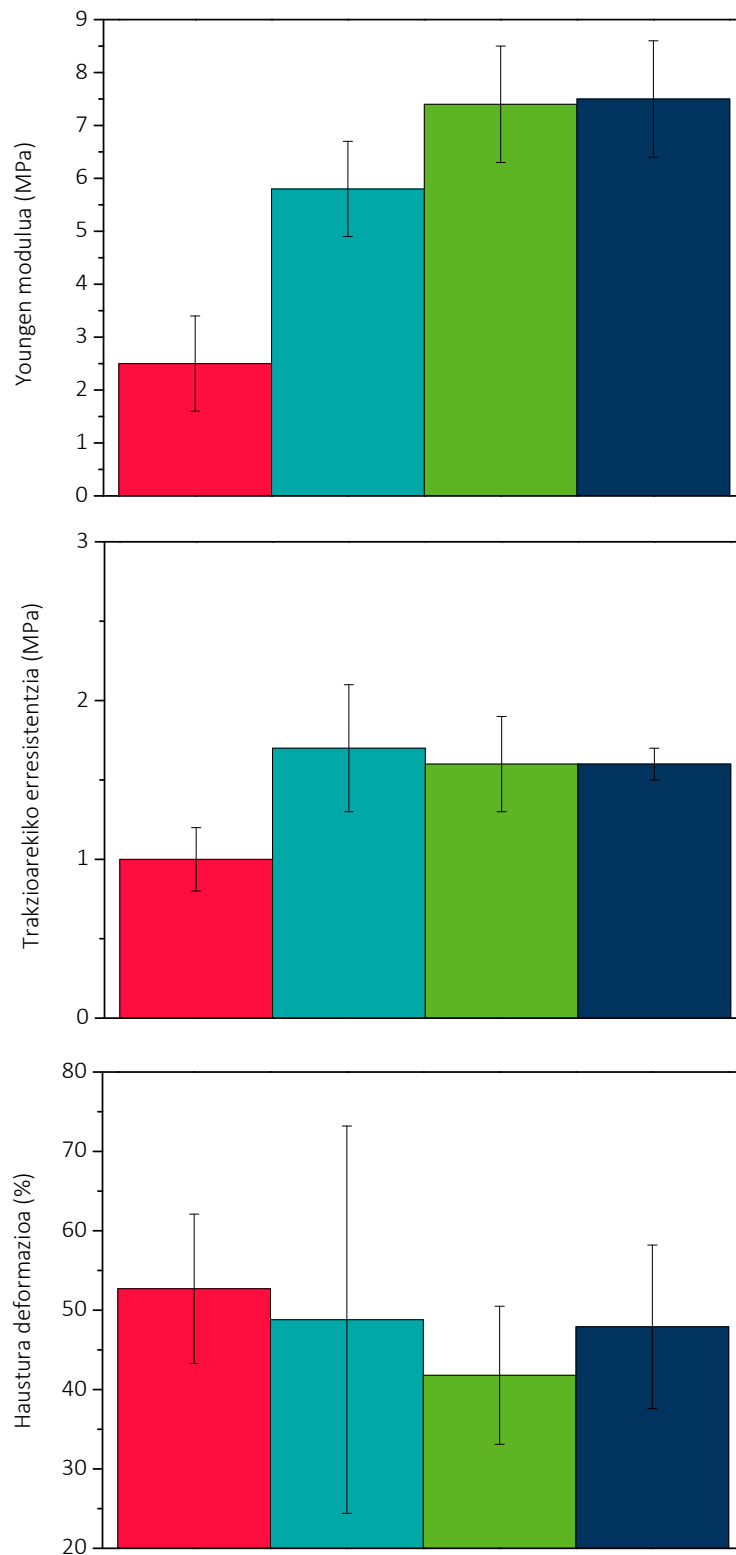
lortutako emaitzekin bat, bi modulu erorketa etapa ikus daitezke, tan  $\delta$ -k bi maximo erakustearekin batera,  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $T_{\alpha 1}$ ) eta  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $T_{\alpha 2}$ ) temperaturen inguruan. Azaldu den bezala, jakina da bi erlaxazio temperatura horiek glizerolean aberatsa eta almidoitan aberatsa diren faseei dagozkiela, hurrenez hurren [1]. Ikus daitekeen bezala, WSNCak gehitzean  $T_{\alpha 1}$  eta  $T_{\alpha 2}$  temperaturak balio altuagoetara desplazatzen dira, izan ere, NCen eta almidoiaren artean ematen diren elkarrekintza sendoek bi faseen mugikortasunean eragiten dute. WSNC edukia handitzean,  $T_{\alpha 1}$  pikoak  $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ -tik gertuko temperaturara desplazatzen da, eta aldi berean, tan  $\delta$  pikoaren intentsitatea nabarmen jaisten da, glizerol molekula gutxiago erlaxatzen direnaren seinale. Gainera, eragin hau bi faseen trantsizioengan %2,5 eta %5 NC edukia duten laginentzat bereziki nabarmena da,  $E'/E'_g$  asko handitzen delarik, nanokonpositeetan NCen dispersio ona lortu denaren seinale dena.



5.1. Irudia – WSNCez indartutako PLS nanokonpositeen  $E'/E'_g$  eta tan  $\delta$ ren bilakaera temperaturarekin.

### 5.3.2. Propietate mekanikoak

WSNC eduki ezberdinekin indartutako nanokonpositeen propietate mekanikoak trakzio saiakuntzen bidez determinatu dira. Lortutako emaitzak 5.2. Irudian biltzen dira.



5.2. Irudia – ■ CSg35, ■ CSg35 - 1 (100/0), ■ CSg35 - 2,5 (100/0) eta ■ CSg35 - 1 (100/0) laginen propietate mekanikoak.



Glizerolarekin plastifikatutako PLS matrizeengan WSNCak gehitzeak, propietate mekanikoen hobetze nabarmena eragiten du. Izan ere, PLS matrizeari %2,5 eta %5 WSNC gehitzean Young modulua 2,5 MPa-tik 7,5 MPa-ra handitzen da eta trakzio erresistentzia %70ean hobetzen da. Gainera, %2,5 eta %5 WSNC nanokonpositeentzat antzeko haustura deformazioak neurtu dira. Matrizearen eta nanoerrefortzuen izaera kimiko berdinarekin ondorioz, espero bezala, PLS/WSNC interfasean hidrogeno zubiko elkarrekintza sendoak ahalbidetzen dira, ondorengo errefortzu efektua areagotuz, DMA saiakeretan lortutako emaitzekin bat.

### 5.3.3. Hesi propietateak

PLSan eta polisakariko NCetan oinarritutako nanokonpositeen hesi propietateak WVP eta OP neurketa bidez aztertu dira. Lortutako emaitzak 5.1. Taulan biltzen dira. Jakina da, matrize polimeriko batean eskala nanometrikoko partikulak gehitzean, lurrun edo gasekiko bide bihurtu bat sortzen dela eta, ondorioz, nanokonpositean iragazkotasunean eragiten duen alderdi difusiboaren txikitzea ematen da. Dena den, difusioaz gain, polimeroen hesi propietateak disolbagarritasun koefizienteekiko menpekoak dira eta hauek, bere aldetik, polimero/plastifikatzaile/NC/gasaren arteko elkarrekintzen menpekoak [2–5]. Xafla itxurako WSNCk hesi propietateak hobetzeko baldintzak betetzen dituzten arren, beraien izaera hidrofilikoa, kristalinitate baxua eta gerta daitezkeen aglomerazioak kontutan eduki behar dira, izan ere, nanokonpositeen WVP balioetan kontrako emaitzak ere ikusi dira [6].

Tesi honetan egindako ikerketan, WVP balioak WSNC gehitzearekin txikitu ez diren arren, OP balioak nabarmen txikitu dira %2,5 eta 5 WSNC edukientzat. Bertuzzi eta kideek [7] eta Forssell eta kideek [8] ikusi zutenaren arabera, amilosa eduki altuko arto almidoiarekin, *waxy* arto almidoiarekin eta patatatik eratorritako amilosarekin *solvent casting* bidez lortutako filmetan uraren garraio fenomenoaren eta xurgatutako uraren artean ematen diren elkarrekintzekiko menpekoa da. Elkarrekintza hauek ez lirateke emango oxigeno molekulekin, hori izanik OP

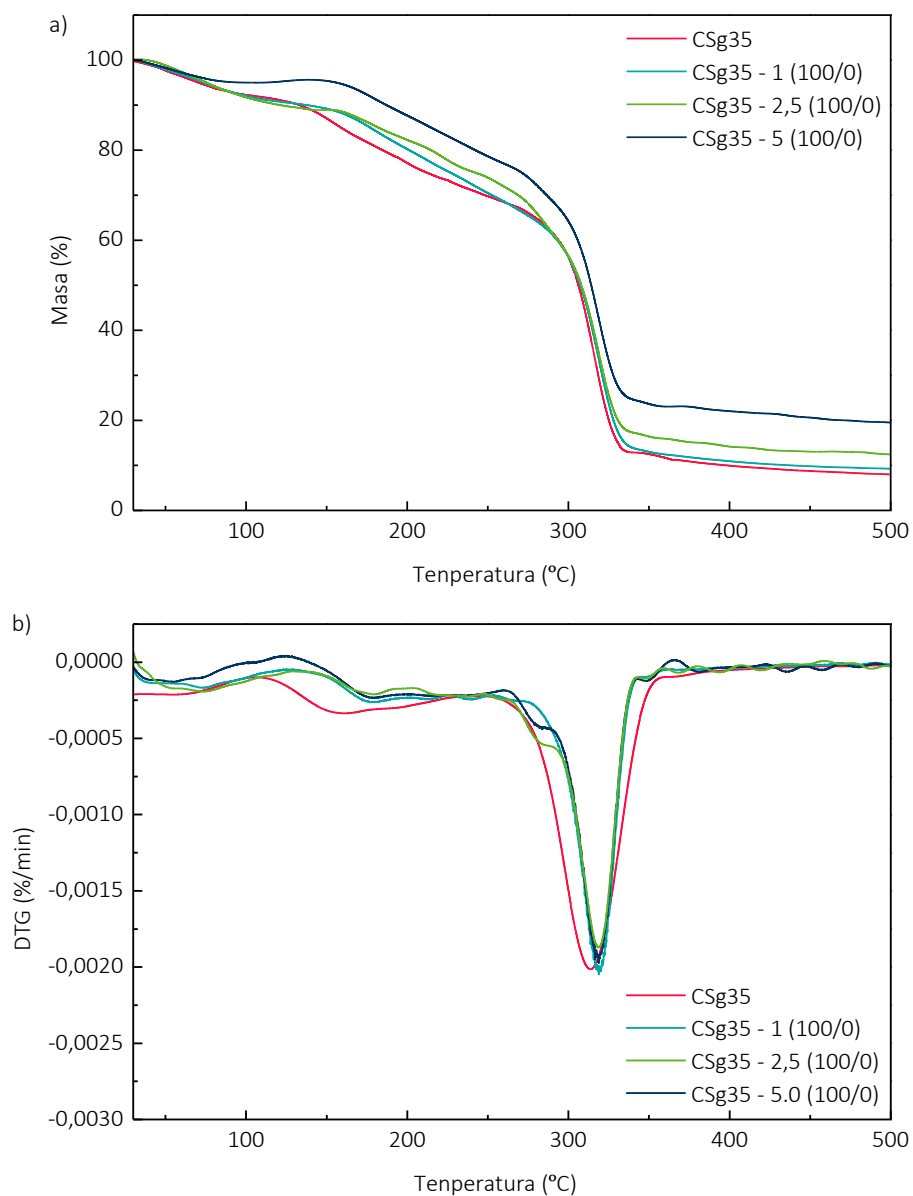
txikitzearen arrazoia. Ikus daitekeen bezala, CSg35 eta CSg35 - 1 (100/0) laginek O<sub>2</sub>-rekiko iragazkortasun berdina aurkezten duten bitartean, %5 WSNC edukia duen nanokonpositean  $1,0 \pm 0,2 \text{ cm}^3 \text{ mm m}^{-2} \text{ egun}^{-1} \text{ atm}^{-1}$ -raino txikitzen da, ibilbide bihurgunetsu eraginkor bat lortzeko kontzentrazio minimo bat behar dela iradokiaz. WSNC eduki altuetan lortutako hesi propietateen hobekuntza nabarmen honek, PLS matrizean nanokristalen dispersioa ona dela eta matrize eta NCen artean atxikidura interfazial eraginkorra dela iradokitzen dute. Hortaz, iragazkortasun emaitzak bat datoz bai DMAz eta baita saiakuntza mekanikoekin lortutako emaitzekin.

5.1. Taula –WSNCez indartutako PLS nanokonposite filmen hesi propietateak.

Lagina	WVP ( $\text{kg m m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ ) x $10^{13}$	OP ( $\text{cm}^3 \text{ mm m}^{-2} \text{ egun}^{-1} \text{ atm}^{-1}$ )
Sg35	$6,8 \pm 0,6$	$3,7 \pm 0,1$
CSg35 – 1,0 (100/0)	$7,1 \pm 0,4$	$2,9 \pm 0,2$
CSg35 – 2,5 (100/0)	$5,1 \pm 0,7$	$1,6 \pm 0,5$
CSg35 – 5,0 (100/0)	$5,9 \pm 0,3$	$1,0 \pm 0,2$

#### 5.3.4. Analisi termograbitrikoa

TGA saiakuntzak nanokonpositeen degradazio termikoa aztertzeko burutu dira. 5.3. Irudian TG eta DTG kurbak aurkezten dira. 3.4.7. Atalean PLS filmentzat ikusi bezala, nanokonpositeen degradazio termikoa hiru etapatan gertatzen da [1,9]. Lehenengoa (25 – 100 °C) xurgatutako hezetasunarekin erlazionatzen da, bigarrena (100 – 200 °C) glizerolean aberatsa den fasearen degradazioarekin eta azkena (340 °C inguruan) partzialki degradatutako almidoiaren oxidazioari dagokio.



5.3. Irudia – WSNCEz indartutako PLS nanokonposite filmen a) TG eta b) DTG kurbak.

Ikus daitekeen bezala, almidoian oinarritutako materialen portaera termikoa WSNCEn gehikuntzaz baldintzatua dago. Polisakarido NCen propietate termikoak beraien jatorriaz, isolatzeko erabilitako prozeduraz eta gainazal funtzionalizazioaz baldintzatuak daude [10]. Horretaz gain, beste autore batzuek argitaratu bezala [11–13], polisakarido NCak azido sulfurikoarekin hidrolizatzean, NCen gainazalean sulfato taldeak txertatzen dira, egonkortasun termikoaren txikitzea eraginez. Hala ere, lan honetan kontrako efektua ikusi da. Izan ere, nanokonpositeen egonkortasun termikoa

matrizearekin alderatzen badugu, kasu guztietan handitzen dela ikusi da, NCen eta almidoiaren arteko afinitate onari atxiki dakiokelarik, DMAz lortutako emaitzekin bat eginez. Izan ere, %1 WSNC soilik gehitzearekin egonkortasun termikoan hobekuntza lortzen da. DTG kurbetan degradazio nagusiaren tenperatura nabarmenki desplazatzen dela eta sorbalda txiki bat agertzen dela ikus daiteke. 4. Kapituluaren aipatu bezala, gainazalean txertatutako sulfato talde hauek degradazioa katalizatu dezakete, hori izanik DTG kurban azaltzen den eta WSNC edukiarekiko menpekoa den sorbalda txiki horren arrazoia.

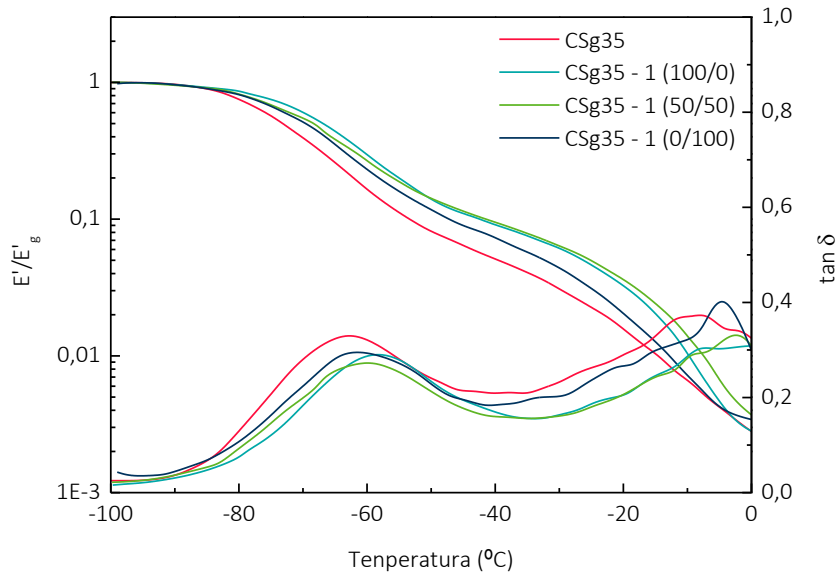
Matrizearekin alderatuz polisakarido NCk gehitzean egonkortasun termikoa areagotzen dela ondorioztatu daiteke. Aldi berean, nanokristalen edukia handitzean hondakin edukia ere handitu egiten dela ikusten da, oraingoan ere NCen gainazaleko sulfato taldeekin lotura izan dezakeelarik.

#### **5.4. POLISAKARIDO NANOKRISTALAK KONBINATZEAREN ERAGINA PLS FILMEN PROPIETATEETAN**

PLS matrize batean NC motak duen eragina aztertuko da. Horretarako, %1 eduki totalen WSNC eta CNC gehitu dira. Xafla morfologia duten WSNCek hesi propietateengan eragitea espero da [14], hagaxka itxurako CNCek errefortzu mekaniko berezia emango dutela pentsatzen den bitartean euren kristalinitate eta aspektu erlazio altuak direla eta.

##### **5.4.1. Analisi mekaniko dinamikoa**

Portaera biskoelastikoan WSNC eta CNC batera erabiltzearen eragina DMAz aztertu da eta lortutako emaitzak 5.4. Irudian aurkezten dira.

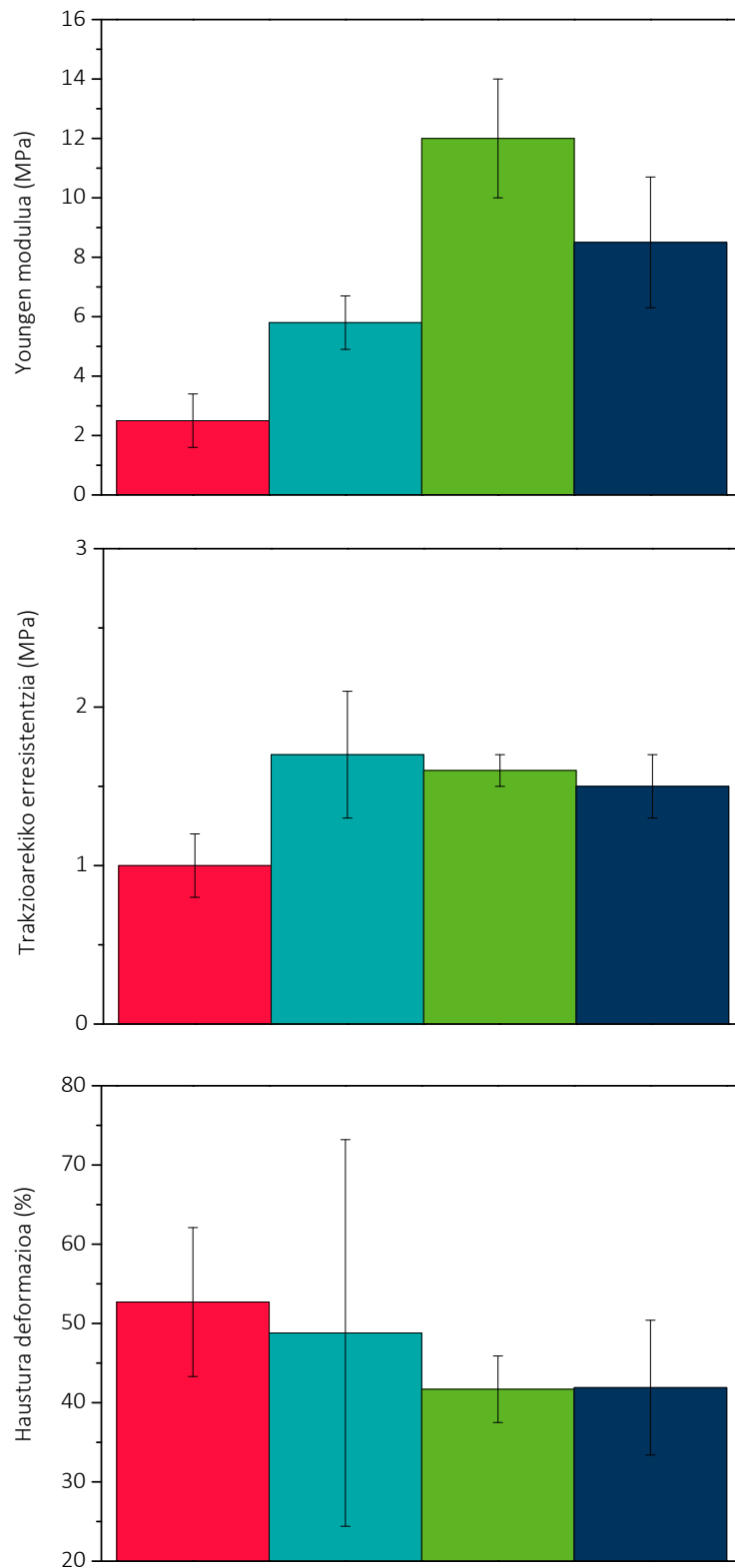


5.4 Irudia – WSNCz eta CNCz indartutako PLS nanokonpositeen  $E'/E'_g$  eta  $\tan \delta$ ren bilakaera tenperaturarekin.

WSNCz eta CNCz indartutako nanokonpositeek, WSNCz soilik indartutako nanokonpositeek erakusten duten patroia biskoelastiko berdina erakusten dute (5.3.1 Atala). Izan ere, oso antzeko DMAak lortu dira, bi fase ezberdinekin erlazionatutako bi modulu erorketa ikusten direlarik. Polisakarido NCK gehitzean almidoiaren bi faseen erlaxazio tenperaturak balio altuagotara mugitzen dira, edozein NC izanik, eta bai WSNC bai CNCak, biek, almidoiarekin elkarrekintza sendoak sortzen dituztela adieraziz. Dena den, WSNC nanokonpositeak dituzten filmek zurruntasun handiagoa erakutsi dute,  $E'/E'_g$  balioei dagokionean, balio altuenak WSNC nanokonpositeentzat ere lortu direlarik. Emaitza hauek, NC eta almidoi faseen arteko elkarrekintzak baieztatzeaz gain, errefortzu eragina duen sare eraginkor bat sortzen dela, batez ere WSNCekin, berresten dute.

#### 5.4.2. Propietate mekanikoak

Nanokonpositeen portaera mekanikoa trakzio saiakuntzen bidez aztertu da. Lortutako emaitzak 5.5. Irudian aurkezten dira.



5.5. Irudia – ■ CSg35, ■ CSg35 - 1 (100/0), ■ CSg35 - 1 (50/50) eta ■ CSg35 - 1 (0/100) laginen propietate mekanikoak.

PLS matrizean WSNC edo CNC gehitzean azpimarragarriak diren zenbait aldaketa ikusi ziren. Lehenik, eduki berdinean CNCz indartutako nanokonpositeek Youngen modulu balio altuagoak erakutsi zituzten. Gertaera hau, kristalinitate eta aspektu erlazio altuagoko hagaxka itxurako NC erabiltzean oinarritua dago, zurruntasun balio altuagoak lortzen direlarik [15,16]. Haustura deformazioarekin kontrako efektua ikusi da, txikitze nabarmena ikusi delarik. Nabarmentzekoa da Youngen modulua asko hobetu dela, alegia 12,0 MPa-raino CSg35 - 1 (50/50) sistemarentzat, hau da WSNC eta CNC konbinatzen dituenarentzat. Wang eta kideek [16] antzeko emaitzak lortu zituzten uretan oinarritutako poliuretano matrize bat almidoi eta zelulosa nanokristalekin aldi berean indartzean. Nanoeskalako bi errefortzu horien konbinaketak, nanoerrefortzuen eta matrizearen arteko hidrogeno zubiko loturak direla eta sare trinkoagoa sortzen zela arrazonatu zuten, orain ere gure DMAko emaitzekin bat eginez.

#### 5.4.3. Hesi propietateak

WSNC eta/edo CNCekin indartutako nanokonpositeen hesi propietateak WVP eta OP saiakuntzak burutuz aztertu dira. 5.2. Taulan WSNC eta/edo CNC duten nanokonpositeen WVP eta OP balioak biltzen dira. Jakina da aspektu erlazio altuko nanopartikulak behar direla gasekiko iragazkortasuna maila hautemangarrian txikitzeko [14]. Aldiz, lortutako emaitzei erreparaturaz, nanokonpositeetan hesi propietateak CNCak gehitzean ez direla hobetzen ondorioztatu daiteke. García eta kideek [9] pareko joera ikusi zuten glizerol eduki antzekoarekin gelatinizatutako *waxy* arto almidoi matrize bati WSNCak gehituz prestatutako nanokonpositeetan. Batetik, aurretik eztabaidatu bezala, badirudi WVP balioa materialaren eta ur lurrunaren molekulen arteko afinitate kimiko sendoek gidatzen dutela. Bestetik, CNCen kristalinitate eta aspektu erlazio altuek ez dituzte OP balioak txikitzen, arinki, Sg35-1 (0/100)-an bakarrik txikitzen dira. Beraz, aztertu diren NC/arto almidoi filmetan hesi propietateen hobekuntza NCen morfologiarekin baino edukiarekin erlazionatuagoak daudela esan daiteke. WVP eta OP balioek NCen gehikuntzarekin txikitzeko joera

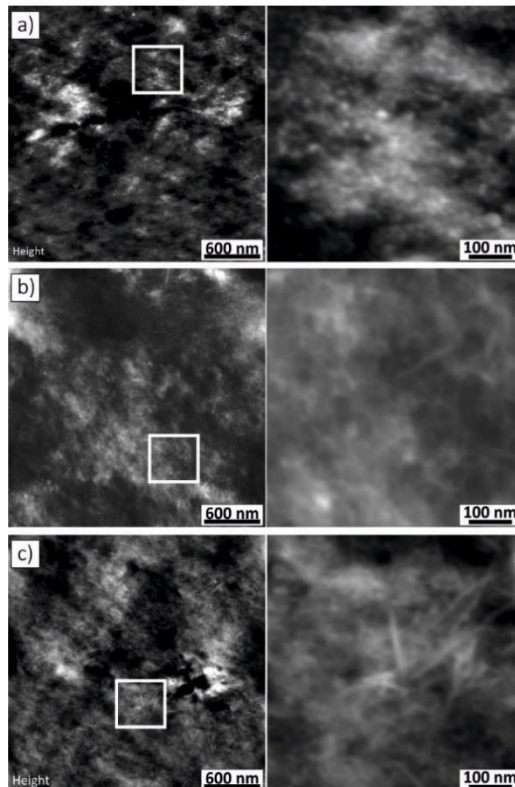
erakusten duten arren, lortutako emaitzak nanokonposite guztientzat antzekoak dira, arrazoiak erabilitako plastifikatzaile eduki altua izan daitekeelarik, 3.5.6 Atalean azaldu bezala hesi propietateengan faktore erabakigarri bat izanik.

5.2. Taula – WSNCz eta CNCz indartutako PLS nanokonposite filmen hesi propietateak.

Lagina	WVP ( $\text{kg m m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$ ) $\times 10^{13}$	OP ( $\text{cm}^3 \text{mm m}^{-2} \text{egun}^{-1} \text{atm}^{-1}$ )
CSg35	$6,8 \pm 0,6$	$3,7 \pm 0,1$
CSg35 - 1 (100/0)	$7,1 \pm 0,4$	$2,9 \pm 0,2$
CSg35 - 1 (50/50)	$6,1 \pm 0,2$	$2,8 \pm 0,2$
CSg35 - 1 (0/100)	$6,5 \pm 0,3$	$2,5 \pm 0,1$

#### 5.4.4. Indar atomikozko mikroskopia

Nanokonpositeen zeharkako gainazalaren karakterizazio morfologikoa, haustura kriogenikoaz lortu dena, AFM bidez burutu da (5.6. Irudia).



5.6. Irudia – CSg35 - 1 (100/0), CSg35 - 1 (50/50) eta CSg35 - 1 (0/100) filmen AFMko altuera irudiak. Karratu zuriak eskuineko irudiaren zonaldea adierazten du.



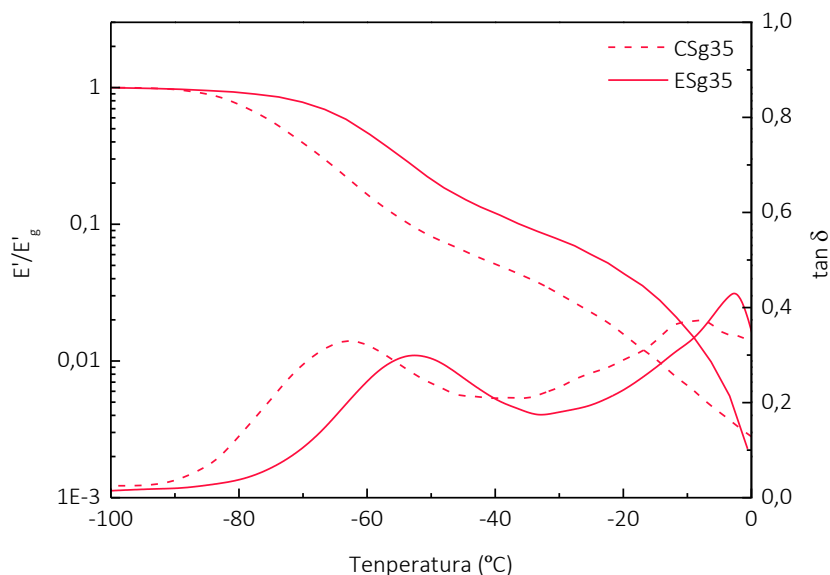
CSg35-1 (100/0) laginaren kasuan, WSNCak nekez definizio baxuko nanopartikulak bezala ikusten dira, euren tamaina txikiaren ondorioz, 4. Kapituluuan zehaztu bezala. Aldiz, handitutako irudian posible da nanoentitateak indibidualki ikustea eta NCk ondo dispersatuta daudela ondoriozta daiteke, orain arte lortutako emaitzekin bat datorrena.

## 5.5. WAXYARTO ALMIDOI NANOKRISTALEN EDUKIAREN ERAGINA TPS FILMEN PROPIETATEETAN

Estruitutako almidoiean (TPS) oinarritutako nanokonpositeak, plastifikatzaile gisa glizeola erabiliz eta WSNC eduki ezberdinak (%1, 2,5 eta 5) gehituz prestatu dira. Nanokonpositeak egonkortasun termikoan, propietate mekaniko eta hesi propietateengan eta morfologiarengan WSCN edukiaren eragina ebaluatuz ezaugarritu dira.

### 5.5.1. Analisi mekaniko dinamikoa

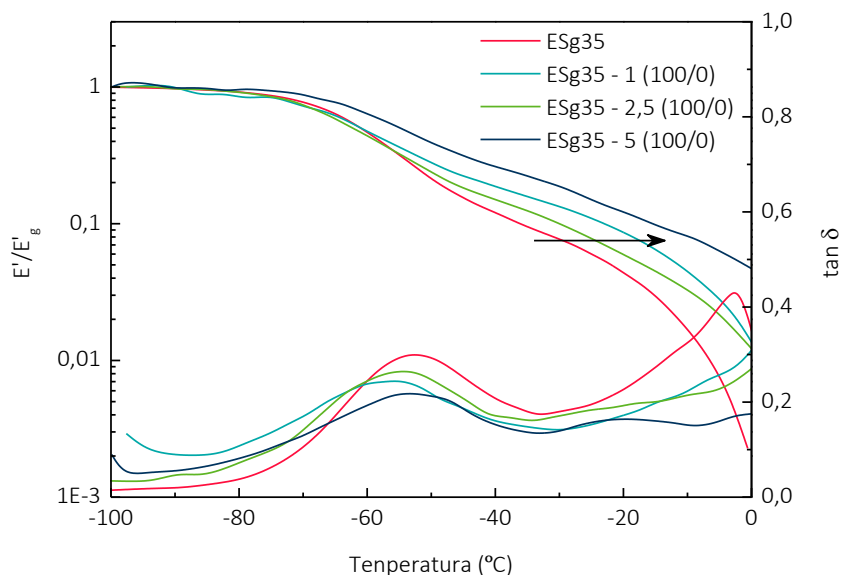
TPS nanokonpositeen portaera biskoelastikoa DMAz aztertu da. Prozesaketa teknikaren eragina aztertzeke asmoz, bi matrizeak batera irudikatu dira (5.7. Irudia).



5.7. Irudia – CSg35 eta ESg35 filmen  $E'/E'_g$  eta  $\tan \delta$ -ren bilakaera temperaturarekin.

Irudian ikus bezala, filmak estrusio/konpresio teknikaz prestatzen direnean, bi faseen erlaxazio tenperaturak balio altuagoetan agertzen dira, batez ere glizerolean aberatsa den fasearekin erlazionatutako trantsizioa. Arrazoa, estrusio eta konpresio prozesuan erabiltzen diren ebakidura indar eta prozesaketa tenperatura altuek sortzen dituzten elkarrekintza sendoagoak izanik.

WSNCz indartutako TPS film guztiekin DMAz lortutako emaitzak 5.8. Irudian erakusten dira. Emaitza adierazgarriena,  $T_{\alpha 2}$  tenperatura altuagoetara desplazatzen dela izan da, batez ere %5 edukian, matrizean WSNCen integrazio egokia eta PLS/WSNC elkarrekintza eraginkorrak errebelatuz. Hortaz, WSNCek almidoian aberatsa den fasearen mugikortasunean eragingo luketela iradoki liteke, WSNC eta amilosa/amilopektina kateen artean nahiko hidrogeno zubi eratzen direla erakutsiz. Hala ere, aipagarria da glizerolean aberatsa den fasearen  $\tan \delta$  pikua intentsitatea txikitu egiten dela WSNC edukia handitzean, batez ere %5 edukiarekin, trantsizioan erlaxatzen diren glizerol molekula kantitatearen gutxitzearen seinale. Naiz eta WSNCk erabiltzen duten argitaratutako lan gutxi dauden, glizerolarekin plastifikatutako TPSan ikusi diren bi erlaxazio nagusien portaera bat dator Angellier eta kideek [17] argitaratutakoarekin.



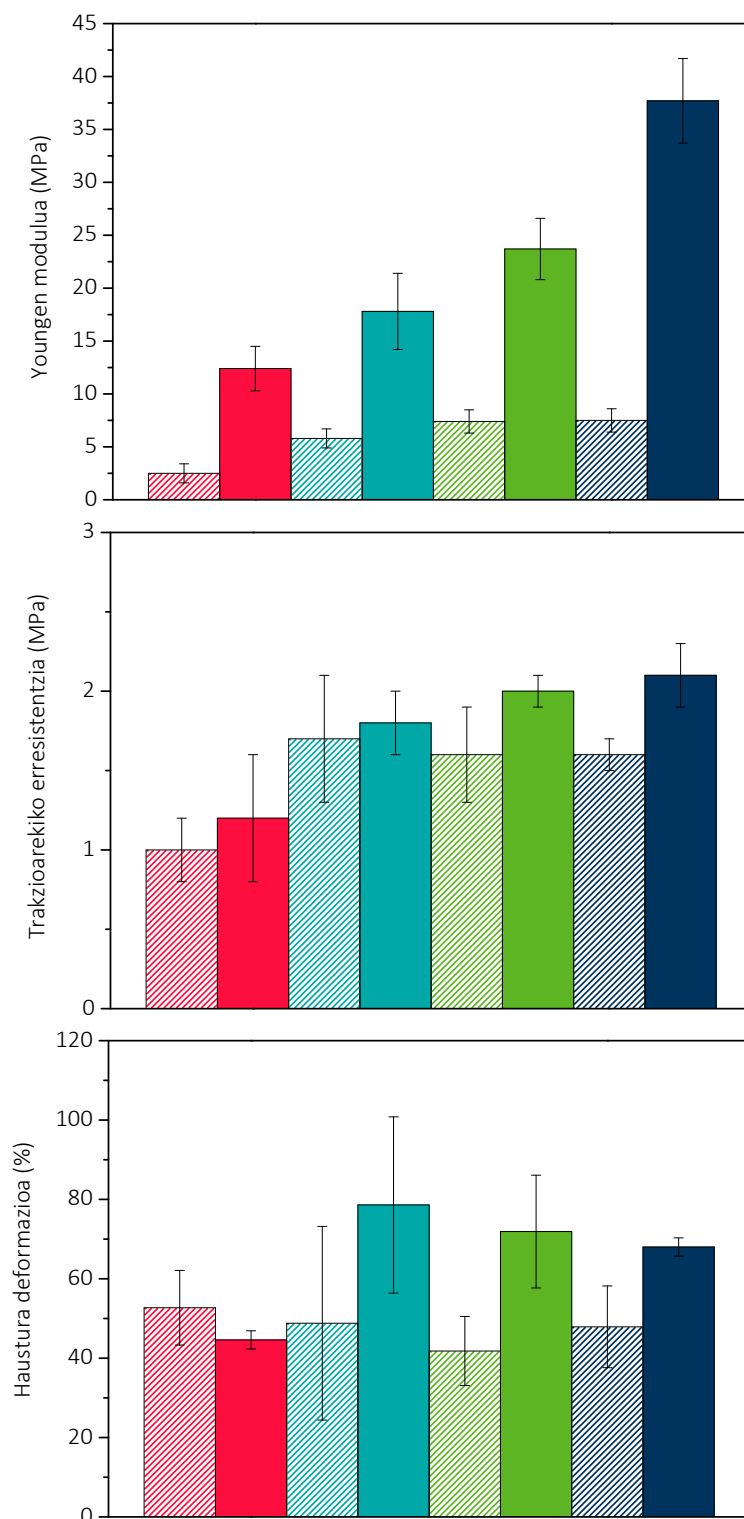
5.8. Irudia – WSNCz indartutako TPS nanokonposite filmen  $E'/E'_g$  eta  $\tan \delta$ -ren bilakaera tenperaturarekin.

### 5.5.2. Propietate mekanikoak

TPS matrizean WSNCen indartze efektua trakzio saiakuntzak burutuz aztertu da (5.9. Irudia).

WSNCz indartutako nanokonpositeen Youngen modula, kasu guztietan, WSNC edukia handitzean handitu egiten da. Gainera, nanokonpositeek TPS matrizea baino haustura deformazio nabarmenki handiagoa erakusten dute. Propietateen hobekuntzak estrusio/konpresio teknika matrize eta nanoerrefortzuen artean integrazio egokia eta afinitate altua lortzeko aproposa dela erakusten dute, beraien egitura kimiko berdina kontuan izanik espero zitekeen bezala, elkarrekintza interfazial sendoak eta tentsio mekanikoen transferentzia efektiboa ematen direla erakutsiz. Aipatzekoa da, %1 WSNC edukian hausturako deformazioa arinki txikitu arren, trakzio erresistentzia handitzen jarraitzen duela. Beraz, %5 WSNC edukiraino hobetze garrantzitsua ematen dela ondoriozta daiteke, izan ere kurbaren azpiko azaleraren handitze garrantzitsua ikusi da, filmen zailtasuna areagotuz.

Aipatu behar da estrusio/konpresio bidez lortutako filmen emaitzak *solvent casting* bidez lortutakoekin konparatuz (5.3.3. Atala), lehenengoarentzat Youngen modulu, trakzio erresistentzia eta deformazio haustura balio handiagoak lortu direla, nanoerrefortzuaren integrazio ona lortu dela adieraziz.



5.9. Irudia – ■ %0 WSNC, ■ %1 WSNC, ■ %2,5 WSNC eta ■ %5 WSNC laginen propietate mekanikoak. *Solvent casting* (marradun patroia) eta estrusio/kompresio (betetako patroia)

### 5.5.3. Hesi propietateak

WSNCekin errefortzatutako nanokonpositeen hesi propietateak WVTR eta OTR neurketen bidez ebaluatu dira. PLS filmentzat ikusi den bezala, WVParen balioa ez da WSNCen adizioaren ondorioz hobetzen. Nanokonposite guztientzat antzeko WVP balioak lortu dira,  $12,5 \times 10^{-13} \text{ kg m m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$  inguruan beti. Honek, WVP bereziki almidoi/ur interakzio sendoen menpe dagoela iradokitzen du. Gainera, *solvent casting* emaitzentzat azaldu den bezala, erabilitako plastifikatzaile eduki handiak hesi propietateetan eragin dezake.

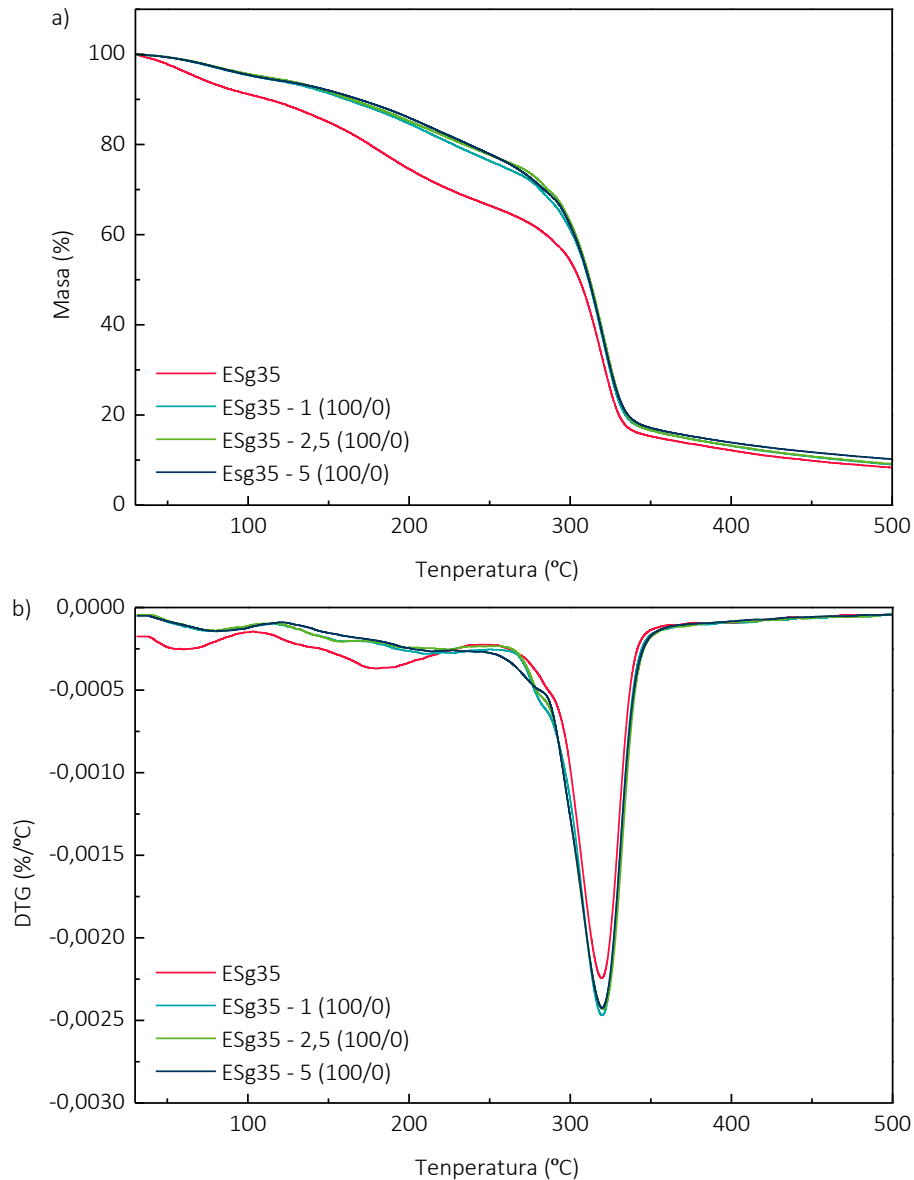
OP emaitzei dagokionez, WSNC edukiaren handitzearekin OP balioaren txikitzea espero da, *platelet-like* itxurako NCek  $\text{O}_2$  molekulentzat bide bihurtuak eratzeko aurrezaten zaien gaitasunagatik, difusibitatea txikituz, beti ere nanoerrefortzuaren dispersio ona eta nanoerrefortzu/matrize interfase egokia lortzen den bitartean. WSNCen edukiaren eragina argiago ikus ahal izateko, TPS filmen OP neurketak, WSNC eduki handienarentzat burutu dira. %5 WSNC duen TPS nanokonpositearen OP balioa %80an txikitu dela ikusi da,  $(10,9 \pm 3,9) \text{ cm}^3 \text{ mm m}^{-2} \text{ egun}^{-1} \text{ atm}^{-1}$ -tik  $(2,0 \pm 0,3) \text{ cm}^3 \text{ mm m}^{-2} \text{ egun}^{-1} \text{ atm}^{-1}$ -tara ESg35 eta ESg35-5 (100/0) laginentzat, hurrenez hurren. Gainera, prozesatze bi metodoen bidez lortutako WVP eta OP emaitzak konparatuz, estrusio eta konpresio bidez lortutako filmak iragazkortasun balio handiagoak aurkezten dituela ikusi da.

### 5.5.4. Analisi termograbitmetrikoa

TPS nanokonpositeen egonkortasun termikoa TGA bidez aztertu da eta lortutako TG eta DTG kurbak 5.10. Irudian aurkezten dira.

Nanokonposite guztien degradazio termikoak glizerolarekin plastifikatutako TPS matrize eta PLS nanokonposite filmen portaera berdina aurkezten du. Estrusio bidez lortutako filmentzat ere sorbalda bat ageri da baina trantsizio nagusiaren tenperaturaren desplazamendua ez da hain nabaria.

Gainera, ESg35 – 2,5 (100/0) eta ESg35 - 5 (100/0) laginentzat ez da hobekuntza areagotzen. Beraz, %1 WSNC baina eduki handiagoak erabili arren, egonkortasun termikoa konstante mantentzen da.



5.10. Irudia – WSNCz errefortzatutako TPS nanokonposte filmen a) TG eta b) DTG kurbak.

## 5.6. POLISAKARIDO NANOKRISTALAK KONBINATZEAREN ERAGINA TPS FILMEN PROPIETATEETAN

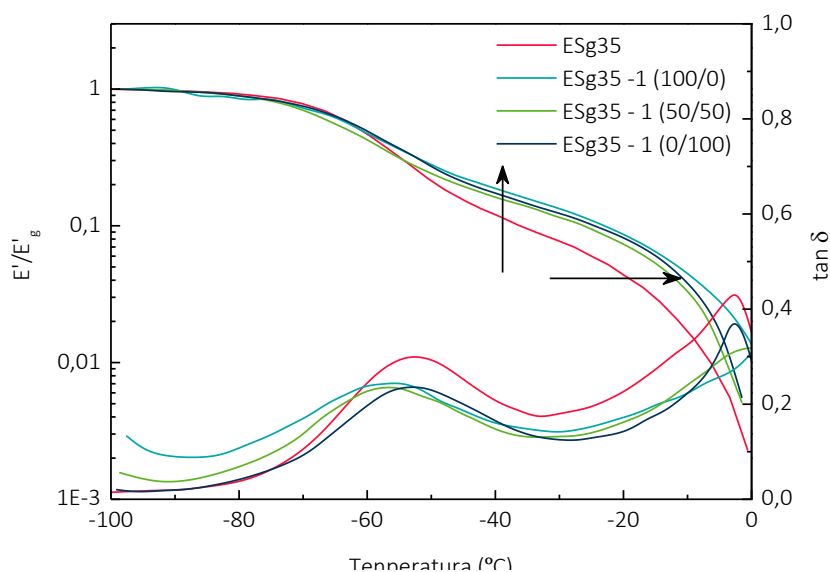
%1eko errefortzuaren eragina aztertu da elkarrekin konbinatutako WSNC eta CNC erlazio desberdinak erabiliz. TPS filmak aurretik azaldutako gelatinizazio-liofilizazio-estrusio-kompresio

metodologia jarraituz prozesatu dira eta lortutako filmak propietate termiko, mekaniko eta hesi propietateen arabera ezaugarritu dira.

### 5.6.1. Analisi mekaniko dinamikoa

Bi NC motak konbinatuz indartutako TPS filmen erantzun biskoelastikoa DMA bidez aztertu da. Tenperaturarekiko  $E'/E'_g$  eta  $\tan \delta$ -k duten garapena 5.11. Irudian aurkezten da.

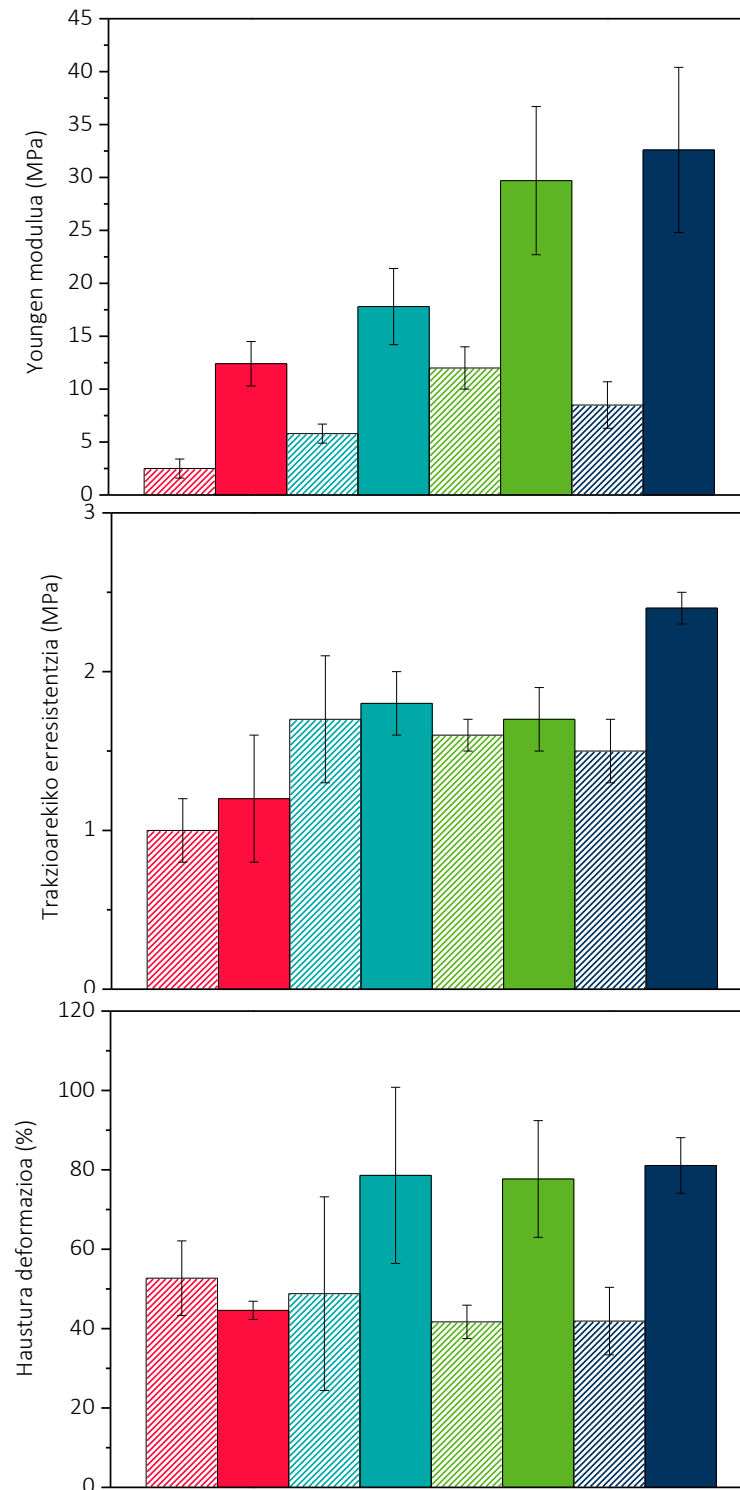
WSNCkin indartutako TPS filmen propietate biskoelastikoetan gertatzen den antzera (5.5.1. Atala), CNCk gehitzerakoan lehenengo trantsizioan zehar erlaxatzen diren glizerol molekulak gutxitzen direla dirudi,  $\tan \delta$  maximoaren intentsitatea arinki txikitzen delarik. NC motaren efektuari dagokionez, CNCkin errefortzatutako nanokonpositeen kasuan  $T_{\alpha 1}$  tenperatura altuagoetara desplazatzen dela ikusi da, aspektu erlazio handiagoko NCek mugikortasuna murriztearen ondorioz. Almidoian aberatsa den fasearen erlaxazioari dagokionez, nahiz eta  $T_{\alpha 2}$  matrize hutsarekiko desplazatzen den, %1 WSNC/CNCekin indartutako lagin guztientzat antzeko balioak lortu dira, nanoerrefortzuaren izaeraren menpe ez dagoela adieraziz.  $E'/E'_g$ -ri dagokionez, nanokonposite guztien kasuan, edozein izanda NC mota, antzeko balioak lortu dira, baina beti ere matrizearena baino balio altuagoak, NC errefortzu efektua berretsiz.



5.11. Irudia – WSNC eta CNC konbinatuz lortutako TPS nanokonposite filmen  $E'/E'_g$  eta  $\tan \delta$ -ren bilakaera tenperaturarekin.

### 5.6.2. Propietate mekanikoak

TPS filmetan WSNC eta CNC elkarrekin erabiltzearen eragina trakzio saiakuntza bidez aztertu da (5.12. Irudia).





5.12. Irudia – ■ %0 WSNC, ■ %1 NC (0/100), ■ %1 NC (50/50) eta ■ %1 NC (0/100) lagingen propietate mekanikoak. *Solvent casting* (marradun patroia) eta estrusio/kompresio (betetako patroia).

TPS matrizean CNCK gehitzen direnean Youngen modulu handiagoak eta erresistentziaren balio onenak lortzen dira. Izan ere, CNCK nanoerrefortzu bezala erabiltzen direnean, Youngen modulua  $17,8 \pm 3,6$  (ESg35 – 1 (100/0)) MPa-tik  $32,6 \pm 7,8$  MPa-ra (ESg35 – 1 (0/100)) handitzen da eta trakzio erresistentzia  $1,8 \pm 0,2$  MPa-tik  $2,4 \pm 0,1$  MPa-ra. 5.12. Irudian erakusten den bezala, %1 CNCKin soilik indartutako filmen balioak %5 WSNC lagingentzat lortutakoen parekoak dira. Efektu hau CNCn kristalinitate maila handiarekin erlaziona daiteke (%80 inguru), WSNCena baino nabarmenki handiagoa dena (%20 inguru) (4.3.1. Atala). Gainera, CNCen aspektu erlazio handia eta geometria fibrilarrak matrizearekin elkarrekintzak eta propietate mekanikoen hobekuntza eraginkorra errazten ditu.

### 5.6.3. Hesi propietateak

WSNC eta CNCK elkarrekin erabilia indartutako TPS nanokonpositeen hesi propietateak grabimetrikoki aztertu dira OTR neurketen bidez. Aurretik eztabaidatu den bezala, polisakarido CNC adizioak ez du WVParen balioa hobetzen, almidoi/ur interakzioen menpekoa baita.

Aldiz, OP propietateetan arreta jarriaz, iragazkortasun balioak TPS matrizean CNC gehikuntzaren ondoren txikitzen direla ikusi da.  $7,1 \pm 0,6$  cm<sup>3</sup> mm m<sup>-2</sup> egun<sup>-1</sup> atm<sup>-1</sup>-ko OP balioak neurtu dira ESg35 – 1 (0/100) lagingentzat. Hala ere, aurreikusi zen bezala, WSNCek duten *platelet-like* itxurako morfologia dela eta, eraginkortasun handiagoa erakusten dute OP balioak txikitzeko. Izan ere, azpimarratu behar da %1 WSNC gehitzean, OP balioa  $4,4 \pm 1,0$  cm<sup>3</sup> mm m<sup>-2</sup> egun<sup>-1</sup> atm<sup>-1</sup>-raino txikitzen dela, nanoerrefortzuaren morfologiaren garrantziaren adierazle izanik. Bestalde, *solvent casting* bidez lortutako lagingentzat OP balio txikiagoak lortu direla aipagarria da, bereziki %1 CNC duten PLS filmen kasuan.

## 5.7. ONDORIOAK

Almidoian oinarritutako filmak WSNC pisu eduki desberdinak gehituz eta WSNC eta CNCK elkarrekin konbinatuz prestatutako PLS eta TPS nanokonposite filmak modu egokian lortu dira, *Solvent casting* eta estrusio/konpresio teknikak erabiliz.

*Solvent casting* bidez lortutako nanokonpositeei dagokienez, NCen gehikuntzak lagin guztien egonkortasun termikoa handitzen duela ikusi da. WSNCekin indartutako nanokonpositeen propietate mekanikoak matrizearenak baino nabarmenki handiagoak dira. Hala ere, CNCK gehituz propietate mekanikoak nabarmenki hobetzen direla baieztatu da, CNCn indartze gaitasun altuagoa dela eta. Hesi propietateei dagokienez, antzeko WVP balioak lortu dira nanokonposite guztientzat, WVP propietateetan almidoi/plastifikatzaile/ur elkarrekintzen eragina nanoerrefortzu mota eta edukiarena baino handiagoa dela frogatuz. Hala ere, OP balioak WSNC eta CNCK gehitzean txikitzen dira, NCen morfologiarekiko menpekotasuna erakutsiz. DMAren emaitzek WSNC adizioaren ondorioz, matrize eta nanoerrefortzuaren arteko interakzio sendoak lortzen direla erakusten dute, propietate mekanikoen hobekuntzarekin bat etorritik.

Era berean, nanokonpositeak estrusio/konpresio bidez lortzen direnean, propietate mekanikoak nabarmenki hobetzen dira NCK gehitzearen ondorioz, bereziki kristalinitate maila handiko eta morfologia fibrilarreko CNCK erabiltzean, eduki txikietan bada ere. DMAren emaitzek estrusio/konpresio bidez lortutako filmetan NCn eragina almidoian aberatsa den fasean nabarmenagoa dela erakusten dute, bereziki WSNC eduki handientzat. Orokorrean, PLS filmek hesi propietate hobeak erakusten dituztela ondoriozta daiteke, TPS filmek portaera mekaniko hobeak duten bitartean.

## 5.8. ERREFERENTZIAK

- [1] N.L. Garcia, L. Ribba, A. Dufresne, M.I. Aranguren, S. Goyanes, Physico-Mechanical properties of biodegradable starch nanocomposites, *Macromol. Mater. Eng.* 294 (2009) 169–

177. doi:10.1002/mame.200800271.
- [2] M.A. Bertuzzi, M. Armada, J.C. Gottifredi, Physicochemical characterization of starch based films, *J. Food Eng.* 82 (2007) 17–25. doi:10.1016/j.jfoodeng.2006.12.016.
- [3] A.P. Mathew, A. Dufresne, Plasticized waxy maize starch: Effect of polyols and relative humidity on material properties, *Biomacromolecules* 3 (2002) 1101–1108.
- [4] A. Cano, A. Jiménez, M. Cháfer, C. González, A. Chiralt, Effect of amylose:amylopectin ratio and rice bran addition on starch films properties, *Carbohydr. Polym.* 111 (2014) 543–555. doi:10.1016/j.carbpol.2014.04.075.
- [5] R.P. Herrera Brandelero, F. Yamashita, M.V. Eiras Grossmann, The effect of surfactant Tween 80 on the hydrophilicity, water vapor permeation, and the mechanical properties of cassava starch and poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) blend films, *Carbohydr. Polym.* 82 (2010) 1102–1109. doi:10.1016/j.carbpol.2010.06.034.
- [6] D. Le Corre, A. Dufresne, Starch nanoparticles: A review, *Biomacromolecules* 11 (2010) 1139–1153. doi:10.1021/bm901428y.
- [7] M.A. Bertuzzi, E.F. Castro Vidaurre, M. Armada, J.C. Gottifredi, Water vapor permeability of edible starch based films, *J. Food Eng.* 80 (2007) 972–978. doi:10.1016/j.jfoodeng.2006.07.016.
- [8] P. Forssell, R. Lahtinen, M. Lahelin, P. Myllärinen, Oxygen permeability of amylose and amylopectin films, *Carbohydr. Polym.* 47 (2012) 125–129.
- [9] N.L. García, L. Ribba, A. Dufresne, M. Aranguren, S. Goyanes, Effect of glycerol on the morphology of nanocomposites made from thermoplastic starch and starch nanocrystals, *Carbohydr. Polym.* 84 (2011) 203–210. doi:10.1016/j.carbpol.2010.11.024.
- [10] N. Lin, J. Huang, A. Dufresne, Preparation, properties and applications of polysaccharide nanocrystals in advanced functional nanomaterials: a review, *Nanoscale* 4 (2012) 3274–3294. doi:10.1039/c2nr30260h.
- [11] J. Huang, P.R. Chang, A. Dufresne, Polysaccharide nanocrystals: Current status and prospects, chapter from *Polysaccharide-Based Nanocrystals: Chemistry and Applications* (2015) 1–14.
- [12] B. Montero, M. Rico, S. Rodríguez-Llamazares, L. Barral, R. Bouza, Effect of nanocellulose as a filler on biodegradable thermoplastic starch films from tuber, cereal and legume, *Carbohydr. Polym.* 157 (2017) 1094–1104. doi:10.1016/j.carbpol.2016.10.073.
- [13] V.K. Shivaraju, S. Vallayil Appukuttan, S. Kumar, The influence of bound water on the FTIR characteristics of starch and starch nanocrystals obtained from elected natural sources, *Starch/Staerke*. 1700026 (2018) 1–9. doi:10.1002/star.201700026.
- [14] T. V. Duncan, Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors, *J. Colloid Interface Sci.* 363 (2011) 1–24. doi:10.1016/j.jcis.2011.07.017.
- [15] W.P. Flauzino Neto, H.A. Silvério, N.O. Dantas, D. Pasquini, Extraction and characterization of cellulose nanocrystals from agro-industrial residue - Soy hulls, *Ind. Crops Prod.* 42 (2013)

- 480–488. doi:10.1016/j.indcrop.2012.06.041.
- [16] Y. Wang, H. Tian, L. Zhang, Role of starch nanocrystals and cellulose whiskers in synergistic reinforcement of waterborne polyurethane, *Carbohydr. Polym.* 80 (2010) 665–671. doi:10.1016/j.carbpol.2009.10.043.
- [17] H. Angellier, L. Choisnard, S. Molina-Boisseau, P. Ozil, A. Dufresne, Optimization of the preparation of aqueous suspensions of waxy maize starch nanocrystals using a response surface methodology, *Biomacromolecules* 5 (2004) 1545–51. doi:10.1021/bm049914u.



## **6. KAPITULUA:**

**ALMIDOI ETA KARBONODUN  
NANOPARTIKULETAN  
OINARRITUTAKO  
NANOKONPOSITE FILMAK**



## **6. ALMIDOI ETA KARBONODUN NANOPARTIKULETAN OINARRITUTAKO NANOKONPOSITE FILMAK**

### **6.1. HELBURUA**

Kapitulu honen helburua glizerolaz plastifikatutako eta karbonodun nanopartikulekin errefortzatutako PLS nanokomposite filmen garapena izan da, hain zuzen grafeno (G) eta grafeno oxidoa (GO) erabilia. Alde batetik, G eduki desberdinak PLS matrizean gehitzearen eragina aztertu da. G nanoxafren egonkortasuna gelatinizazio inguru urtsuan hobetzeko asmoz, *Salvia* estraktuak surfaktante natural gisa gehitu dira.

Bestalde, GO nanoerrefortzu bezala gehitu da PLS nanokompositeak lortzeko. Hortaz, GO edukia handitzeak PLS nanokompositeen amaierako portaeran duen eragina ebaluatu da. Gainera, lortutako nanokompositeak azido askorbikorekin tratatu dira propietate elektrikoak hobetzeko asmoz.

Lortutako PLS nanokomposite guztiak egitura kimiko eta kristalino, propietate optiko eta gainazal propietate, egonkortasun termiko eta portaera mekanikoaren arabera ezaugarritu dira. Gainera, eroankortasun elektrikoa ebaluatu da.

### **6.2. ALMIDOI/KARBONODUN NANOPARTIKULA NANOKONPOSITE FILMEN LORPENA**

#### **6.3. *Salvia* estraktuen lorpena**

*Salvia* estraktuen lorpena infusio metodoaren bidez burutu da Santamaria-Echart eta kideek [1] deskribatutako protokoloa jarraituz. Laburki, 20 g *Salvia officinalis* L. 80 mL ur distilatutan irakiten dira 5 minutuz. Ondoren, lortutako suspentsioa iragazi eta liofilizatzen da.



### 6.3.1. PLS eta karbonodun nanopartikuletan oinarritutako nanokonpositeen lorpena

Karbonodun nanopartikulak dituzten nanokonpositeak *solvent casting* teknika bidez prestatu dira, 3.2.1. Atalean definitutako prozedura jarraituz zenbait aldaketekin. 3,58 g arto almidoi normal, 35 g ur destilatu eta 1,93 g glizerolarekin nahastu egin dira. Gainera, aurretik dispersatutako karbonodun nanopartikulen beharrezko kopurua gehitu eta nahaste guztia 90 °C-tan etengabeko agitazio magnetikoaz mantendu egin da likatasuna handitu arte (30 minutu inguru). Lortutako gel likatsua disperstio sistema baten (POLYTRONV R PT 2500 E) laguntzaz homogeneizatu egin da 3 minutuz eta 15000 rpm-tan. Azkenik materiala Petri plaketan sakabanatu eta labe batean lehortzen da 45 °C-tan eta 3,5 orduz.

G eta GO ultrasonikazio bidez dispersatu dira, 5 mg karbonodun nanopartikula mL<sup>-1</sup> ur destilatu kontzentrazioa erabiliz. G nanoxaflen dispersiorako 2,5 mg *Salvia* estraktu mL<sup>-1</sup> ur destilatuko ere gehitu dira egonkortzaile gisa.

Laginak CSg35 gehi karbonodun nanopartikulen edukia bezala izendatu dira, GE edo GO adieraziz G eta estraktuak edo GO erabiltzerakoan (CSg35 - pisu % GE edo CSg35 - pisu % GO)

Kasu guztietan, %35 pisu plastifikatzaile edukia erabili da, almidoi eta plastifikatzailearen pisuarekiko alegia. Nanoerrefortzu eta *Salvia* edukiak ere, almidoi eta glizerolaren pisu totalarekiko adierazita daude. Lortutako filmak bi astez % 43-ko HEan gorde egiten dira karakterizazioa burutu aurretik.

### 6.3.2. Grafeno oxidoaren erredukzioa

Erreduzitutako grafeno oxidoa (rGO) azido askorbikoa erredukzio agente bezala erabilita lortu da. Horrela, GO duten nanokonpositeak (6.2.2. Atalean lortutakoak) azido askorbiko ur disoluzio batean (30 g azido askorbiko L<sup>-1</sup> ur destilatu) murgildu dira 95 °C-tan eta 2 orduz. Ondoren, azido

askorbiko soberakina kentzeko, filma hainbat aldiz ur destilatuarekin garbitu da. Azkenik, filmak giro tenperaturan eta 24 orduz lehortu dira. Laginak CSg35 eta rGO edukia adieraziz izendatu dira (CSg35 - pisu % rGO).

Lortutako film guztiak bi astez % 43-ko HEan gorde dira K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> disoluzio ase batekin ezarrita karakterizazioa burutu aurretik.

#### **6.4. GRAFENO EDUKIAREN ERAGINA PLS NANOKONPOSITE FILMEN PROPIETATEETAN**

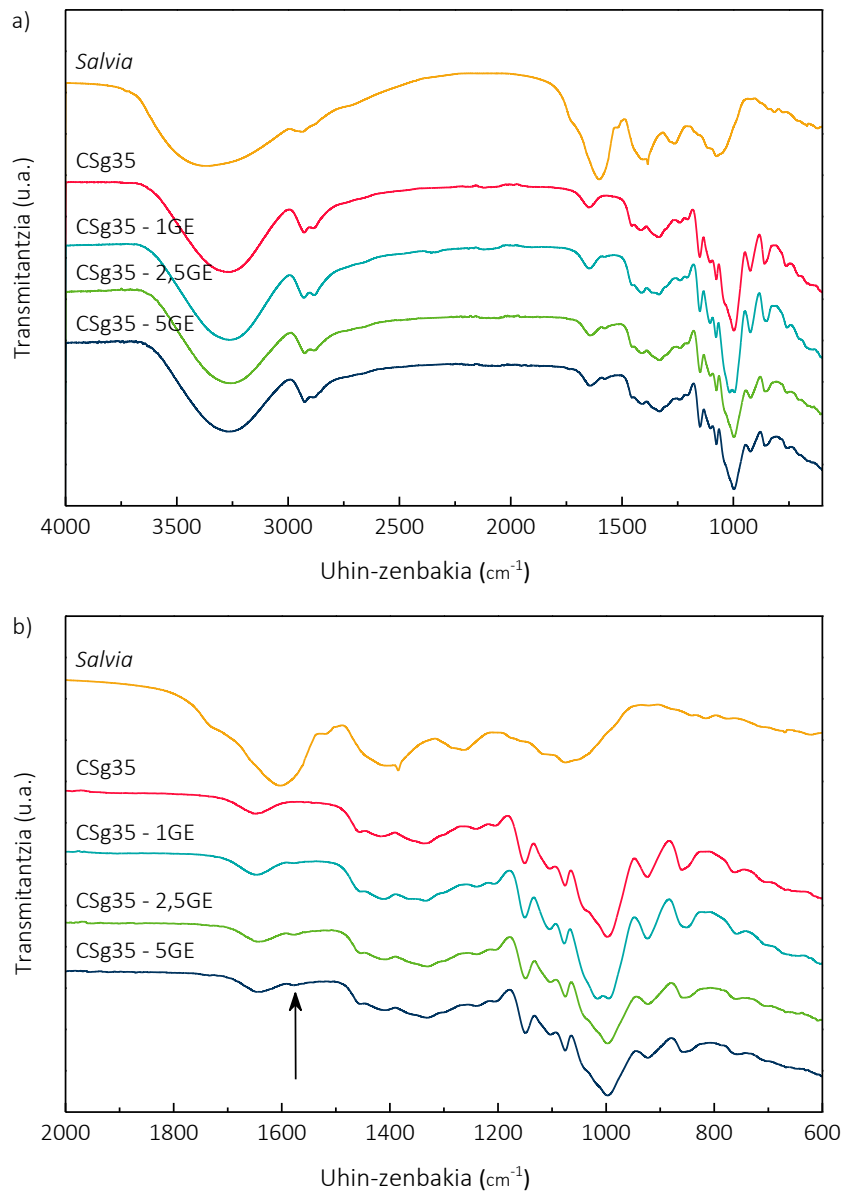
PLS nanokonposite filmak G nanoxaflek almidoian oinarritutako eta glizerolarekin gelatinizatutako matrizeari gehituta lortu dira. Gren dispertsagarritasuna uretan hobetzeko, *Salvia* estraktu naturalak erabili dira dispertsio egonkortzaile gisa, talde polifenoliko eduki handia baitute. Materialen amaierako propietateak G eta estraktuen edukien menpekoak izango direla aurreikusten da. Beraz, nanokonpositeak G eta *Salvia* eduki desberdinak erabiliz prestatu dira (%1, 2,5 and 5).

##### **6.4.1. Fourier transformatudun espektroskopia infragorria**

FTIR neurketak PLS filmen eta lortutako G nanoxaflez errefortzatutako nanokonpositeen egitura kimikoa aztertzeko burutu dira. *Salvia* estraktu, PLS film eta prestatutako nanokonpositeentzat lortutako FTIR espektroak 6.1. Irudian aurkezten dira.

PLS matrizearen espektroan ikusten den bezala, hidrogeno zubietan parte hartzen duten OH taldeen luzapen banda 3280 cm<sup>-1</sup> uhin zenbakian azaltzen da, OH loturaren tolestea aldiz 1650 cm<sup>-1</sup>-tan agertzen delarik [2,3]. Metileno (CH<sub>2</sub>) taldeekin erlazionatutako C-H loturaren luzapen bibrazioaren banda 2927 cm<sup>-1</sup>-tan agertzen da [2,3]. Horrez gain, almidoiaren aztarna zonaldean hurrengo pikoak ageri dira: C-O-H taldeen C-O loturen luzapen bibrazio bandak 1150 cm<sup>-1</sup>-tan eta C-O-C taldeen C-O loturen luzapen bibrazio bandak 1077 cm<sup>-1</sup> eta 997 cm<sup>-1</sup>-tan [4].

Nanokonposite filmei dagokienez, desberdintasun txikiak soilik antzeman dira. Ikus daitekeen modura, G eta *Salvia* estraktuen gehipenak OH loturaren tolestarekin erlazionatutako bandaren zabaltzea dakar, uhin-zenbaki baxuagoetara desplazatzearekin bat. Efektu hau izaera hidrofilikoa duten *Salvia* estraktuen kontribuzioarekin lotuta egon daiteke, *Salvia* ere hezetasunari atxikitako OH toleste bibrazioaren intentsitate handiko banda aurkezten baitu. Gainera, *Salvia*ren talde fenolikoan lotura bikoitza (C=C) [5] eta G eratzunaren egitura aromatikoarekin erlazionatutako [6] piko txiki bat ere ikusgai da  $1575\text{ cm}^{-1}$ -tan.

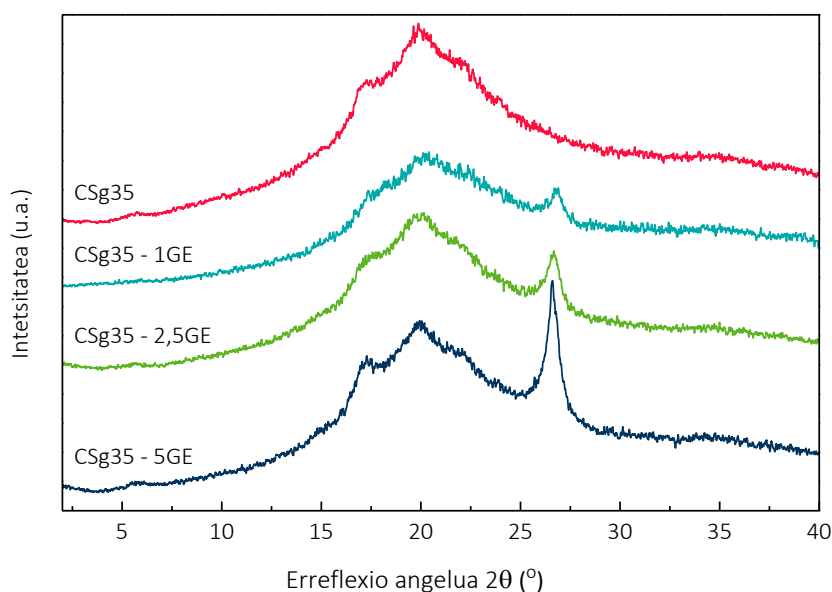


6.1. Irudia – *Sabia* estraktuen eta Gz errefortzatutako PLS nanokonpositen FTIR espektroak a) 4000 – 600  $\text{cm}^{-1}$  tartean eta b) 2000 – 600  $\text{cm}^{-1}$  tarteko magnifikazioa.

### 6.4.2. X-izpien difrakzioa

XRD neurketak nanokonpositeen egitura kristalinoa aztertzeko burutu dira. 6.2. Irudian PLS matrize eta G nanoxaflekin lortutako nanokonpositeen XRD difraktogramak azaltzen dira.

Ikus daitekeen bezala, berezko arto almidoi normalaren A-motako polimorfismoarekin erlazionatutako pikoak,  $2\theta = 19,8^\circ$  inguru agertzen den piko zabal batez ordezkutzen da PLS matrize amorfoaren kasuan. Nanokonposite guztiek aldiz, Grekin erlazionatutako piko berri bat aurkezten dute  $2\theta = 26,5^\circ$ -tan, hain zuzen grafito puruaren egitura hexagonalaren (002) planoari atxikitakoa. Aurreikusten zen bezala aipatutako piko berriaren intentsitatea G edukiarekin handitzen da, gelatinizazio eta lehorteze prozedurek Gren egitura kristalinoan eraginik ez dutela adieraziz.

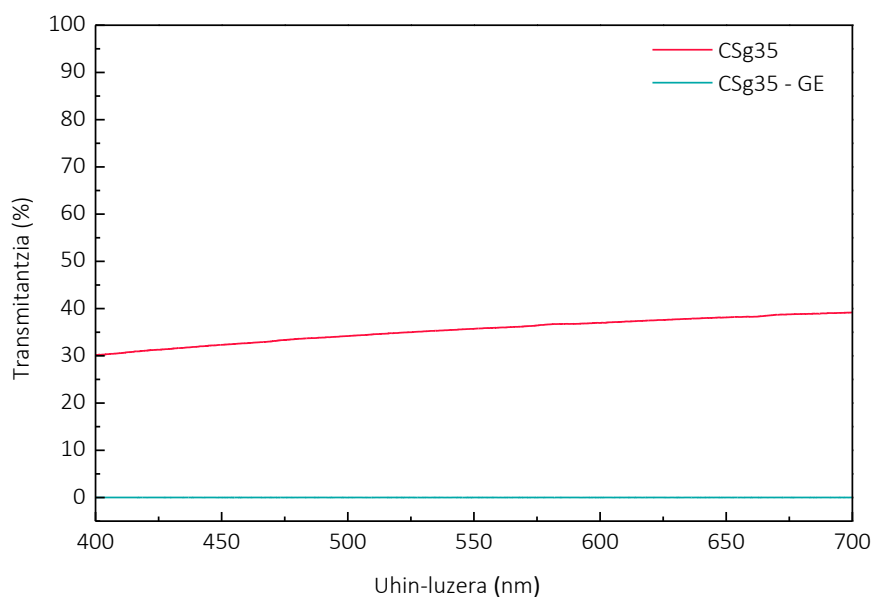


6.2. Irudia – Gz errefortzatutako PLS nanokonpositen XRD difraktogramak.

### 6.4.3. Propietate optikoak

Prestatutako nanokonpositeen propietate optikoak argi transmitantzia eta gainazal kolorearen arabera aztertu dira, zeinak paketatze aplikazioetan eta kontsumitzaileen onarpenean faktore erabakigarriak diren [7–9]. Lagin bakoitzaren transmitantzia balioak UV-vis espektroskopia bidez espektro ikuskorren tartean (400 - 700 nm) neurtu dira, kolorea aldiz espektrofotometro bat erabilia aztertu da. Emaitzak 6.3. Irudian eta 6.1. Taulan azaltzen dira.

Emaitzek frogatzen duten bezala, Gren adizioak materialaren gardentasunaren bat-bateko txikitzea dakar. PLS matrize hutsak %36,9ko transmitantzia balioa aurkezten du espektro ikusgai tartean eta soilik %1eko G gehitzearekin transmitantzia balioa %0raino txikitzen da, guztiz opakoak diren filmak lortuz. CSg35 – 1GE laginaren kurba erakusten da soilik, gainontzeko laginen kurbak gainjartzen baitira.



6.3. Irudia – CSg35 eta CSg35 – 1GE PLS filmen UV-vis transmitantzia neurketak.

Filmaren kolorea CIELABen kolore parametroen ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) arabera ebaluatu da. Horrez gain, kolore diferentzia parametroa ( $\Delta E$ ) 2.3. Ekuazioaren arabera kalkulatu da. Ikus daitekeen modura, argitasuna ( $L^*$ ) nanokonposite guztientzat nabarmenki murrizten da matrize hutsarekin alderatuz,

nanopartikula ilunak sartzearen ondorioz. Gainera, parametro kromatikoek ere ( $a^*$  and  $b^*$ ) G nanoxaflen gehikuntzaren eragina jasaten dute: %1 G gehituz gero,  $a^*$  handitzen bada ere, aldiz G eduki handietarako hau txikitzen da eta  $b^*$ , ordea, G edukiarekin bat negatiboagoa bihurtzen da. Horrela, Gren edukia areagotuz gero filmak berdexkagoak eta urdinxkagoak bihurtzen dira, hurrenez hurren. Aurreikusitako modura, nanokonposite guztiek  $\Delta E$  balio nabarmenki handiagoak ( $\Delta E \approx 70$  inguru) aurkezten dituzte matrize hutsarekin alderatuz ( $\Delta E = 23,72$ ).

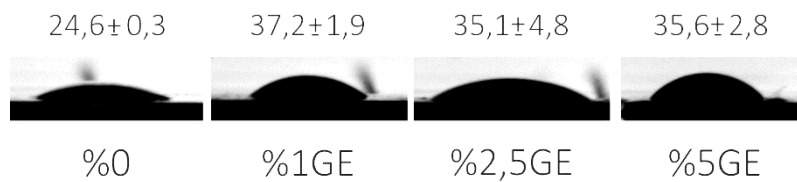
6.1. Taula – Gz errefortzatutako PLS nanokonpositeen transmitantzia balioak eta kolore parametroak.

Lagina	Transmitantzia (%)	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$\Delta E$
<b>CSg35</b>	36,9	$69,24 \pm 0,50$	$-1,40 \pm 0,04$	$3,00 \pm 0,04$	$23,72 \pm 0,50$
<b>CSg35 - 1GE</b>	0,0	$18,17 \pm 0,15$	$-0,06 \pm 0,01$	$-0,53 \pm 0,01$	$74,67 \pm 0,15$
<b>CSg35 - 2,5GE</b>	0,0	$20,60 \pm 0,76$	$-0,30 \pm 0,01$	$-1,32 \pm 0,01$	$72,24 \pm 0,76$
<b>CSg35 - 5GE</b>	0,0	$23,08 \pm 0,14$	$-0,35 \pm 0,03$	$-1,54 \pm 0,16$	$69,77 \pm 0,14$

#### 6.4.4. Gainazal propietateak

Kontaktu angelu neurketak nanokonposite filmen gainazal azalera eta hidrofobotasuna karakterizatzeko burutu dira. 6.4. Irudian PLS filmen eta G eta estraktuak dituzten nanokonpositeen kontaktu angelu balioak agertzen dira.

6.4. Irudian ikus daitekeen modura, PLS matrize hutsak kontaktu angelu balio baxua ( $24,6^\circ$ ) aurkezten du almidoiaren izaera hidrofiloa dela eta [10]. Hala ere, %1 G gehituz gero kontaktu angelua  $37,2^\circ$  arte handitzen da. G eduki handiagoak erabiltzerakoan kontaktu angelu balioen beherakada txikia dakar. Gk bere izaera hidrofoboa dela eta (FTIR bidez frogatutakoa), materialaren bustikortasuna murriztu zezakeela aurreikusten zen arren, G nanoxaflak almidoi matrizean dispersatu eta egonkortzeko erabili diren *Salvia* estraktuetan ageri diren hidroxilo taldeek Gren eragina murrizten dute.

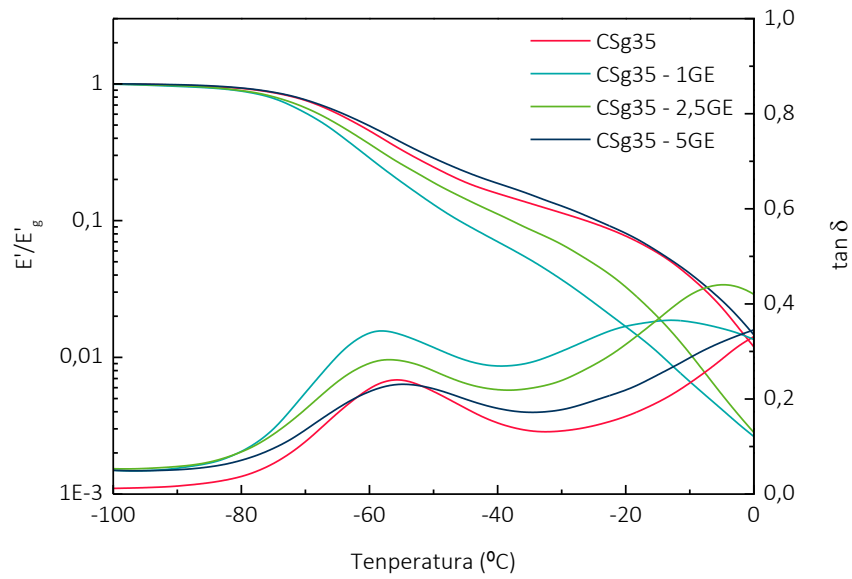


6.4. Irudia – Gz errefortzatutako PLS nanokonposite filmen kontaktu angelu neurketak.

#### 6.4.5. Analisi mekaniko dinamikoa

Gz errefortzatutako PLS nanokonpositeen portaera biskoelastikoa DMA saiakuntzen bidez aztertu da. Tenperaturarekiko  $E'/E'_g$  eta  $\tan \delta$ -k duten garapena 6.5. Irudian aurkezten dira.

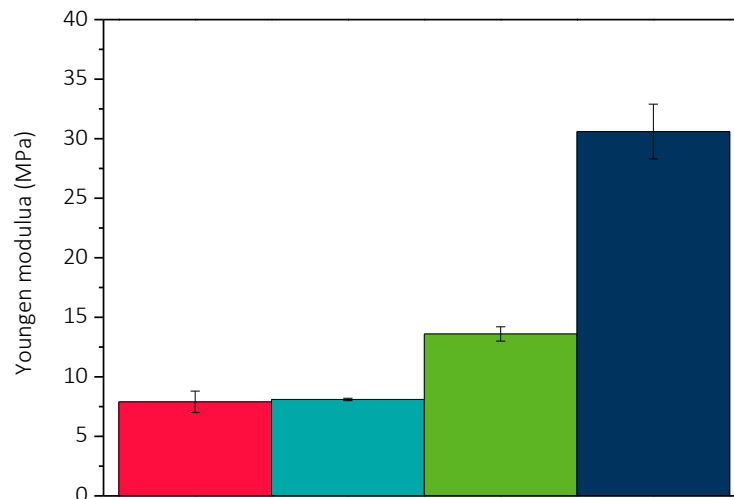
Ikus daitekeen modura, nanokonposite guztiek matrize hutsaren portaera biskoelastiko berdina aurkezten dute.  $T_{\alpha 1}$  trantsizioaren kasuan, trantsizio tenperaturak ez du G eta *Salvia* estraktuen eragina jasaten eta ia konstante mantentzen da G eduki guztientzat. Halaber,  $T_{\alpha 2}$  tenperatura G eta *Salvia* estraktuen edukieraren menpekkoa dela ikusi da. CSg35 – 1GE laginarentzat  $T_{\alpha 2}$  balio txikiagoak lortu dira, aldiz balioa CSg35 – 5GE laginarentzat handitzen da. Honek G eta *Salvia* estraktuek almidoian aberatsa den fasearen erlaxazioan eragiten dutela iradokitzen du, *Salvia*ren plastifikazio eragina G eduki txikietan nabarmenagoa delarik. Hala ere, G edukia handitzean Gren errefortzu efektua plastifikazioarena baino garrantzitsuagoa bihurtzen da eta ondorioz,  $T_{\alpha 2}$  balioa handitzen da. Horrez gain, G nanoxaflak eta *Salvia* estraktuen gehipenak  $E'/E'_g$ -ren txikitzea dakar eduki txikientzat, baina G edukia handitzen doan heinean handitzen da errefortzu agente gisa jokatuz.



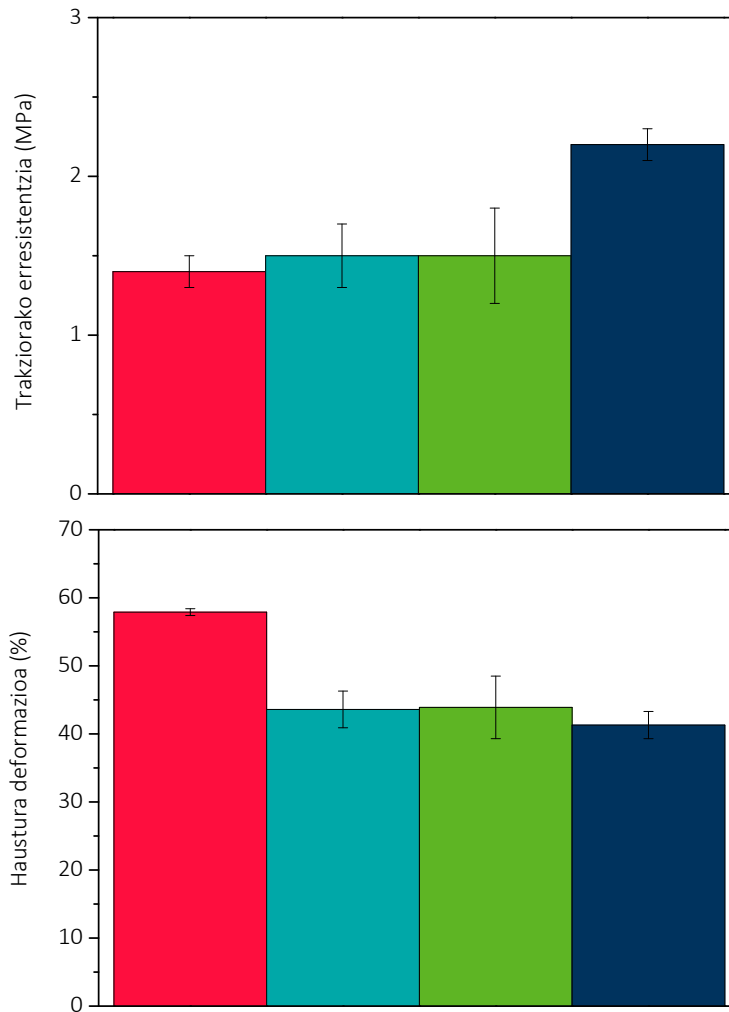
3.5. Irudia – Gz errefortzatutako nanokonposite filmen  $E'/E'_g$  eta  $\tan \delta$ -ren bilakaera temperaturarekin.

#### 6.4.6. Propietate mekanikoak

Gdun nanokonpositeen portaera mekanikoa trakzio saiakuntzen bidez aztertu da (6.6. Irudia).





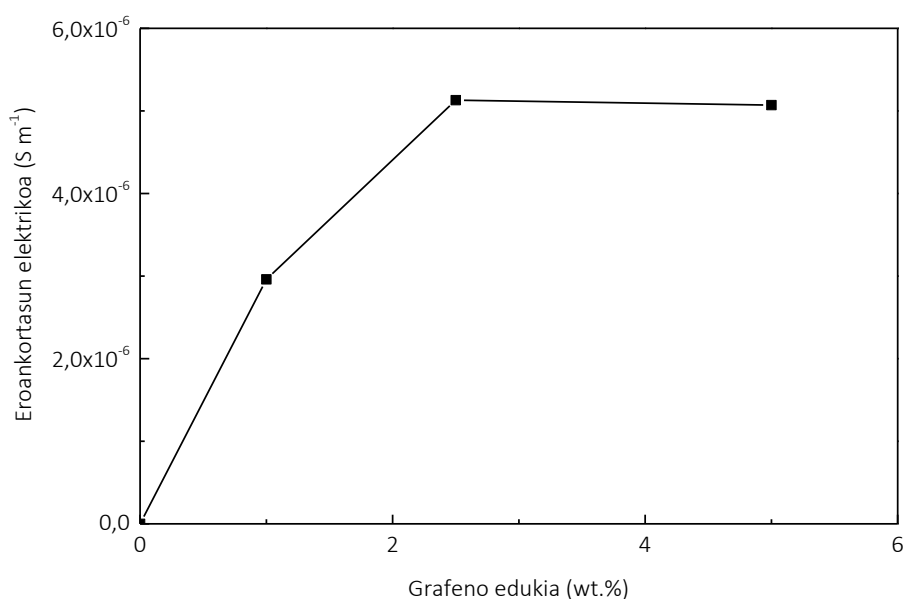


6.6. Irudia – ■ CSg35, ■ CSg35 - 1GE, ■ CSg35 - 2.5GE etad ■ CSg35 - 5GE laginen propietate mekanikoak.

G nanoxaflen gehikuntzak Youngen moduluaren handitzea dakar. %1 eta 2,5 edukietarako arinki handitzen da baina %5 G gehitzean oso nabarmenki handitzen da, 30,6 MPa-ko balioak lortuz. Erresistentziari dagokionez, antzeko joera ikusi da, handitze nabarmena lortuz CSg35 – 5GE laginarentzat. Hala ere, kontutan izan behar da antzeko deformazio balioak lortu direla nanokonposite guztientzat. Deformazioa %1ko edukiarentzat txikitu egiten da, baina nanoerrefortzu eduki handiagoetarako deformazioa konstante mantentzen da. Horrela, G edukia handituz materialaren zurruntasuna eta erresistentzia hobetzen direla ondoriozta daiteke, malgutasuna ia txikitzen ez den bitartean. Emaitza hauek *Salvia* plastifikatzaile gisa eta G errefortzu agente bezala jokatzeko dutela iradokitzen dute, bi efektuak orekatuak daudelarik.

### 6.4.7. Propietate elektrikoak

Elektrikoki eroaleak diren nanokonposite filmak nanopartikula eroaleak almidoiari gehituta garatu daitezkeenaren hipotesia proposatu zen. Horrela, Grekin prestatutako PLS nanokonpositeen erantzun elektriko eroankortasun elektriko neurketak burutuz aztertu da, 2 puntutako teknika erabiliz eta saiakuntzak 0tik 5 V-tara burutuz. Emaitzak 6.7. Irudian aurkezten dira.



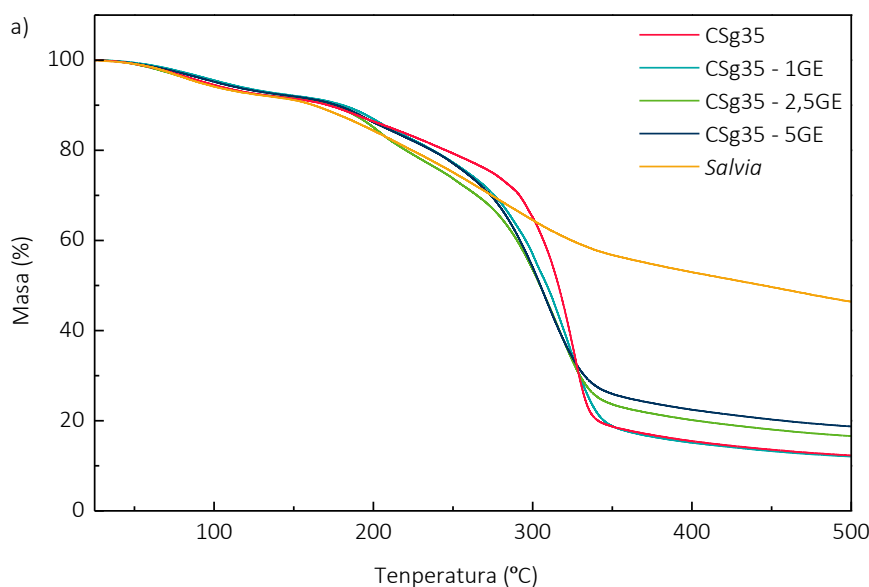
6.7. Irudia – Gz errefortzatutako nanokonposite filmen eroankortasun elektriko G edukiarekiko.

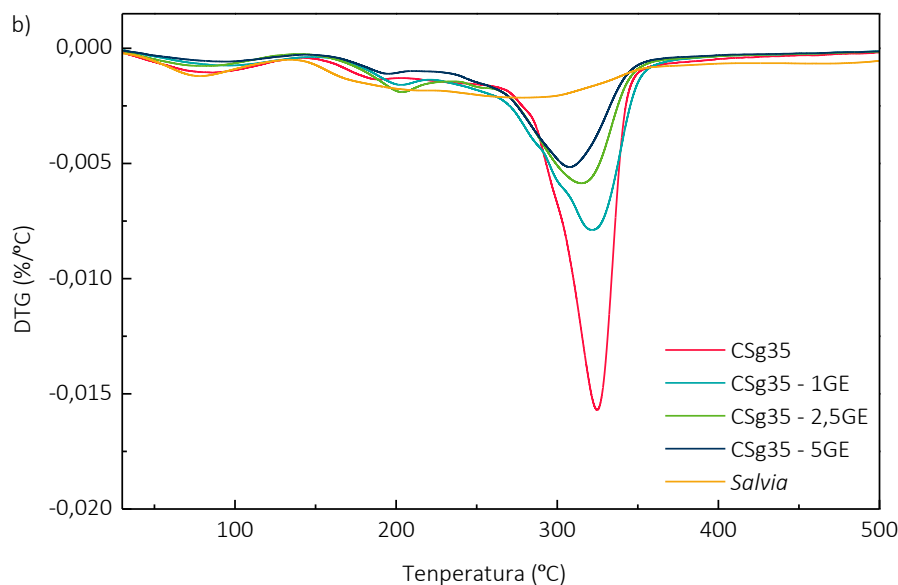
Ikus daitekeen modura, nanokonpositeen eroankortasun elektriko G edukiarekin handitzen da, elektrikoki eroalea ez den PLS matrizearekin alderatuz. Hala ere, kontutan izan behar da lortutako eroankortasun balioak ez direla desiratzen ziren bezain handiak. Lortutako hobekuntza txikia TEM bidez ikusitako *Salvia* estraktuen presentziarekin erlazioa daiteke (4.4.4. Atala), zeina PLS filmean sare eroale eraginkor bat eratzea eragotzi dezakeen.

### 6.4.8. Analisi termogravimetrikoa

G nanoxafla eta *Salvia* estraktuak dituzten nanokonpositeen degradazio termikoa TGA neurketen bidez aztertu da. TG eta DTG kurbak 6.8. Irudian aurkezten dira.

Termogrametan ageri den modura, G nanoerrefortzu eta *Salvia* estraktuak egonkortzaile bezala gehitzean zenbait desberdintasun nabarmen lortzen dira. Alde batetik, Gren izaera hidrofobikoa dela eta xurgatutako urarekin erlazionaturiko masa galera txikitu egiten da eta bestetik normalean glizerolean aberatsa den fasearekin lotzen den degradazioaren masa galera aldatu egiten da eta *Salvia* estraktuen degradazioaren ekarpena nabaria da tarte horretan. Gainera, degradazio nagusiaren temperatura txikitu egiten da 324 °C-tik (matrize hutsa) 308 °C-taraino (ESg35 – 5GE) jaitsiz, egonkortasun termiko txikiagoa duten eta almidoian aberatsa den fasean kokatzen diren *Salvia* estraktuen adizioaren ondorioz. DTG kurbetan atentzioa jarritz lehenengo degradazio urratsaren zabalkuntza eta intentsitatearen txikitzea antzematen da, aipatutako temperatura txikitzearekin batera. Efektu berdina degradazio etapa nagusian ikusten da, *Salvia* estraktuek nanokonpositeen egonkortasun termiko orokorra txikitzen dutela ondorioztatuz. Horrez gain, G eta *Salvia* edukia handitzean hondakin portzentajea handitzen dela ikusi da.





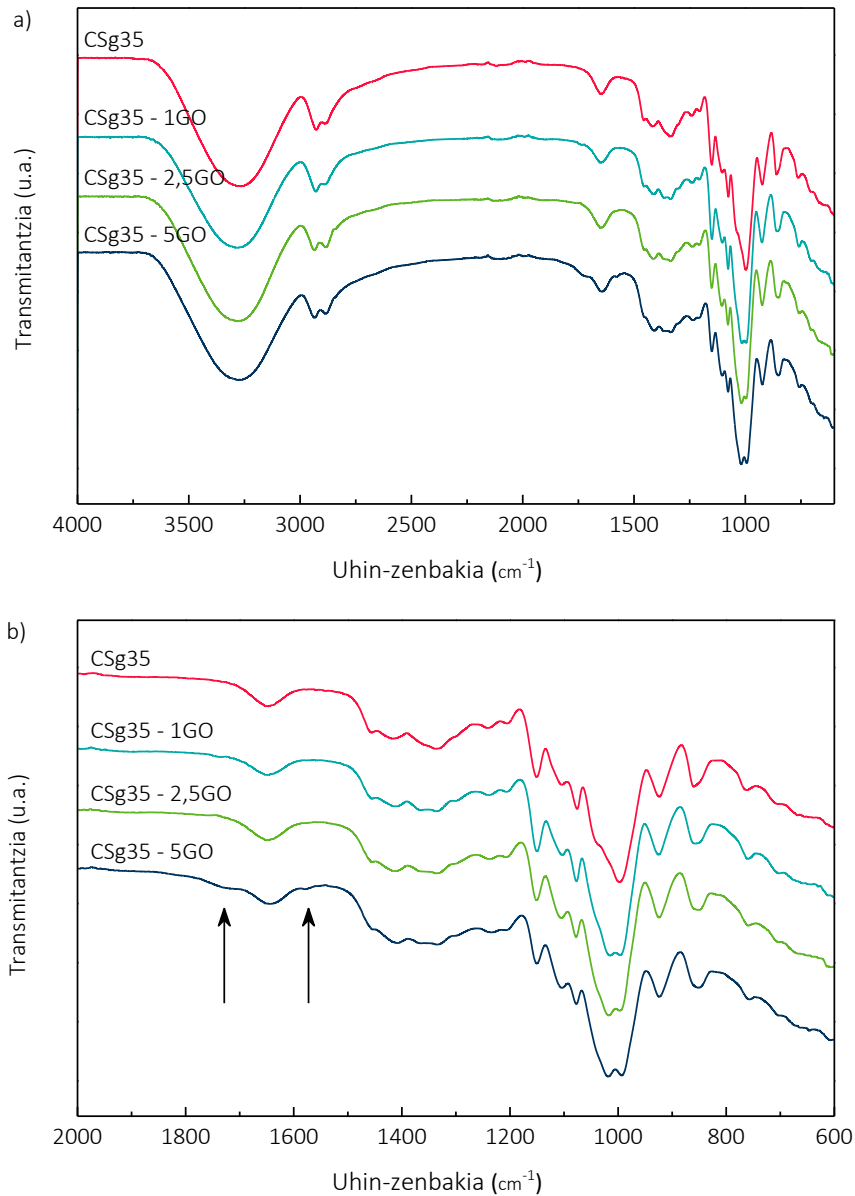
6.8. Irudia – Gz errefortzatutako nanokonposite filmen a) TG eta b) DTG kurbak.

## 6.5. GRAFENO OXIDO EDUKIAREN ERAGINA PLS NANOKONPOSITE FILMEN PROPIETATEETAN

Atal honetan, PLS nanokonposite filmak GO eduki desberdinak (%1, 2,5 eta 5) almidoian oinarritutako matrize gelatinizatuan gehituta lortu dira. G nanoxaflekin alderatuz, GOk dipertsagarritasun handiagoa aurkezten du uretan, film homogeneousen lorpena erraztuz. Gainera, oxidatutako talde funtzional berriak txertatzean nanoerrefortzu/matrize interakzio sendoagoak eratzen direla espero da eta ondorioz matrizearekin bateragarritasun hobea lor daiteke. Hala ere, lortutako nanokonpositeek eroankortasun elektrikoa ez dutela aurkeztuko aurreikusten da, GO ez baita elektrikoki eroalea.

### 6.5.1. Fourier transformatutun espektroskopia infragorria

PLS film eta lortutako GO nanoxaflez errefortzatutako nanokonpositeen egitura kimikoetan agertzen diren desberdintasunak aztertzeko FTIR neurketak burutu dira. 6.2. Irudian PLS eta nanokonposite filmen FTIR espektroak aurkezten dira.



6.9. Irudia – GOz errefortzatutako PLS nanokonpositen FTIR espektroak a) 4000 – 600 cm<sup>-1</sup> tartean eta b) 2000 – 600 cm<sup>-1</sup> tarteko magnifikazioa.

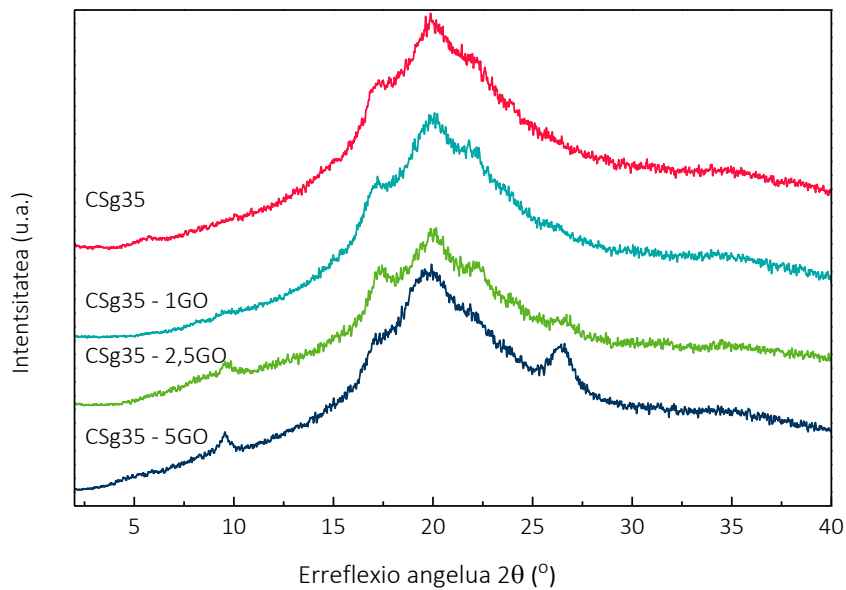
G nanoxaflekin errefortzatutako PLS nanokonpositeekin gertatzen den antzera, GO gehituz lortutako nanokonpositeen FTIR espektroek soilik desberdintasun txikiak erakusten dituzte PLS matrizearekin konparatuz. Beste egileek frogatu duten bezala, GO gehitzen denean 1650 cm<sup>-1</sup>, 1150 cm<sup>-1</sup> eta 1077 cm<sup>-1</sup> uhin-luzeran agertzen diren bandak balio txikiagotara desplazatzen dira, almidoi kateen eta GOren artean sortzen diren hidrogeno zubi elkarrekintzen ondorioz [2]. Gainera, almidoiaren C-O loturen luzapen bibrazioekin erlazionatutako ohiko bandak GO edukia handitzean

aldatu egiten dira, C-O lotura berrien presentzia oxidatutako nanoerrefortzuarekin batera handitzen delako [11]. Azkenik,  $1740\text{ cm}^{-1}$ -tan GOrekin erlazionatutako piko berri bat agertzen da, bereziki %5rentzat antzematen dena, eta oxidatutako grafenoan txertatuko karbonilo talde berrien presentziari atxikitzen dena. Gainera, egitura aromatikoaren C=C loturekin erlazionatutako piko berri bat ere  $1500\text{ cm}^{-1}$ -tan agertzen da, G duten nanokonpositeetan ere desberdintzen zena.

### **6.5.2. X-izpien difrakzioa**

GO duten nanokonpositeen egitura kristalinoa XRD bidez aztertu da. Lortutako XRD difraktogramak 6.10. Irudian azaltzen dira.

Nanokonposite guztiek GOren presentziarekin erlazionatutako bi piko berri aurkezten dituzte  $2\theta = 9,6^\circ$  eta  $2\theta = 26,5^\circ$ -tan, piko berri hauen intentsitatea GO edukiarekin handitzen delarik. 4.4.2. Atalean azaltzen den bezala, seinale hauek GOren (002) plano eta grafito puruaren egituraren arrastoarekin erlazionatuta daude, hurrenez hurren. Hala ere, kontutan hartu behar da nanokonpositeen kasuan (002) planoarekin erlazionatutako seinalea GO hutsean neurtutakoa baino balio txikiagoetara desplazatua agertzen dela,  $2\theta = 11,2^\circ$ -tik  $2\theta = 9,6^\circ$ -raino, GO nanoxaflen geruzen arteko distantzia  $7,9\text{ \AA}$ -tik (GO hutsa)  $9,2\text{ \AA}$ -ra PLS matrizean gehitu ondoren, almidoi kate eta GO nanoxaflen artean elkarrekintza eraginkorrak lortu direla frogatuz.



6.10. Irudia – GOz errefortzatutako PLS nanokonpositen XRD difraktogramak.

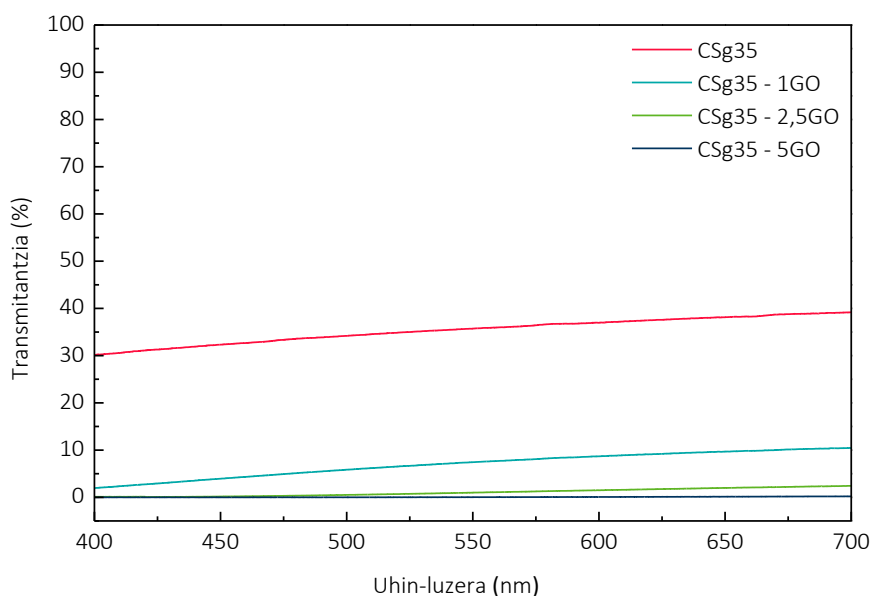
### 6.5.3. Propietate optikoak

UV-vis espektroskopia neurketak filmen transmitantzia balioak aztertzeko burutu dira eta filmen kolorea, aldiz, espektrofotometro bat erabilia aztertu da. 6.11. Irudian eta 6.2. Taulan lortutako transmitantzia balioak eta kolore parametroen emaitzak azaltzen dira, hurrenez hurren.

Aurreikusi den bezala, PLS nanokonpositen transmitantzia balioak GO edukiaren menpekoak dira. Emaitzek frogatzen duten bezala, filmen gardentasuna pixkanaka txikitu egiten da, nanoerrefortzuaren gehikuntzaren ondorioz. 6.2. Taulan erakusten den bezala, %1eko GO erabiltzean nanokonpositaren transmitantzia balioa %36,9tik (matrize hutsa) %8,7ra txikitzen da (ESg35 - 1GO). %2,5 eta %5 GO gehituzekoan transmitantzia balioak %1,5 eta %0,1era txikitzen dira, hurrenez hurren. 6.3.3. Atalean erakusten den bezala, filmak Grekin indartzen direnean transmitantzia %0ra txikitzen da edozein izanik G kantitatea. Aldiz, GO duten nanokonpositen kasuan, gardentasuna errefortzu edukiarekin progresiboki txikitzen da, GOrentzat nanoerrefortzuaren dispersio hobea lortu dela iradokiz. Mahmoudi eta kideek [12] materialen transmitantzia geruza kopuruaren arabera dela frogatu zuten, geruza askotako eta pilatutako

GOek geruza bakarreko GOk baina absortzio balio handiagoak erakusten dituela ondorioztatuz. Beraz, literaturako emaitza hauek eta 4.4. Atalean aurkeztutako emaitzak kontutan hartuta, gure kasuan erabilitako oxidazio prozesuaren bidez geruza askotako GO lortu dela esan daiteke.

$L^*$ ,  $a^*$  eta  $b^*$  parametroak eta  $\Delta E$ -ren balioak nanokonpositeen gainazaleko kolorean desberdintasunak ebaluatzeko asmoz neurtu dira. 6.2. Taulan ikus daitekeen bezala,  $L^*$  parametroa GO edukiarekin txikitzen da GOren kolore iluna dela eta. Gainera,  $a^*$  eta  $b^*$  parametro kromatikoak GO eduki baxuenarentzat handitu egiten dira baina nanoerrefortzu edukia handitzen doan heinean parametroen balioak txikitzen dira, filmak GOren adizioaren ondoren gorrixka eta horixkagoak bihurtzen direla adieraziz (hain zuzen Gren berdexka eta urdinxkaren aurkako joerarekin). Emaitza hauek bat datoz literaturan aurkitutako GO eta Gren kolore marroixka eta beltzarekin, hurrenez hurren [13], baita GOekin errefortzatutako kitosano filmentzat argitaratutako ondorioekin ere [8]. Gainera, aipatzekoa da aurreikusten zen bezala lortutako  $\Delta E$  balioak handitzen direla nanoerrefortzuaren edukia handitzen den heinean, GOren kolore marroi ilunarengatik [14] eta nanokonpositeek matrizearekiko duten kolore diferentziagatik.



6.11. Irudia – GOz errefortzatutako PLS nanokonposite filmen UV-vis transmitantzia neurketak.



6.2. Taula – GOz errefortzatutako PLS nanokonpositeen transmitantzia balioak eta kolore parametroak.

Lagina	Transmitantzia (%)	L*	a*	b*	$\Delta E$
CSg35	36,9	69,24 $\pm$ 0,50	-1,40 $\pm$ 0,04	3,00 $\pm$ 0,04	23,72 $\pm$ 0,50
CSg35 - 1GO	8,7	40,74 $\pm$ 1,56	4,30 $\pm$ 0,33	19,76 $\pm$ 0,42	55,82 $\pm$ 1,36
CSg35 – 2,5GO	1,5	19,09 $\pm$ 0,16	1,62 $\pm$ 0,20	7,04 $\pm$ 2,00	74,11 $\pm$ 0,34
CSg35 - 5GO	0,1	19,88 $\pm$ 0,34	0,39 $\pm$ 0,04	2,97 $\pm$ 0,28	73,01 $\pm$ 0,35

#### 6.5.4. Gainazal propietateak

Kontaktu angelu neurketak GOz errefortzatutako nanokonposite filmen gainazal azalera eta hidrofobotasuna karakterizatzeko ere burutu dira, etilenglikola erabiliz. Lortutako neurketak 6.12. Irudian agertzen dira.

Ikus daitekeen bezala, G eta *Salvia* estraktuekin lortutako nanokonpositeen emaitzekin alderatuz, GOren gehikuntzak ez du filmen izaera hidrofiloan eragiten. Izan ere, nanokonpositeek 21,4°-tik 23,4°-tako kontaktu angelu balioak aurkezten dituzte, matrizearen balioaren oso antzekoak direlarik. Emaitza hauek Grande eta kideek [8] jasotako emaitzekin bat datoz, non nanokonpositeen bustikortasuna GO gehitzean txikitzen ez dela ondorioztatu zuten.

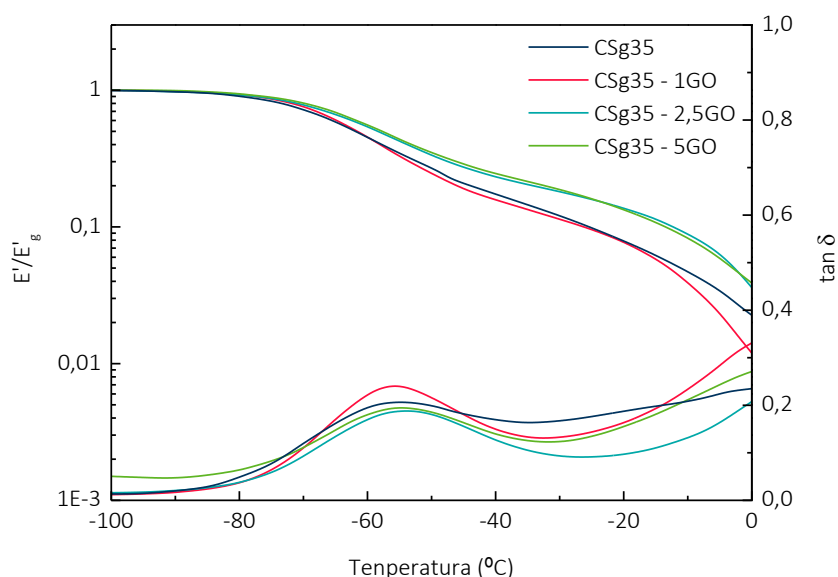


6.12. Irudia – GOz errefortzatutako PLS nanokonposite filmen kontaktu angelu neurketak.

#### 6.5.5. Analisi mekaniko dinamikoa

GOren edukierak PLS nanokonposite filmen portaera biskoelastikoan duen eragina DMA saiakuntzen bidez aztertu da. Temperaturarekiko  $E'/E'_g$  eta  $\tan \delta$ -k duten garapena 6.13. Irudian aurkezten dira.

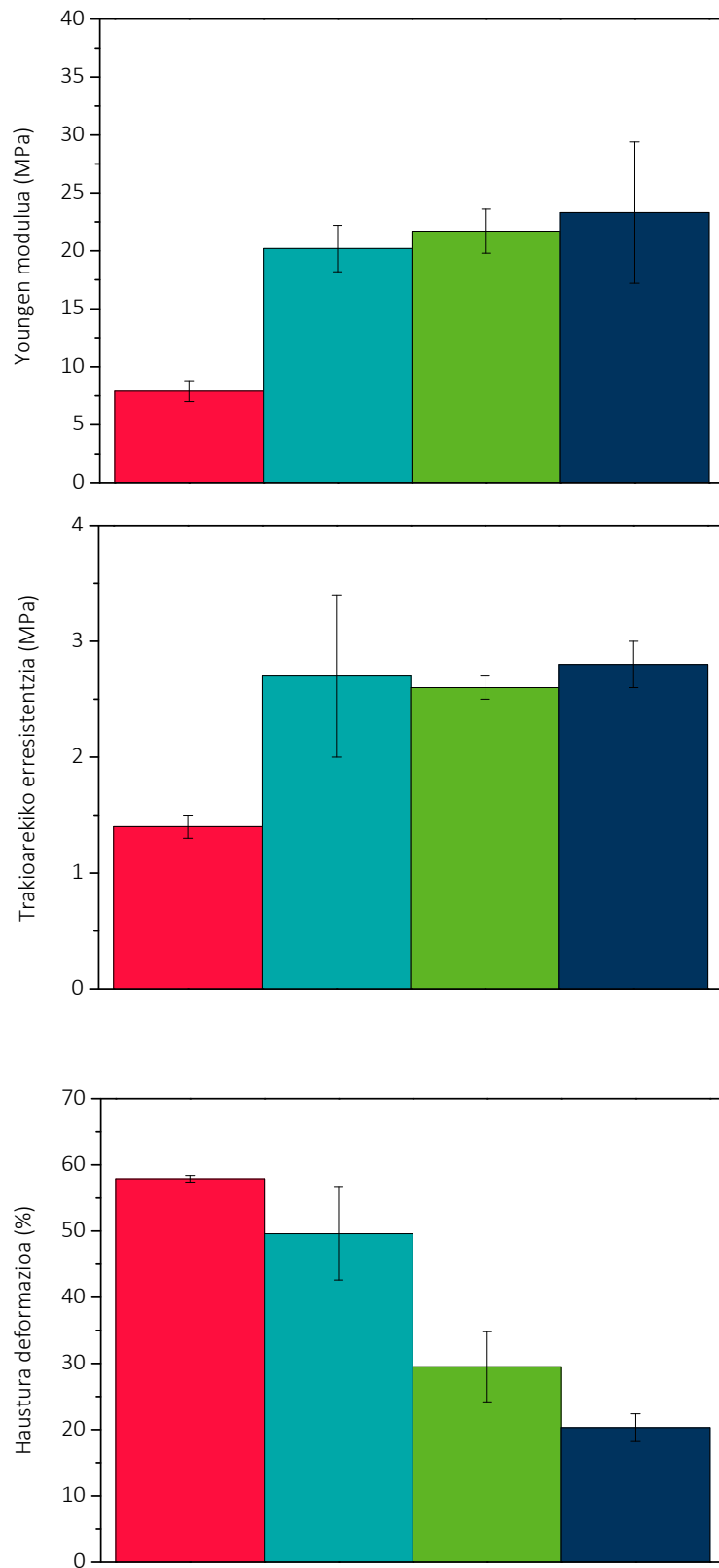
6.13. Irudian antzematen den bezala, GOren gehikuntzaren ondoren  $T_{\alpha 1}$  konstante mantentzean da, baina  $T_{\alpha 2}$  temperatura altuetara desplazatzen da CSg35 – 1GO eta CSg35 – 2,5GO laginentzat eta zabaldu CSg35 – 5GO laginarentzat. %1 eta 2,5 GO gehitzean almidoian aberatsa den fasearen mugikortasuna txikitzen da oxigenodun talde funtzionalen eta almidoia artean sortutako hidrogeno zubi elkarrekintza eraginkorren ondorioz. Gainera, %1 eta 2,5eko konposizioetarako  $E'/E'_g$  handitzen da eta temperatura handiagotara desplazatzen da. Bi erlaxazioen magnitudeak txikitzen dira, trantsizio hauetan erlaxatutako glizerol molekula eta almidoi kateen kopurua gutxitzen delako.



6.13. Irudia – GOz errefortzatutako nanokonposite filmen  $E'/E'_g$  eta  $\tan \delta$ -ren bilakaera temperaturarekin.

### 6.5.6. Propietate mekanikoak

GO edukiak PLS nanokonpositeen propietate mekanikoetan duen eragina aztertzeko trakzio saiakuntzak burutu dira. Lortutako emaitzak 6.14. Irudian aurkezten dira.



6.14. Irudia – ■ CSg35, ■ CSg35 - 1GO, ■ CSg35 – 2,5GO eta ■ CSg35 - 5GO laginen propietate mekanikoak.

Ikus daitekeen bezala, GOekin errefortzatutako nanokonpositeek Youngen modulu eta trakzio erresistentzia balio handiagoak aurkezten dituzte, aldiz haustura deformazio balio txikiagoak lortu dira. Li eta kideek [2] frogatu zuten bezala, GOren gehikuntzak almidoian oinarritutako materialen erresistentzia eta zurruntasuna hobetzen du, nanoerrefortzua matrizean modu egokian dispersatu baita eta PLS/GO interakzio sendoak lortu baitira. G duten nanokonpositeekin konparatuz, GOren oxigenodun talde funtzionalek matrizearekin interakzionatzeko duten ahalmena dela eta trakzio erresistentzia balio handiagoak lortu direla nabarmendu behar da. Hala ere, G duten nanokonpositeekin baino deformazio balio txikiagoak lortu dira aipatu bezala aurrekoen kasuan *Salvia* estraktuek plastifikatzaile bezala jokatu baitezakete.

#### **6.5.7. Propietate elektrikoak**

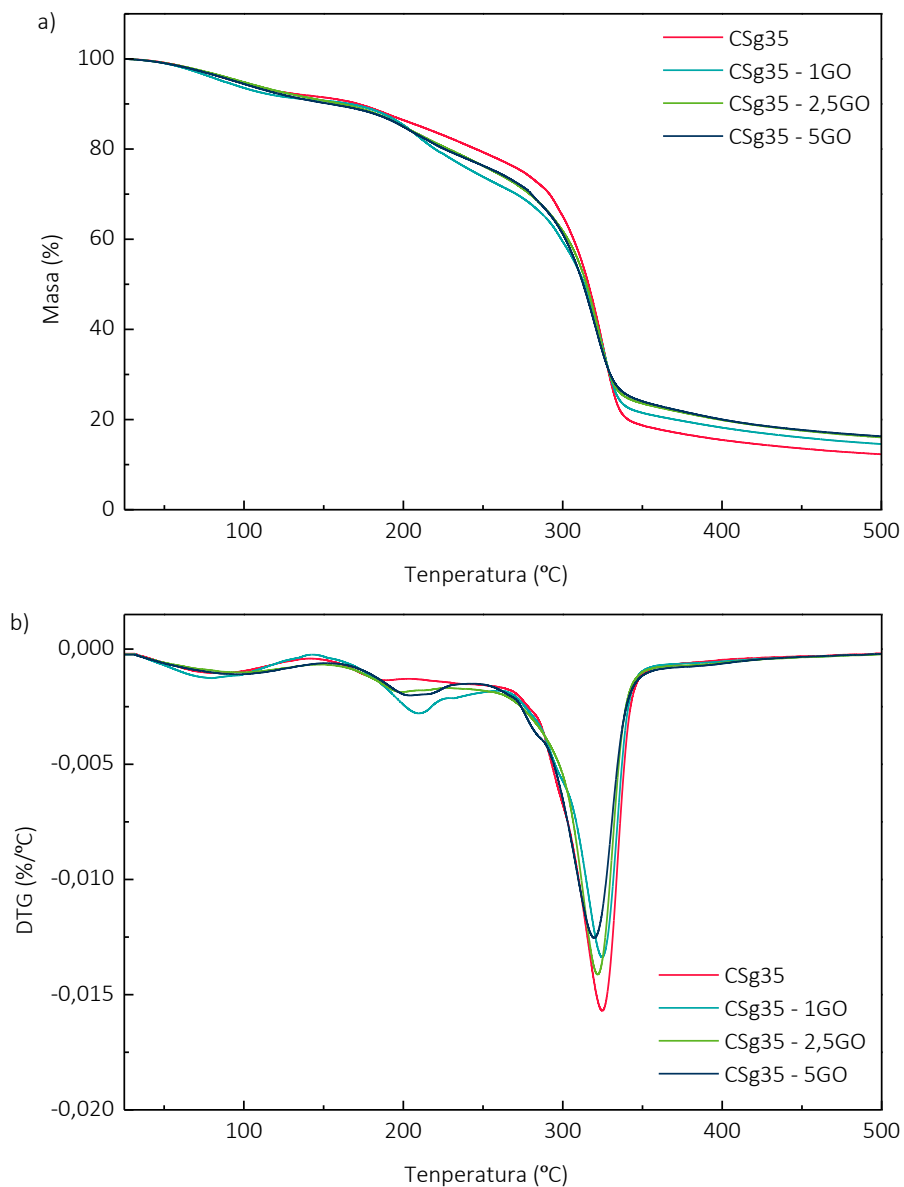
Eroankortasun elektriko neurketak GOekin prestatutako PLS nanokonpositeentzat burutu dira, 2 puntetako teknika erabiliz G duten nanokonpositeekin egin den antzera. Emaitzak aztertuz, GOz errefortzatutako nanokonpositeek ez dute eroankortasun elektrikoa aurkezten. Beste egileek frogatu duten bezala, GOk ez du elektrikoki eroalea izateko gaitasuna [4,5,15], oxidazio erreakzioan zehar grafitoaren egitura elektronikoa eteten baita  $\pi$ -konjugazioa suntsitzen delako [4]. Beraz, GOren adizioak ez du nanokonpositeen eroankortasun elektrikoa hobetzen.

#### **6.5.8. Analisi termogravimetrikoa**

GO nanoxaflez errefortzatutako nanokonpositeen degradazio termikoa TGA neurketen bidez aztertu da. TG eta DTG kurbak 6.15. Irudian aurkezten dira.

PLS matrizearen degradazio termikoarekin konparatuz (3.4.7. Atalean eztabaidatu dena) nanokonpositeek desberdintasun txikiak soilik aurkezten dituzte. Desberdintasun garrantzitsuena glizerolean aberatsa den fasearen degradazio tartean ageri da, non masa galera nabarmenki handitzen dela ikusten den. Beste egileek definitu duten bezala [5], 250 °C inguru ematen diren GOren talde

funtzionalen degradazio eta pirolisi fenomenoek (ikus 4.7. Irudia), almidoiaren degradazioa aurreratzea eragiten dute. Gainera, degradazio etapa nagusia arinki 324 °C-tik 320 °C-tara desplazatzen da eta hondakinaren balioa GO edukiarekin handitzen da.



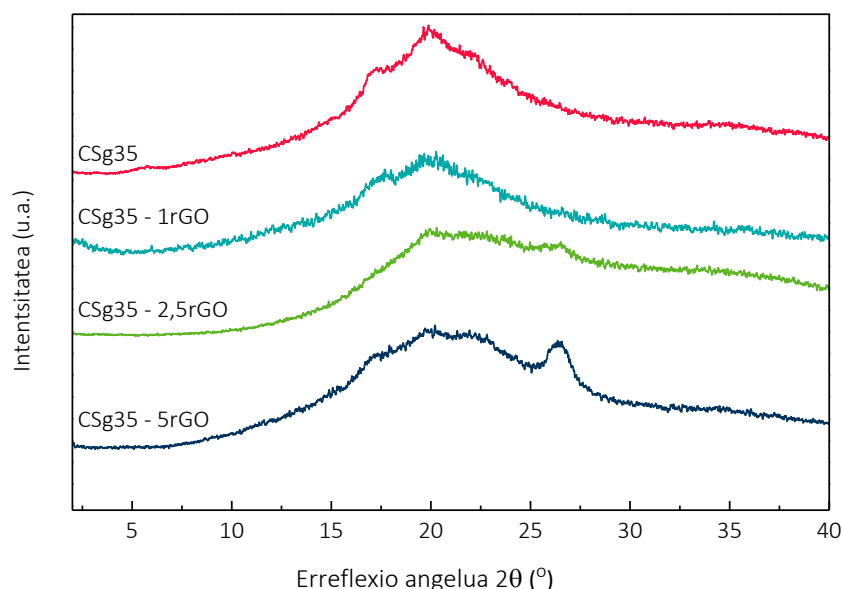
6.15. Irudia – GOz errefortzatutako nanokonposite filmen a) TG eta b) DTG kurbak.

## 6.6. GRAFENO OXIDOAREN ERREDUKZIOAREN ERAGINA PLS NANOKOMPOSITE FILMEN PROPIETATEETAN

Aurretik ondorioztatu den bezala (6.4. Atala) GOren adizioak propietate optiko eta mekaniko interesgarriak lortzea dakar nanoerrefortzu/matrize elkarrekintza sendoen ondorioz eta GOa PLS matrizean homogeenoki dispersatzen baita. Hala ere, GOren adizioak ez die filmi eroankortasun elektrikoa ematen. Horregatik, GO duten nanokompositeak azido askorbikoa erredukzio agente bezala erabilia erreduzitu dira 6.2.3. Atalean azaldutako prozedura jarraituz. Literaturan jaso den bezala [5], sare hexagonala berrezarri daitekeela aurreikusi daiteke material eroaleak lortuz. Hala ere, normalean GO ez da guztiz erreduzitzen eta ukigabe geratzen diren talde hidroxilo, epoxido, karbonilo eta karboxilikoek rGO/almidoi interakzioak eratzen jarrai dezakete.

### 6.6.1. X-izpien difrakzioa

XRD neurketak GO nanoxaflak erreduzitzeko erabilitako metodoa eraginkorra izan den frogatzeko burutu dira. Erreduzitutako filmen difraktogramak 6.16. Irudian aurkezten dira.



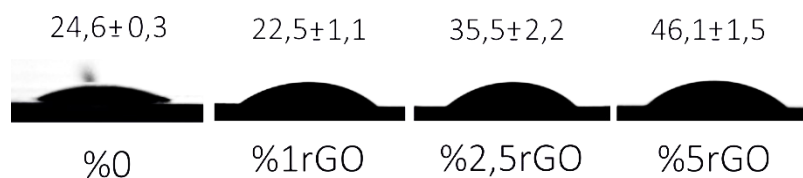
6.16. Irudia – rGOz errefortzatutako PLS nanokompositen XRD difraktogramak.

Erreduzitatuko nanokonpositeen XRD difraktogrametan ikus daitekeen bezala, GOari atxikitako  $2\theta = 9,6^\circ$ -tan agertzen den ohiko pikoa erredukzioaren ondoren desagertzen da, oxigeno taldeak modu eraginkorrean eliminatu direla frogatuz [16]. Gainera, GO duten nanokonpositeentzat  $2\theta = 19,8^\circ$ -tan kokatutako piko zabala eta  $2\theta = 26,5^\circ$  inguru ageri den eta jatorrizko grafitoaren egitura hexagonalaren (002) planoarekin erlazionatutako pikoa antzematen dira [17–19].

### 6.6.2. Gainazal propietateak

Azido askorbikoarekin burututako erredukzio kimikoa GO egituran aurkitzen diren talde hidroxilo, epoxido, karbonilo eta karboxilikoak elimina ditzake eta ondorioz, nanokonpositeen bustikortasuna txikitu daiteke. Beraz, azido askorbiko bidez egindako erredukzioak gainazal propietateengan duen eragina aztertzeko kontaktu angelu neurketak burutu dira. Lortutako emaitzak 6.17. Irudian aurkezten dira.

Antzeman daitekeen bezala, erredukzio erreakzioaren ondoren PLS filmen bustikortasuna txikitzen da, erreduzitatuko nanokonposite materialentzat kontaktu angelu handiagoak lortuz. Neurtutako kontaktu angelu balioa nabarmenki handitzen da matritzetik ( $24,6^\circ$ ) CSg35 – 5rGO nanokonpositera ( $46,5^\circ$ ). Romani eta kideek [20] antzeko emaitzak aurkeztu zituzten rGO-rekin errefortzatutako poliuretanozko nanokonpositeentzat. Beraz, filmen izaera hidrofoboa hobetzen dela ondorioztatu da oxigeno taldeak modu egokian eliminatu baitira.



6.17. Irudia – rGOz errefortzatutako PLS nanokonposite filmen kontaktu angelu neurketak.

Emaitzak XRD neurketen bidez lortutako ondorioekin bat datoz, erredukzio erreakzioan zehar GOren oxigeno talde funtzionalak hein handi batean eliminatu direla frogatuz eta beraz,

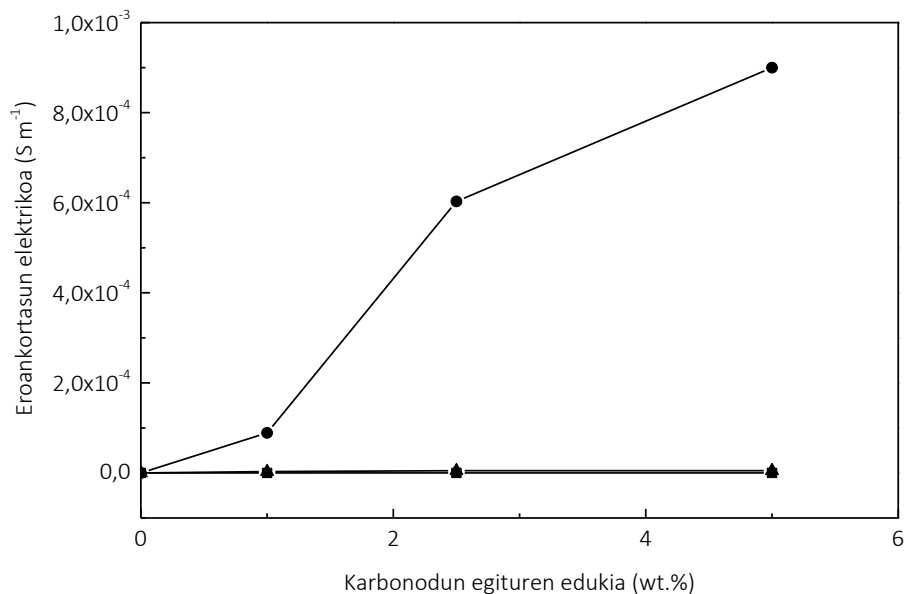
erabilitako erreakzio baldintzak eraginkorrak izan direla ondorioztatuz. G duten nanokonpositeekin konparatuz, kontaktu angelu balio handiagoak lortu dira GOren gehikuntza eta ondorengo erredukzioaren ostean, *Salvia* estraktuek Gren aurkako efektua dutela baieztatuz eta G dispersioa uretan egonkortzeaz gain, nanokonpositeen izaera hidrofila ere handitzen dutela frogatuz.

### 6.6.3. Propietate elektrikoak

Literaturan jaso den bezala, GOren erredukzioak Gren  $sp^2$  egitura hibridoa berrezartzen du [5] elektrikoki eroaleak diren nanoxaflak lortu ahal direlarik [16]. Horregatik, erredukzio kimikoak PLS nanokonpositeen portaera elektrikoan duen eragina bi puntako eroankortasun elektriko neurketen bidez aztertu da. 6.18. Irudian eroankortasun elektrikoaren emaitzak aurkezten dira.

GO duten nanokonpositeekin alderatuz, erreduzitutako film guztientzat eroankortasun elektriko handitu egiten da rGO edukia handitzen den heinean. Gainera, rGOekin errefortzatutako nanokonpositeak Grekin prestatutakoekin konparatuz, lehenengoentzat lortutako eroankortasun balio handiagoak lortzen dira, bi arrazoiengatik izan daitekelarik: 1) GO modu uniformeago batean matrizean dispersatu da eta GO/almidoi elkarrekintzek erredukzioaren ondoren sare eroale eraginkor bat eratzea errazten dute 2) aurretik eztabaidatu den bezala, almidoiaren gelatinizazioan G dispersioa egonkortzeko gehitutako *Salvia* estraktuek sare eroale bat eratzea zaildu dezakete. Ondorio hauek GO nanokonposite filmentzat lortutako propietate mekanikoekin bat datoz. Izan ere, trakzio erresistentzia balio handiagoak lortu dira GO duten laginentzat, tentsioa matrizeetik GOra ondo transferitzen dela adieraziz. Gainera, Grekin errefortzatutako laginen haustura deformazioak balio handiagoak erakusten dituzte, *Salvia* almidoiaren plastifikatzaile bezala jokatzen duela ondorioztatuz. Beraz, azido arkorbikoaren erabilera erredukzio agente bezala GOren egitura elektronikoa berrezartzeko egokia dela ondorioztatu daiteke.





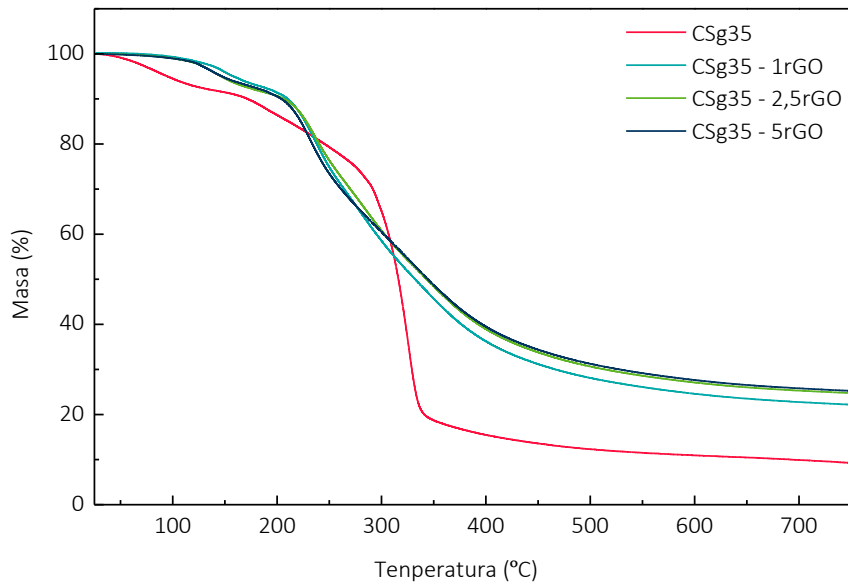
6.18. Irudia – Karbonodun egiturez errefortzatutako nanokonposite filmen eroankortasun elektrikoaren bilakaera nanoerrefortzu edukiarekiko.

#### 6.6.4. Analisi termograbimetricoa

TGA neurketak PLS/rGO nanokonpositeen erresistentzia termikoan erredukzio tratamenduaren eraginkortasuna aztertzeko burutu dira. TG eta DTG kurbak 6.19. Irudian agertzen dira.

Alde batetik, kontaktu angelu balioekin adostasunean, nanokonposite guztien hezetasun edukia txikitzen dela ikusi da. Beste alde batetik, degradazioa tenperatura tarte zabalago batean ematen dela ikusi da. rGO duten nanokonpositeek GOren oxigeno talde funtzionalekin erlazionatutako masa galera erakusten dute. Orokorrean, matrize eta errefortzuaren arteko interakzioak geroz eta hobeak izan, egonkortasun termikoa handiagoa izango da. Beraz, rGO lortzeko egindako GOren erredukzioa, aurretik sortutako errefortzu/matrize interakzioak suntsitzen ditu, nanokonpositeen egonkortasun termikoa nabarmenki txikitzen delarik G eta *Salvia* erabiliz prestatutako nanokonpositeekin konparatuz. Erraunts portzentajea, bero hesi bezala jokatu dezakeena, erredukzio erreakzioaren ondoren nabarmenki handitzen dela antzematen da. Gainera,

aurreikusten zen bezala, hondakina rGO edukiaren menpekoa da, alegia errauts portzentajea nanoerrefortzu edukiarekin batera handitzen da.



6.19. Irudia – rGOz errefortzatutako nanokonposite filmen TG kurbak.

## 6.7. ONDORIOAK

Karbonodun nanopartikulak gehituta, hau da G eta GO, prestatutako PLS nanokonpositeak modu egokian lortu dira. Gainera, GOekin lortutako nanokonpositeak erreduzitu dira eroankortasun elektriko propietate hobek lortzeko asmoz.

Lehenik eta behin, G duten nanokonpositeak nanoerrefortzu eduki desberdinak erabiliz prestatu dira. Horretarako, *Salvia* estraktuak derrigorrez gehitu behar izan dira Gren dispersioa gelatinizazio inguru urtsuan errazteko. Matrizean G eduki desberdinak gehitzearen eragina aztertu da. G nanoxafle adizioak, edozein edukirako, izaera hidrofoboa arinki handitzen duela frogatu da, baina *Salviaren* plastifikazio efektua ere ematen dela ikus daiteke. Gainera, matrizearekin alderatuz nanokonpositeen propietate mekanikoak eta eroankortasun elektrikoa hobetzen dela baieztatu da. Horrez gain, Gren gehikuntzaren ondorioz egonkortasun termikoa ez da nabarmenki hobetzen.

Beste aldetik, PLS nanokonpositeak GO nanoerrefortzu gisa gehituta lortu dira. Emaitzak kontutan hartuta, almidoi/GO elkarrekintza sendoak eta GOren dispersio egokiak filmen amaierako portaera hobetzen dutela frogatu da, bereziki propietate mekanikoak. Gainera, filmak modu zuzenean erreduzitu dira azido askorbikoaren presentzian tratamendu termikoa eginez. Erredukzioaren ondoren egonkortasun termikoa txikitzen den arren, 200 °C arte egonkorak dira. Horrez gain, eroankortasun elektriko propietateak lortu dira GOren egituraren sp<sup>2</sup> hibridazioa hein batean berrezarri dela frogatuz.

## 6.8. ERREFERENTZIAK

- [1] A. Santamaria-Echart, I. Fernandes, F. Barreiro, A. Retegi, A. Arbelaiz, M.A. Corcuera, A. Eceiza, Development of waterborne polyurethane-ureas added with plant extracts: Study of different incorporation routes and their influence on particle size, thermal, mechanical and antibacterial properties, *Prog. Org. Coatings*. 117 (2018) 76–90. doi:10.1016/j.porgcoat.2018.01.006.
- [2] R. Li, C. Liu, J. Ma, Studies on the properties of graphene oxide-reinforced starch biocomposites, *Carbohydr. Polym.* 84 (2011) 631–637. doi:10.1016/j.carbpol.2010.12.041.
- [3] J.-L. Li, M. Zhou, G. Cheng, F. Cheng, Y. Lin, P.-X. Zhu, Comparison of mechanical reinforcement effects of cellulose nanofibers and montmorillonite in starch composite, *Starch - Stärke*. 1800114 (2018) 1–9. doi:10.1002/star.201800114.
- [4] T.B. Rouf, J.L. Kokini, Biodegradable biopolymer–graphene nanocomposites, *J. Mater. Sci.* 51 (2016) 9915–9945. doi:10.1007/s10853-016-0238-4.
- [5] T. Ma, P.R. Chang, P. Zheng, X. Ma, The composites based on plasticized starch and graphene oxide/reduced graphene oxide, *Carbohydr. Polym.* 94 (2013) 63–70. doi:10.1016/j.carbpol.2013.01.007.
- [6] J. Li, M. Zhou, G. Cheng, F. Cheng, Y. Lin, P.X. Zhu, Fabrication and characterization of starch-based nanocomposites reinforced with montmorillonite and cellulose nanofibers, *Carbohydr. Polym.* 210 (2019) 429–436. doi:10.1016/j.carbpol.2019.01.051.
- [7] S. Javanbakht, H. Namazi, Solid state photoluminescence thermoplastic starch film containing graphene quantum dots, *Carbohydr. Polym.* 176 (2017) 220–226. doi:10.1016/j.carbpol.2017.08.080.
- [8] C.D. Grande, J. Mangadlao, J. Fan, A. De Leon, J. Delgado-Ospina, J.G. Rojas, D.F. Rodrigues, R. Advincula, Chitosan cross-linked graphene oxide nanocomposite films with antimicrobial activity for application in food industry, *Macromol. Symp.* 374 (2017) 1–8. doi:10.1002/masy.201600114.
- [9] S. Shankar, L. Jaiswal, P.R. Selvakannan, K.S. Ham, J.W. Rhim, Gelatin-based dissolvable

- antibacterial films reinforced with metallic nanoparticles, *RSC Adv.* 6 (2016) 67340–67352. doi:10.1039/c6ra10620j.
- [10] X. Gong, G. Liu, Y. Li, D.Y.W. Yu, W.Y. Teoh, Functionalized-graphene composites: Fabrication and applications in sustainable energy and environment, *Chem. Mater.* 28 (2016) 8082–8118. doi:10.1021/acs.chemmater.6b01447.
- [11] P. Zheng, T. Ma, X. Ma, Fabrication and properties of starch-grafted graphene nanosheet/plasticized-starch composites, *Ind. Eng. Chem. Res.* 52 (2013) 14201–14207. doi:10.1021/ie402220d.
- [12] N. Mahmoudi, F. Ostadhossein, A. Simchi, Physicochemical and antibacterial properties of chitosan-polyvinylpyrrolidone films containing self-organized graphene oxide nanolayers, *J. Appl. Polym. Sci.* 133 (2016) 1–8. doi:10.1002/app.43194.
- [13] M.Z. Ansari, R. Johari, W.A. Siddiqi, Novel and green synthesis of chemically reduced graphene sheets using *Phyllanthus emblica* (Indian Gooseberry) and its photovoltaic activity, *Mater. Res. Express.* 6 (2019). doi:10.1088/2053-1591/ab0439.
- [14] J. Ahmed, M. Mulla, Y.A. Arfat, L.A. Thai T, Mechanical, thermal, structural and barrier properties of crab shell chitosan/graphene oxide composite films, *Food Hydrocoll.* 71 (2017) 141–148. doi:10.1016/j.foodhyd.2017.05.013.
- [15] P.K.S. Mural, M. Sharma, G. Madras, S. Bose, A critical review on in situ reduction of graphene oxide during preparation of conducting polymeric nanocomposites, *RSC Adv.* 5 (2015) 32078–32087. doi:10.1039/c5ra02877a.
- [16] I. Kanayama, H. Miyaji, H. Takita, E. Nishida, M. Tsuji, B. Fugetsu, L. Sun, K. Inoue, A. Ibara, T. Akasaka, T. Sugaya, M. Kawanami, Comparative study of bioactivity of collagen scaffolds coated with graphene oxide and reduced graphene oxide, *Int. J. Nanomedicine.* 9 (2014) 3363–3373. doi:10.2147/IJN.S62342.
- [17] J. Fan, Z. Shi, J. Wang, J. Yin, Glycidyl methacrylate-modified gum arabic mediated graphene exfoliation and its use for enhancing mechanical performance of hydrogel, *Polymer (Guildf).* 54 (2013) 3921–3930. doi:10.1016/j.polymer.2013.05.057.
- [18] J. Cao, Y. Zhu, X. Yang, Y. Chen, Y. Li, H. Xiao, W. Hou, J. Liu, The promising photo anode of graphene/zinc titanium mixed metal oxides for the CdS quantum dot-sensitized solar cell, *Sol. Energy Mater. Sol. Cells.* 157 (2016) 814–819. doi:10.1016/j.solmat.2016.08.003.
- [19] E. Mahmoudi, L.Y. Ng, M.M. Ba-Abbad, A.W. Mohammad, Novel nanohybrid polysulfone membrane embedded with silver nanoparticles on graphene oxide nanoplates, *Chem. Eng. J.* 277 (2015) 1–10. doi:10.1016/j.cej.2015.04.107.
- [20] E.C. Romani, S. Nardecchia, C. Vilani, S. Qi, H. Dong, F.L. Freire, Synthesis and characterization of polyurethane/reduced graphene oxide composite deposited on steel, *J. Coatings Technol. Res.* 15 (2018) 1371–1377. doi:10.1007/s11998-018-0088-x.



## **7. KAPITULUA:**

**SARETUTAKO ALMIDOI ETA  
ZELULOSA NANOKRISTALETAN  
OINARRITURIKO  
NANOKONPOSITE HIDROGELAK**



## **7. SARETUTAKO ALMIDOI ETA ZELULOSA NANOKRISTALETAN OINARRITUTAKO NANOKONPOSITE HIDROGELAK**

### **7.1. HELBURUA**

Kapitulu honen helburua biomedikuntza bezalako eremu zorrotzean erabilgarri diren almidoizko hidrogelak lortzea eta karakterizatzea izan da, nagusiki botiken askapenerako erabilgarritasun sistema bezala. Horretarako, lehenik, arto almidoia furano taldeak txertatuz eraldatua izan da furfural isozianatoarekin erreakzionaraziz. Ondoren, hidrogelak eta nanokonposite hidrogelak almidoi eraldatuaren eta PEGean oinarritutako maleimida tetrafuntzionalaren arteko Diels-Alder (DA) erreakzio bitartez lortu dira, zelulosa nanokristalak (CNC) nanoerrefortzu moduan gehituz. CNC kantitatearen eragina hidrogelaren propietate erreologikoetan eta puzte gaitasunean aztertu da, hidrogelen morfologiarekin batera. Azkenik botiken askapen neurketak eta zitotoxikotasun saiakuntzak burutu dira hidrogelak biomedikuntza arloan izango luketen erabilgarritasuna berrestearren.

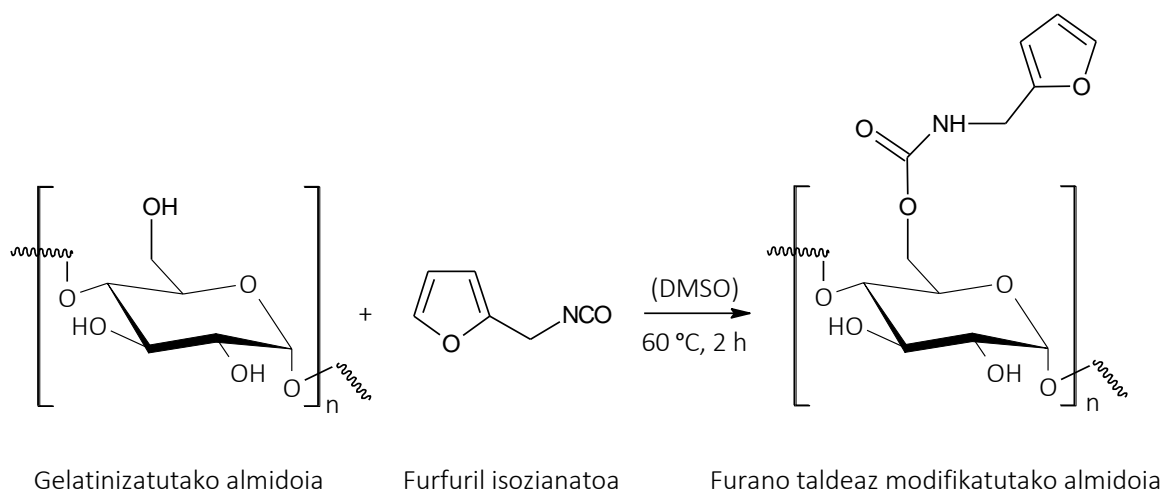
### **7.2. ALMIDOIZKO HIDROGEL SARETUEN LORPENA**

#### **7.2.1. Furanoz eraldatutako almidoiaren sintesia (S-FI)**

Almidoizko deribatu furanikoa (S-FI) almidoi gelatinizatu eta furfural isozianatoaren (FI) arteko erreakzioz lortu da Nossa eta kideek [1] argitaratutako prozedurari jarraituz. Lehenik, almidoiaren gelatinizazioa burutu da aurretik deskribatutako metodologia jarraituz zenbait aldaketekin (3, 5 eta 6 Kapituluak). Arto almidoiaren 2 g 30 mL ur distilatuan dispersatu dira giro tenperaturan. Nahastea 90 °C-raino berotu eta gelatinizazioa burutu da agitazio magnetiko konstantepean 40 minutuz. Ondoren, gel likatsua homogeneizatu egin da 3 minutuz 15000 rpm-tan (POLYTRON® PT 2500 E). Azkenik gela *petri* plaketan zabaldu eta lehortu da 70 °C-tan 5 orduz. Denbora horren ondoren, gelatinizatutako almidoi lehortuaren 0,45 g dimetil sulfoxido (DMSO) 6.4



mL-tan disolbatu eta furfural isozianatoa gehitu da 1:0,1 almidoi gelatinizatu: furfural isozianato erlazio molarrean (S:FI) (anhidroglikosa unitatearen pisu molekularrean oinarrituz  $162 \text{ g mol}^{-1}$ ) [1]. Erreakzioa 2 orduz  $60 \text{ }^\circ\text{C}$ -tan burutu da agitazio magnetiko konstantepean (7.1. Eskema). Ondoren, produktua etanolarekin hauspeatu eta garbitu ostean, uretan birdisolbatu eta ur distilatuaren aurka dialisi bitartez purifikatu da 24 orduz (zelulosa birsortu mintzak Spectra Pro 12000–14000 MWCO Spectrum Laboratories, USA). Azkenik  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ -tan 24 orduz lehortu ondorena almidoi deribatua lortu da.



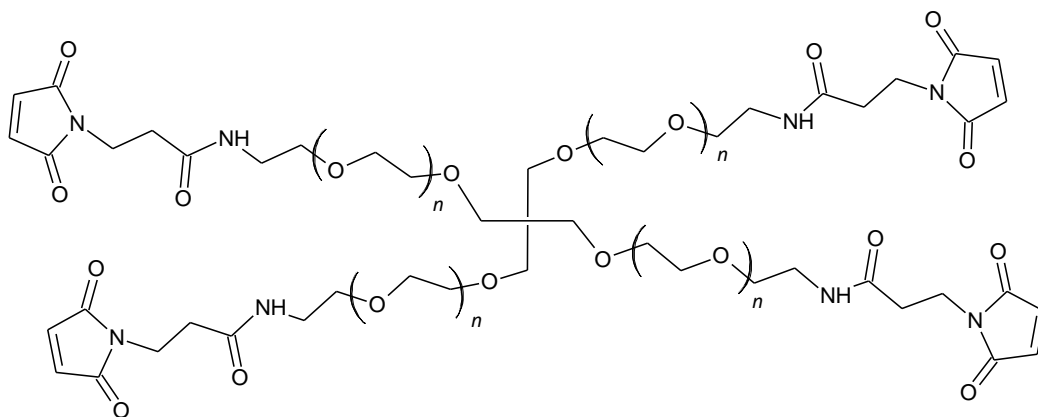
7.1. Eskema – Furanoz eraldatutako almidoiaren sintesia.

### 7.2.2. Hidrogelaren sintesia S-FI eta tetramaleimidaren (TTMI) arteko Diels Alder erreakzio bitartez

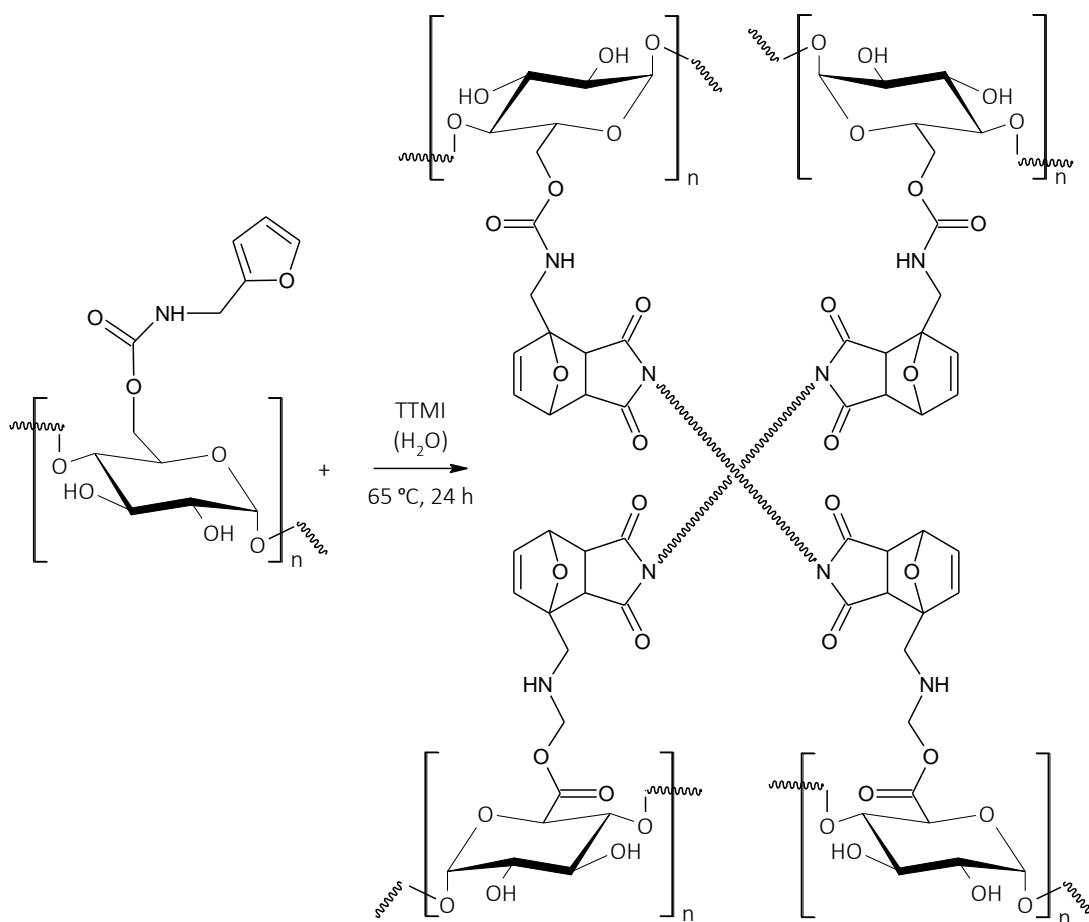
Almidoizko hidrogelak S-FI deribatuaren eta PEG oinarria duen tetramaleimida sarezaile komertzialaren (TTMI) (7.2. Eskeman egitura kimikoa irudikatzen da) arteko Diels Alder (DA) erreakzio bitartez prestatu dira. Lehenik, S-FI deribatuaren  $0,128 \text{ g}$  ur distilatuan disolbatu dira (%6ean, gau bat). Ondoren, TTMI sarezailearen  $0,064 \text{ g}$  gehitu eta nahastea erreakzionarazi da, 24 orduz  $65 \text{ }^\circ\text{C}$ -tan ontzi itxian. Furano eta maleimida arteko pisu erlazioa (Fu:Mal) 1:0,5 balioan finkatu da hidrogelak sintetizatzeko. Prestatutako hidrogela HSF1 bezala izendatu da jarraian

saretzailearen funtzionalitatea adieraziz HSF14 (kapitulu honetan funtzionalitatea 4koa da).

Hidrogelaren prestaketa prozedura 7.3. Eskeman agertzen da.



7.2. Eskema – Uretan disolagarria den TTMI saretzaile tetrafuntzionalaren egitura kimikoa.

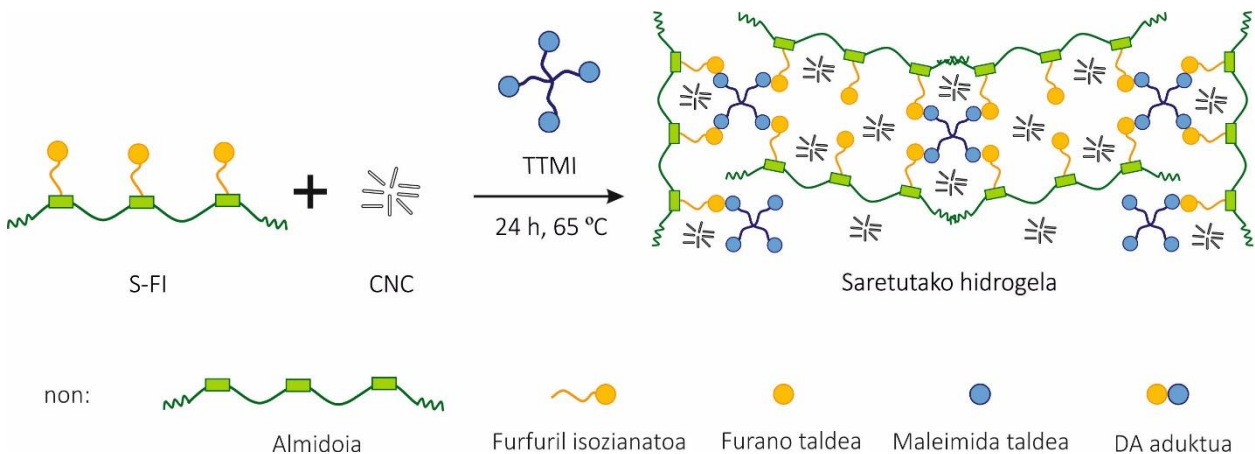


7.3. Eskema – DA saretze erreakzioa S-FI eta TTMI artean.

### 7.2.3. Diels-Alder erreakzio bidezko nanokonposite hidrogelen prestaketa

Nanokonposite hidrogelak prestatzeko CNC kantitate ezberdinak (%2,5 eta 5, S-FI+TTMI pisu totalarekiko) hidrogel matrizerara gehitu dira (7.4. Eskema). Horretarako, lehen azaldu bezala, S-FI deribatuaren 0,128 g ur distilatuan disolbatu dira (%6ean) eta, ondoren, soluzioari beharrezko CNC kantitatea aurretik ur distilatu bolumen egokian ultrasonikazioz dispertsatuta gehitu zitzaion. Orduan, TTMI saretzailearen 0,064 g gehitu eta erreakzioa aurrera eramane da 65 °C-tan 24 orduz ontzi itxian. Errefortzu gabeko hidrogelen kasuan bezalaxe, Fu:Mal pisu erlazioa 1:0,5 balioan ezarri da nanokonposite hidrogelak prestatzeko.

Saretutako nanokonposite hidrogelak HSFI4 izenarekin eta, jarraian, bakoitzaren nanokristal kantitatearekin izendatu dira, hau da, HSFI4 - 2,5CNC eta HSFI4 - 5CNC.



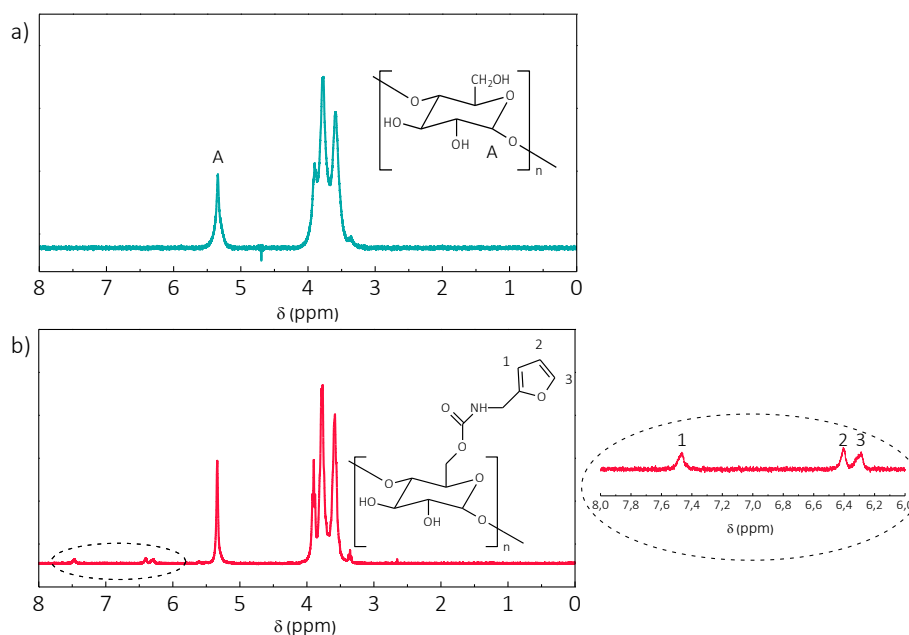
7.4. Eskema – CNCz indartutako nanokonposite hidrogelak lortzeko DA saretze erreakzioa.

### 7.3. FURANOZ ERALDATUTAKO ALMIDOIAREN SINTESIA

Almidoiaren eraldaketa furano taldeak txertatzeko gelatinizatutako almidoiaren eta furfural izozianatoaren arteko erreakzioaz burutu da. Funtzionalizazioaren arrakasta berresteko <sup>1</sup>H NMR saiakuntzak burutu dira.

### 7.3.1. Erresonantzia magnetiko nuklearra

$^1\text{H}$  NMR analisia almidoi deribatu berriaren egitura kimikoa aztertzeko eta almidoiaren eraldaketa maila (DS) kalkulatzeko erabili da. Gelatinizatutako almidoiaren eta almidoiaren deribatu furanikoaren bi  $^1\text{H}$  NMR espektroak 7.1a. and 7.1b. Irudietan aurkezten dira, hurrenez hurren.



7.1. Irudia –  $^1\text{H}$  NMR espektroak a) almidoi gelatinizatua eta b) furanoz eraldatutako almidoia; osoa (ezkerrean) eta 8 - 6 ppm tarteko magnifikazioa (eskuinean) (Temperatura = giro temperatura, disolbatzailea =  $\text{D}_2\text{O}$ )

Almidoiaren  $^1\text{H}$  NMR espektroan 5,34 ppm-tan hidrogeno  $\alpha$ -anomerikoari dagokion pikoa ikus daiteke (A pikoa 7.1a Irudian) eta 3,3 – 4,0 ppm-ko tartean seinale anitzak unitate anhidroglukosidikoaren gainontzeko sei hidrogenoei atxikitzen zaiena [2]. Eraldatutako almidoiaren espektroan (7.1b. Irudia) furano eraztunari lotutako seinale berriak ikus daitezke 7,46, 6,40 eta 6,28 ppm-tan [1,3,4]. Bibliografian jasotzen denaren arabera, almidoiaren C6 posizioiko hidroxilo talde primarioaren errektibotasuna C2 eta C3 posizioetako OH sekundarioarena baino altuagoa da [2]. Hortaz, furano taldearen txertaketa karbono horretan gertatuko dela suposa daiteke, 4,0 ppm-ko seinalearen eragina duelarik. Protoi furanikoen integrazioak hidrogeno  $\alpha$ -anomerikoaren seinalearenarekiko alderatuz almidoiaren ordezkatzeko maila (DS) kalkulatu da, 0,04ko balioa lortu

delarik. Furfuril isozianatoaren kontzentrazio handiagoeekin eraldaketa erreakzioak saiatu badira ere, DS balio altuagoak ezin izan dira lortu eta, beraz, 1:0,1 balioa optimoa bezala kontsideratu da. Guaresti eta kideek [5] eta Montiel-Herrera [6] kitosanoaren furano taldeekin eraldaketa kimikoa argitaratu zuten eta, haien kasuan, desplazamendu altuagoetan txertatu gabeko furano eraztunei zegozkien seinale txikiak aurkitu zituzten. Gure kasuan esan behar da S-FI deribatuaren espektroak ez zituela piko hauek aurkezten, furfuril isozianatoaren erreakzioa bere osotasunean eman dela eta eraldatzaile soberakinak guztiz garbituak izan direla adieraziz.

#### 7.4. LORTUTAKO HIDROGELEN ANALISIA

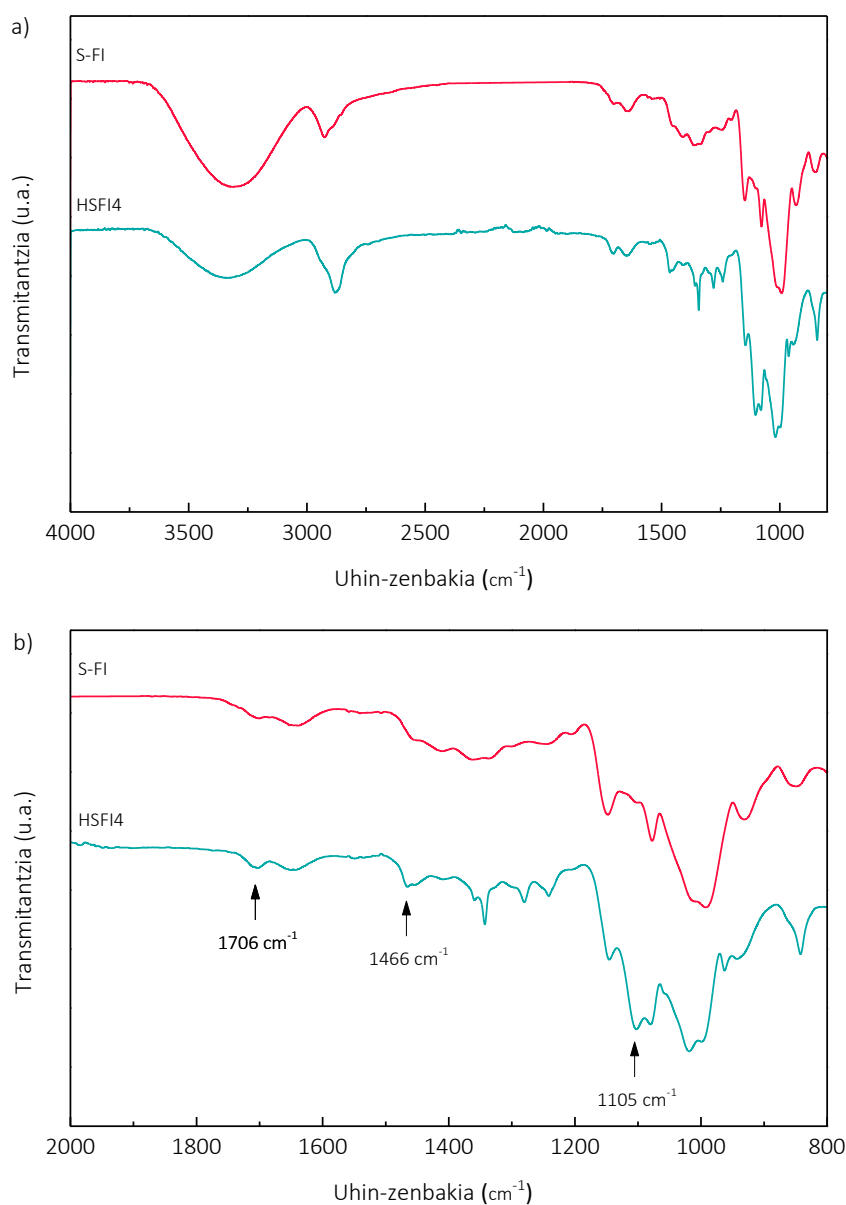
Hidrogelak gelatina deribatu furanikoarekin gure taldean burututako ikerketa lan aurrekarietan oinarrituz prestatu dira, aldaketa txikiekin [3]. Oraingoan, almidoi deribatu furanoduna bismaleimida tetrafuntzional komertzial batekin DA erreakzio bitartez saretu da. 7.2 Irudian ikus daiteken bezala lortutako hidrogelak solido elastiko itxurako material sendo bezala lortu dira, egoera hidratatuan itxura mantentzen dutelarik. DA erreakzioaren arrakasta FTIR eta UV-vis espektroskopia neurraketa bitartez frogatu da.



7.2. Irudia – Sintetizatutako DA hidrogelaren azken itxura.

##### 7.4.1. Fourier transformadun infragorri espektroskopia

Aipatu bezala, lortutako hidrogelak infragorri espektroskopiaz analizatu dira. Hidrogelen eta S-FI deribatuen espektroak 7.3. Irudian aurkezten dira.



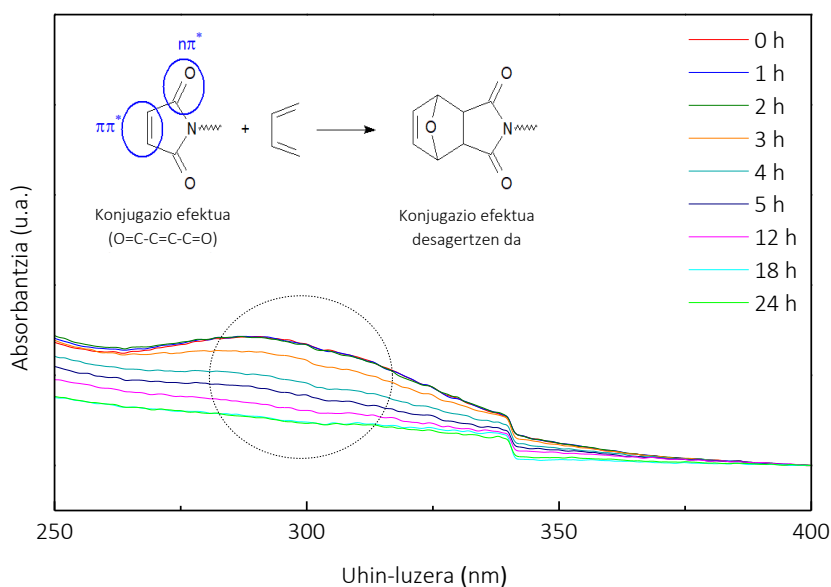
7.3. Irudia – S-FI eta saretutako almidoizko hidrogelaren FTIR espektroak: a) 4000 - 600 cm<sup>-1</sup> tartea eta b) 2000 - 600 cm<sup>-1</sup> bitarteko magnifikazioa, giro tenperaturan.

Ikus daitekeen bezala, hidrogelaren espektroan maleimidaren karbonilo (C=O) taldeei dagokien seinale berria desberdindu daiteke 1706 cm<sup>-1</sup>-tan [7]. Horretaz gain, DA aduktuari dagozkien piko berriak ere ikus daitezke. Alde batetik, 1466 cm<sup>-1</sup>-tan ageri den pikoa DA aduktuaren lotura bikoitzaren (C=C) luzatze bibrazioari atxikitzen zaio [5,8–10]. Bestalde, 1105 cm<sup>-1</sup>-tan zentratutako seinalea DA zikloaren eter zubiaren (C-O-C) luzapen bibrazioari dagokio [7]. Hala ere,

zonalde berdinean batera agertzen diren seinale ugariak direla eta zaila da DA erreakzioaren frogapen zurrta FTIR espektroetan soilik oinarrituz.

#### 7.4.2. Espektroskopia ultramorea-ikuskorra

DA erreakzioa berresteko helburuarekin, furanoz eraldatutako almidoia eta BMI arteko erreakzioa UV-vis espektroskopiaz jarraitu da, tenperaturaren kontrolerako gailua erabiliz, 65 °C-tan 24 orduz eta 30 minuturo espektroak jasoz. 7.4. Irudian lortutako UV-vis espektroen sorta ikusgai da.



7.4. Irudia – DA erreakzioaren garapenaren UV-vis espektroak 65 °C.

DA zikloadizioan, saretzailearen maleimida taldeek almidoi kateetan txertatutako furano taldeekin erreakzioa emango dute, bien artean DA aduktua sortuz. Horrela, erreakzioa aurrera doan ahala, maleimida talde askeak gutxitzea espero da. Maleimida taldeek ultramorea-ikuskor uhin-luzera eremuan absorbantzia seinalea aurkezten dute, bere maximoa 300 nm inguruan [3,11] kokatu ohi dena, zikloaren  $\pi\pi^*$  lotura bikoitza (C=C) eta bi  $n\pi^*$  karboniloen (C=O) konjugazio efektuen ondorioz [7,12]. Hori dela eta, DA erreakzioaren berrespena aipatutako seinalearen absorbantziaren

jarraipenaren bitartez lor daiteke, konjugazioaren desagerpena emango baita aduktua sortzearekin batera [11,13,14].

7.4. Irudian ikus daitekeen bezala, hasieran nabarmena den maleimidaren absorbantzia pikoaren desagerpen progresiboa gertatzen da, 24 orduko erreakzio denbora pasa ondoren seinalea guztiz desagertu delarik, maleimida taldeen kontsumoa eta DA aduktuaren sorrera adieraziz.

## **7.5. ZELULOSA NANOKRISTALDUN NANOKONPOSITE HIDROGELEN ANALISIA**

Nanokonposite hidrogelak CNC nanoerrefortzu moduan erabiliz prestatu dira, %2,5 eta 5eko proportzioetan. Zelulosa nanokristal kantitate handiagoen gehikuntza saiatu den arren, %5 baino altuagoko konposizioak ezin izan dira prestatu nahastearen likatasun eta heterogeneotasunaren ondorioz. Aurreko kapituluetan (4. eta 5. Kapituluak) ikusi den nanokristalen matrizearekiko bateragarritasuna eta dimentsio nanoskopikoak direla eta, CNCen gehikuntzak garatutako hidrogelaren propietate mekanikoetan laguntzea espero daiteke eta, aldi berean, puzte eta botika askapeneko zinetika profilak moldatzea. Horrela, CNC kantitatearen eragina hidrogelaren portaera erreologikoan, puzte gaitasunean eta barne mikroegituran aztertu da. Azkenik, hidrogelen botika askapen profilak eta zیتotoxikotasuna ere ikertu dira.

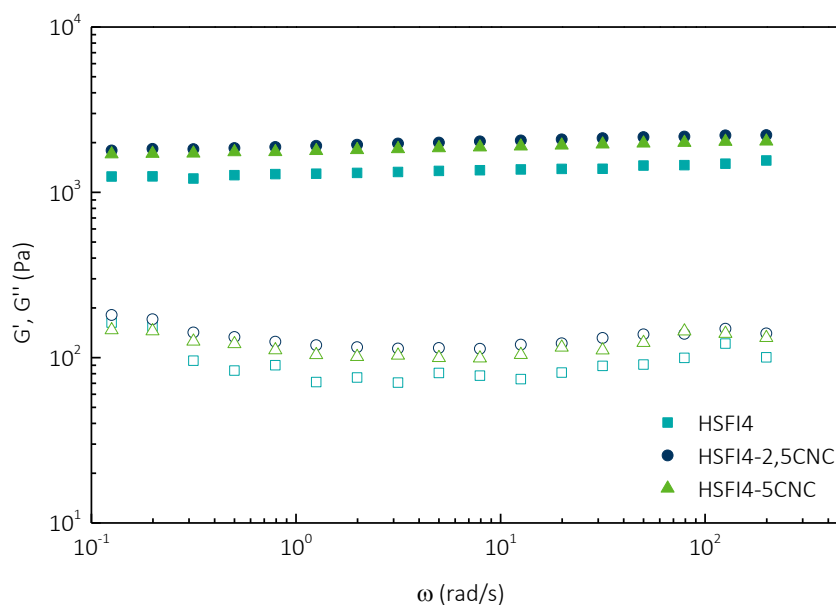
### **7.5.1. Portaera erreologikoa**

Nanoerrefortzu gabeko eta CNCez indartutako hidrogelen biskoelastikotasuna neurketa erreologiko bitartez aztertu da. Lehenik, hidrogelen biskoelastikotasun linealaren zonaldea, non, bai pilatze-modulua ( $G'$ ) bai galera-modulua ( $G''$ ) deformazioarekiko independente diren, maiztasun konstantepean deformazio ekorketak burutuz finkatu da. Neurketa hauen emaitzetan oinarrituz, %1eko deformazio balioa erabaki da maiztasun ekorketak aurrera eramateko. Lortutako  $G'$  eta  $G''$  maiztasunaren aurreko kurbak 7.5. Irudian aurkezten dira.



Ikus daitekeen bezala, hidrogel guztiek gel solido saretuek aurkeztu ohi duten kurba erakutsi dute, non,  $G'$  balio konstante batean mantentzen da erabilitako maiztasun tarte osoan zehar eta beti  $G''$  baino altuagoa [15]. Emaitzei begira, hidrogelak elkarrekintza fisiko-kimikoz gain lotura kobalentez ere eratutako sare elkargurutzatua osatzen dutela ondorioztatu da, material sendo eta zurruna bezala ageriz [17].

Bestalde, espero bezala, CNCen gehikuntzak  $G'$  moduluaren igoera eragiten du, 1381 Pa-eko balioa matrizearentzat eta 2011 Pa-koa HSF14-5CNC hidrogelarentzat neurtu direlarik. Izan ere, DA erreazioaren ondorioz CNCak sortzen ari den hidrogelaren sare polimerikoan barruan atzituak gelditzen dira eta bai CNCen eta bai almidoi kateen OH taldeen arteko hidrogeno zubi intermolekular eraginkorrak suertatuko dira. Aipatu beharra dago, gure taldean gelatina matrizearekin burututako aurretiazko lan batean, CNCen gehikuntza hutsak, hauen gainazaleko eraldaketa kimiko gabe alegia, ez zituela hidrogelaren pilatze moduluaren balioen hobekuntzak eman [16]. Berriki, Kumar eta kideek [18] poliakrilamida/karboximetil zelulosaz osatutako hidrogela garatu zutenean, %2,5eko CNC kantitaterekin ere ez zuten  $G'$ ren balioan igoerarik nabaritu. Gure kasuan, pilatze moduluaren igoera neurtu da eraldatu gabeko CNCen gehikuntzaz ere, almidoia eta CNCen arteko bateragarritasuna frogatuz, eta, gainera, hidrogelaren solido elastiko portaera erabilitako maiztasun balio baxuenetan ere nabarmena da, DA lotura kobalente egonkorrek direla eta. Horrela, CNCek hidrogelaren elastikotasunean izan duten kontribuzioa frogatu da nanokristalen presentzia sare polimerikoa osatzen duen matrizearen sendotasunean eraginez [17].



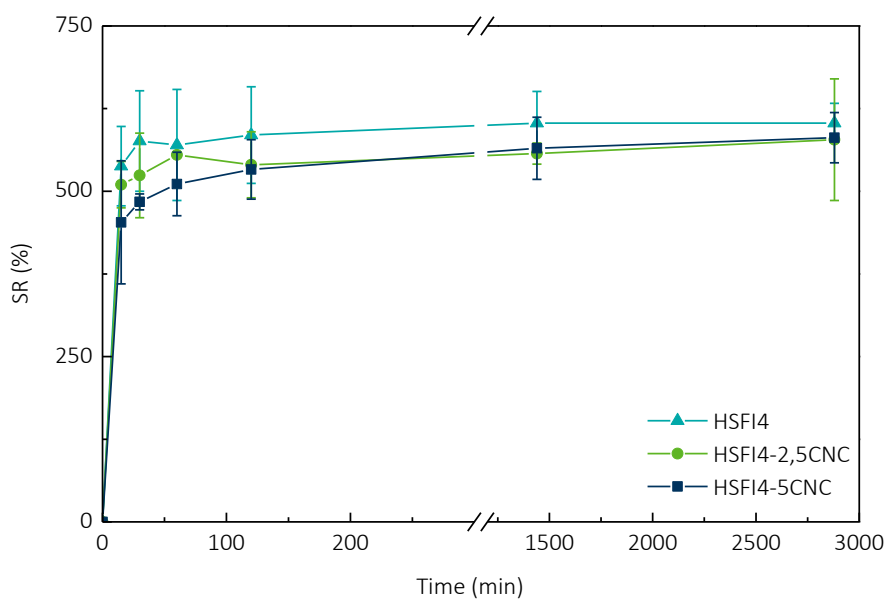
7.5. Irudia – ■ HSF14, ● HSF14-2,5CNC eta ▲ HSF14-5CNC hidrogelen maiztasun ekorketak:  $G'$  (ikur beteak) eta  $G''$  (ikur hutsak). Baldintzak: 37 °C and %1.

### 7.5.2. Puzte gaitasuna

Hidrogelek duten puzteko gaitasuna hauen karakterizaziorako propietate garrantzitsuenetariko bat da [19,20], biomedikuntzaren arloko aplikazioen baterako zuzendua badago batez ere [21]. Almidoizko CNCdun nanokonposite hidrogelen puzte gaitasuna grabimetrikoki determinatu da, liofilizatutako laginak ( $n=3$ ) hestearen isurkina simulatzen duen tanpoi soluzioan (fosfato tanpoi soluzioa (PBS)), 7,4 pHan eta 37 °C-tan puztuz. SR puzte maila, pisu igoera balioak denbora tarte ezberdinetan hartuz eta 2.10. Ekuazioa aplikatuz kalkulatu da. Lortutako puzte kurbak 7.6. Irudian aurkezten dira.

Lagin guztien puzte kurbek bi puzte abiadura aurkezten zituztela ikusi da. Hasierako denbora tartean SR balioa oso azkar handitzen da, bigarren etapa batean mantsoago igotzen delarik bukaeran hidrogelak bereganatu ahal duen isurkin guztia jaso arte, hau da, orekara iritsi arte. 7.6. Irudian ikus daitekeen bezala, orekako SR balioa lehenago lortu da errefortzu gabeko hidrogellean eta, aldi berean, lehenengo periodoaren SR balio maximoa aurkeztu du.

Bestalde, CNCen gehikuntzarekin SR maximoaren balioa jaitsi egin dela ikusi ahal da. Jakina denez, [3,7,16,22], hidrogelen puze gaitasuna aldagai askoren menpe dago, bai kanpo baldintza eta estimuluei dagozkienak (indar ionikoa, pH edo tenperatura) eta bai polimeroaren izaerari lotuak daudenak, hau da, hidrofilotasuna, kontzentrazioa, saretze dentsitatea eta porotasuna, besteak beste. Lortutako emaitzak beste egileek argitaratutakoekin bat datoz [23,24], zeinetan polisakaridoetan oinarritutako hidrogelen SR maximoa txikitzen da CNC kantitatearekin bat. CNCen eta polisakarido kateen, almidoia gure kasuan, arteko hidrogeno zubi elkarrekintza sendoek sare polimerikoaren mugikortasuna txikitzen duela onartzen da [23] eta, bide batez, soluzio urtsuaren barneratzea hidrogellean barrena saihesten da.



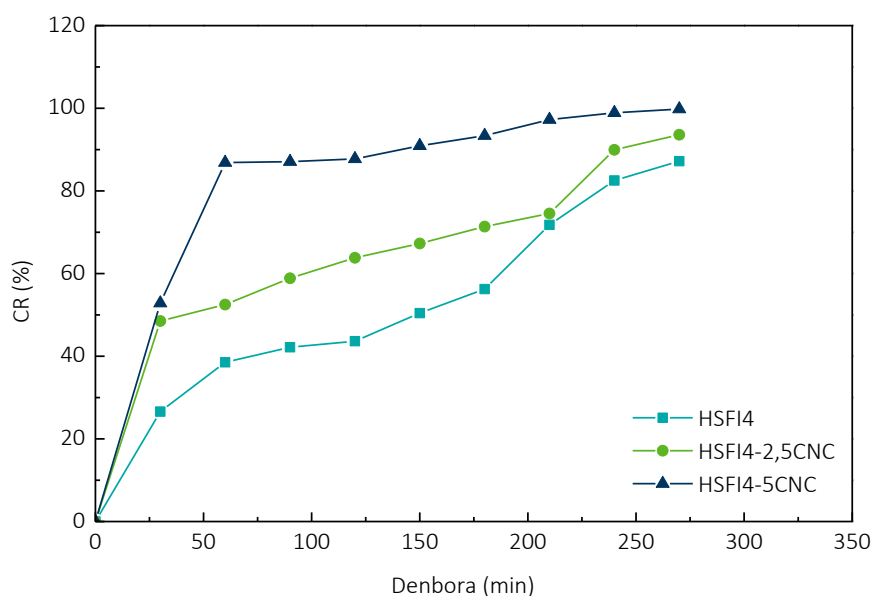
7.6. Irudia – HSF14, HSF14-2,5CNC eta HSF14-5CNC hidrogelentzat lortutako SR (%) vs denbora kurbak, PBSan 37 °Ctan.

### 7.5.3. Botika askapena

Sintetizatutako hidrogelek botiken askapen jarraitu baterako aurkezten duten gaitasuna aztertu da. Hidrogelak kloranfenikol (ClPh) espektro zabaleko antibiotikoarekin kargatu dira 2. Kapituluaren deskribatutako prozedura jarraituz. Hidrogellean kargatutako botika kopurua hiru hidrogelen artean antzekoa izan da, 1,58, 1,57 eta 1,61 mg ClPh g<sup>-1</sup> hidrogeleko, matrizea eta %2,5 eta 5eko CNC

edukiz indartutako hidrogelentzat, hurrenez hurren. Botikaren askapen zinetika 37 °C-tan 4 orduz jarraitu da PBSn (hesteen pH baldintzak simulatuz). Saiakuntzan inguruneko alikuota bat hartu eta UV-vis espektroskopiaz analizatzen da 30 minuturo, jarraian lagina berriro saiakuntza ingurunera bueltatuz. Lortutako botika askapen profilak (CR) 7.7. Irudian aurkezten dira.

Irudian ikus daitekeen bezala, kasu guztietan botikaren askapen kontrolatu eta jarraitua lortu bazen ere, hidrogelen profilen artean ezberdintasunak aurkitu dira. Izan ere, nanoerrefortzurik gabeko hidrogel hutsaren kasuan CR profila jarraituagoa izan da, CR balio maximo altuagoak eta kurba maldatsuagoak erregistratu direlarik nanokonposite hidrogelentzat.



7.7. Irudia – HSF14, HSF14-2,5CNC eta HSF14-5CNC hidrogelen botika askapen profilak, PBSan 37 °C-tan.

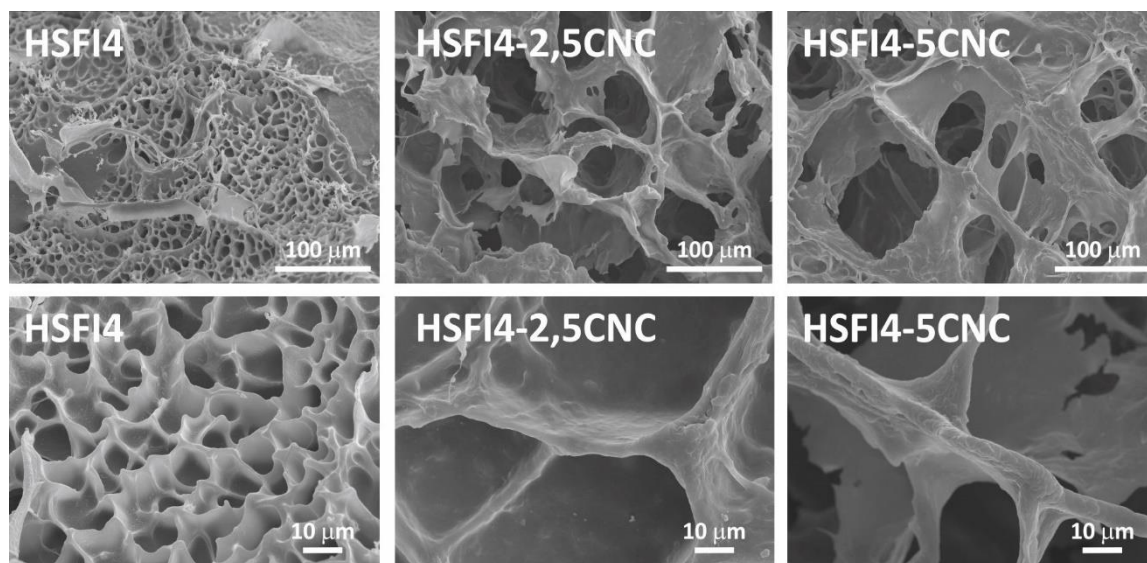
#### 7.5.4. Ekorketa bidezko mikroskopia elektronikoa

Botiken askapenean erabilgarri izateko hidrogelaren morfologia, barne egitura porotsua eta poro hauen tamaina eta banaketa aldagai erabakigarriak dira [23]. Izan ere, mikroegitura porotsu interkonektatua desiragarria da botika garraiatzaileetan [3], egitura porotsuek intereseko molekulen garraio eta askapena bermatzen baitute [25]. Beraz, errefortzu gabeko hidrogel matrize eta nanokonposite hidrogelen mikroegitura SEM bitartez analizatu da, uretan puztu ostean

lioofilizatutako laginetan. Orokorrean onartu izan ohi da, puztuta dauden hidrogel laginetan domeinu interkonektatuetan urak okupatzen duen espazioa liofilizatu ostean egitura porotsua izatera pasako dela izotz kristalen sorreraren ondorioz [9]. 7.8. Irudian lortutako hidrogelen SEM mikrografiak aurkezten dira.

Irudietan ikus daitekeen bezala, kasu guztietan interkonektatutako mikroegitura porotsua lortu da. Hala ere, poro tamaina CNC kantitatearengatik erabat baldintzatua zegoela ikus daiteke, CNC kantitatearekin bat poro tamaina handiagoa lortzen delarik. Horrela, %5eko CNC konposizioko hidrogelarentzat 90  $\mu\text{m}$  inguruko poro tamaina neurtu da, matrizearentzat 10  $\mu\text{m}$  ingurukoa den bitartean. Beste zenbait autoreek efektu berdina ikusi izan dute zelulosa eta kitina NCez indartutako ziklodextrina/blokeko kopolimeroz sintetizatutako hidrogelekin [17], bai poro tamaina eta bai pareta loditasuna NC kantitatearekin bat handitzen dela ondorioztatuz. Dirudenez, hidrogelaren sorrera prozesuan CNCen eta almidoiaren arteko hidrogeno zubiek sare polimerikoaren paketatzea saihesten dute eta, ondorioz, azken poro tamaina handiagoa suertatzen da nanokonposite hidrogeletan.

Hidrogelaren barne morfologian eta poro tamainan CNCek duten eragin honek aurretik puzte gaitasunean eta botika askapen profiletan aurkitutako gertakizunekin erlazionatua egon daiteke. Izan ere, poro tamaina eta banaketa botika askapenean aurkeztutako profilarekin erlazionatua dago, baita puzte gaitasunarekin ere [23]. SEM irudiek erakutsi bezala, CNC kantitatearen igoerarekin bat poro tamaina handiagoa lortzen da eta hau botika askapenean nanokonposite hidrogelentzat ikusitako hasierako pirrinta edo *burst* efektuarekin erlazionatu daiteke, matrizeak aurkezten duen kurba jarraituagoarekin konparatuz. Pirrinta edo *burst* efektua gainazalean edo kanpoaldeko geruzetan zegoen botikaren askapenari atxikitzen zaio, hidrogelaren barrualderaino absorbatu denarekin baino [26].

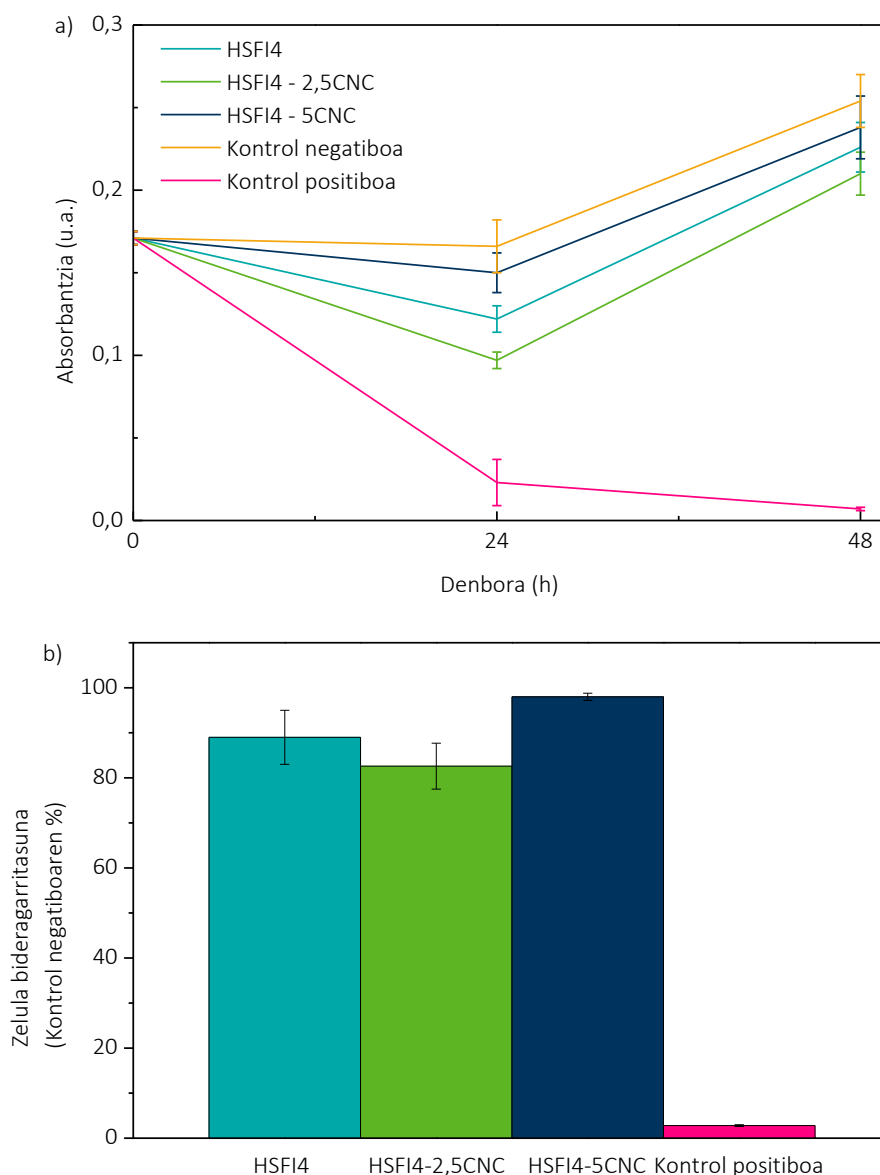


7.8. Irudia – HSF14, HSF14-2,5CNC eta HSF14-5CNC hidrogelaren mikroegitura porotsuen SEM mikrografiak.

#### 7.5.5. Zitotoxikotasuna

Hidrogel hauek biomedikuntzaren eremuan botika garraiatzaile bezala izan dezaketen aplikagarritasunari begira, arratoien L 929 fibroblasto zelulen *in vitro* bideragarritasun eta ugaltze saiakuntzak burutu dira, 24 eta 48 ordutan zehar, zitotoxikotasuna ebaluatzearen. Lortutako emaitzak 7.9a. eta 7.9b. Irudietan aurkezten dira.

Emaitzen arabera aztertutako hidrogelaren izaera ez toxikoa konfirmatzen da, zelulen hazkuntza bermatzen delarik. Hidrogelek kontrol negatiboarekin lortutako ugalketa kurba gorakorren patroia berdina azaldu dute (7.9a. Irudia), kontrol positiboaren ugalketa kurbaren malda beherakorren kontrako zentzuan, alegia. Aipatu bezala, zelulen ugalketa saiakuntzak 48 ordutara ere ebaluatua izan da onargarria den %70eko muga-balioa (kontrol negatiboarekiko, ISO 10993-12) baino zelula bideragarritasun balio altuagoak lortu direlarik, zehazki, %89,0, 82,6 eta 98,0eko balioak matrize hidrogela eta HSF14-2,5CNC eta HSF14-5CNC nanokonpositeentzat, hurrenez hurren (7.9b. Irudia). Hortaz, lortutako emaitzei begira sintetizatutako hidrogelak biobateragarri bezala kontsideratu daitezke, eta, beraz, hautagai egokiak biomedikuntzarekin lotutako aplikazioetarako.



7.9. Irudia – (a) Kontrol positiboa, negatiboa eta HSF14, HSF14-2,5CNC eta HSF14-5CNC hidrogelak 540 nm-tan lortutako absorbantzia balioak inkubazio denboraren aurrean eta b) L-929 fibroblasto zelulen bideragarritasuna kontrol positiboa, negatiboa eta HSF14, HSF14-2,5CNC eta HSF14-5CNC hidrogelen 48 h-ko estraktuetan.

## 7.6. ONDORIOAK

Almidoizko hidrogel nanokonposateak modu arrakastatsuan prestatu dira DA klik erreakzio bitartez, funtzionalizatutako almidoi deribatu furanikoaren (S-FI) eta maleimida sarezaile tetrafuntzionalaren (TTMI) artean. Almidoiaren funtzionalizazioa  $^1\text{H}$  NMR bitartez berretsi da. Bestalde, DA erreakzioa FTIR eta, batez ere, UV-vis espektroskopia neurketen bidez frogatu da.

CNC kontzentrazio ezberdineko (%2,5 and 5ean) nanokonposite hidrogelak prestatu dira metodologia berdina jarraituz. Nanokonposite hidrogelen karakterizazioaren emaitzetan ikusi bezala, CNCen gehikuntzak matrizearen pilatze moduluaren igoera eta SR balioen jaitziera eragin du, materialaren botika askapen zinetika profilean eta hidrogelaren barne morfologian aldaketa nabarmenak sortuz, poro handiago eta pareta lodiagoekin, alegia. Azkenik prestatutako hidrogel guztiek portaera ez toxikoa dutela frogatu ahal izan da, hauen aplikagarritasuna biomedikuntzaren eremuan botiken garraio eta askapenerako sistema bezala ondorioztatu daitekeelarik.

## **7.7. ERREFERENTZIAK**

- [1] T.S. Nossa, N.M. Belgacem, A. Gandini, A.J.F. Carvalho, Thermoreversible crosslinked thermoplastic starch, *Polym. Int.* 64 (2015) 1366–1372. doi:10.1002/pi.4925.
- [2] T. Jordan, S. Schmidt, T. Liebert, T. Heinze, Molten imidazole – a starch solvent, *Green Chem.* 16 (2014) 1967. doi:10.1039/c3gc41818a.
- [3] C. García-Astrain, A. Gandini, C. Peña, I. Algar, A. Eceiza, M. Corcuera, N. Gabilondo, Diels–Alder “click” chemistry for the cross-linking of furfuryl-gelatin-polyetheramine hydrogels, *RSC Adv.* 4 (2014) 35578. doi:10.1039/C4RA06122E.
- [4] C. García-astrain, R. Hernández, O. Guaresti, L. Fruk, C. Mijangos, A. Eceiza, N. Gabilondo, Click crosslinked chitosan/gold nanocomposite hydrogels, *Macromol. JOurnals.* 301 (2016) 1295–1300. doi: 10.1002/mame.201600247.
- [5] O. Guaresti, C. García–Astrain, T. Palomares, A. Alonso–Varona, A. Eceiza, N. Gabilondo, Synthesis and characterization of a biocompatible chitosan–based hydrogel cross–linked via ‘click’ chemistry for controlled drug release, *Int. J. Biol. Macromol.* 102 (2017) 1–9. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.04.003.
- [6] M. Montiel-Herrera, A. Gandini, F.M. Goycoolea, N.E. Jacobsen, J. Lizardi-Mendoza, M. Recillas-Mota, W.M. Argüelles-Monal, N-(furfural) chitosan hydrogels based on Diels-Alder cycloadditions and application as microspheres for controlled drug release, *Carbohydr. Polym.* 128 (2015) 220–227. doi:10.1016/j.carbpol.2015.03.052.
- [7] C. García-Astrain, I. Algar, A. Gandini, A. Eceiza, M.Á. Corcuera, N. Gabilondo, Hydrogel synthesis by aqueous Diels-Alder reaction between furan modified methacrylate and polyetheramine-based bismaleimides, *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* 53 (2015) 699–708. doi:10.1002/pola.27495.
- [8] C.M. Nimmo, S.C. Owen, M.S. Shoichet, Diels-alder click cross-linked hyaluronic acid hydrogels for tissue engineering, *Biomacromolecules.* 12 (2011) 824–830. doi:10.1021/bm101446k.
- [9] M. Fan, Y. Ma, Z. Zhang, J. Mao, H. Tan, X. Hu, Biodegradable hyaluronic acid hydrogels to



control release of dexamethasone through aqueous Diels-Alder chemistry for adipose tissue engineering, *Mater. Sci. Eng. C*. 56 (2015) 311–317. doi:10.1016/j.msec.2015.04.004.

- [10] O. Guaresti, C. García-Astrain, R.H. Aguirresarobe, A. Eceiza, N. Gabilondo, Synthesis of stimuli-responsive chitosan-based hydrogels by Diels–Alder cross-linking ‘click’ reaction as potential carriers for drug administration, *Carbohydr. Polym.* 183 (2018) 278–286. doi:10.1016/j.carbpol.2017.12.034.
- [11] T. Engel, G. Kickelbick, Thermoreversible reactions on inorganic nanoparticle surfaces: Diels-alder reactions on sterically crowded surfaces, *Chem. Mater.* 25 (2013) 149–157. doi:10.1021/cm303049k.
- [12] A. Gandini, D. Coelho, A.J.D. Silvestre, Reversible click chemistry at the service of macromolecular materials. Part 1: Kinetics of the Diels-Alder reaction applied to furan-maleimide model compounds and linear polymerizations, *Eur. Polym. J.* 44 (2008) 4029–4036. doi:10.1016/j.eurpolymj.2008.09.026.
- [13] A. Gandini, D. Coelho, M. Gomes, B. Reis, A. Silvestre, Materials from renewable resources based on furan monomers and furan chemistry: work in progress, *J. Mater. Chem.* 19 (2009) 8656. doi:10.1039/b909377j.
- [14] C. Vilela, L. Cruciani, A.J.D. Silvestre, A. Gandini, Reversible polymerization of novel monomers bearing furan and plant oil moieties: a double click exploitation of renewable resources, *RSC Adv.* 2 (2012) 2966. doi:10.1039/c2ra20053h.
- [15] B. Mandal, A.P. Rameshbabu, S.R. Soni, A. Ghosh, S. Dhara, S. Pal, In situ silver nanowire deposited cross-linked carboxymethyl cellulose: A potential transdermal anticancer drug carrier, *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 9 (2017) 36583–36595. doi:10.1021/acsami.7b10716.
- [16] C. García-Astrain, K. González, T. Gurrea, O. Guaresti, I. Algar, A. Eceiza, N. Gabilondo, Maleimide-grafted cellulose nanocrystals as cross-linkers for bionanocomposite hydrogels, *Carbohydr. Polym.* 149 (2016) 94–101. doi:10.1016/j.carbpol.2016.04.091.
- [17] X. Zhang, J. Huang, P.R. Chang, J. Li, Y. Chen, D. Wang, J. Yu, J. Chen, Structure and properties of polysaccharide nanocrystal-doped supramolecular hydrogels based on Cyclodextrin inclusion, *Polymer (Guildf)*. 51 (2010) 4398–4407. doi:10.1016/j.polymer.2010.07.025.
- [18] A. Kumar, K.M. Rao, S.S. Han, Mechanically viscoelastic nanoreinforced hybrid hydrogels composed of polyacrylamide, sodium carboxymethylcellulose, graphene oxide, and cellulose nanocrystals, *Carbohydr. Polym.* 193 (2018) 228–238. doi:10.1016/j.carbpol.2018.04.004.
- [19] G.-F. Wang, H.-J. Chu, H.-L. Wei, X.-Q. Liu, Z.-X. Zhao, J. Zhu, Click synthesis by Diels-Alder reaction and characterisation of hydroxypropyl methylcellulose-based hydrogels, *Chem. Pap.* 68 (2014). doi:10.2478/s11696-014-0574-2.
- [20] H.L. Wei, Z. Yang, Y. Chen, H.J. Chu, J. Zhu, Z.C. Li, Characterisation of N-vinyl-2-pyrrolidone-based hydrogels prepared by a Diels-Alder click reaction in water, *Eur. Polym. J.* 46 (2010) 1032–1039. doi:10.1016/j.eurpolymj.2010.01.025.
- [21] F. Yu, X. Cao, Y. Li, L. Zeng, J. Zhu, G. Wang, X. Chen, Diels–Alder crosslinked HA/PEG hydrogels with high elasticity and fatigue resistance for cell encapsulation and articular

- cartilage tissue repair, *Polym. Chem.* 5 (2014) 5116–5123. doi:10.1039/C4PY00473F.
- [22] F. Yu, X. Cao, L. Zeng, Q. Zhang, X. Chen, An interpenetrating HA/G/CS biomimic hydrogel via Diels-Alder click chemistry for cartilage tissue engineering, *Carbohydr. Polym.* 97 (2013) 188–195. doi:10.1016/j.carbpol.2013.04.046.
- [23] X. Yang, E. Bakaic, T. Hoare, E.D. Cranston, Injectable polysaccharide hydrogels reinforced with cellulose nanocrystals: Morphology, rheology, degradation, and cytotoxicity, *Biomacromolecules.* 14 (2013) 4447–4455. doi:10.1021/bm401364z.
- [24] K. Madhusudana Rao, A. Kumar, S.S. Han, Polysaccharide based bionanocomposite hydrogels reinforced with cellulose nanocrystals: Drug release and biocompatibility analyses, *Int. J. Biol. Macromol.* 101 (2017) 165–171. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.03.080.
- [25] X. Bai, S. Lü, Z. Cao, B. Ni, X. Wang, P. Ning, D. Ma, H. Wei, M. Liu, Dual crosslinked chondroitin sulfate injectable hydrogel formed via continuous Diels-Alder (DA) click chemistry for bone repair, *Carbohydr. Polym.* 166 (2017) 123–130. doi:10.1016/j.carbpol.2017.02.062.
- [26] A.I. Freeman, E. Mayhew, Targeted drug delivery, from Nanomaterials for Medical Applications. 1986. doi: 10.1016/B978-0-12-385089-8.00005-4



## **8. KAPITULUA:**

**SARETURIKO ALMIDOI ETA  
GRAFENOAN OINARRITURIKO  
NANOKONPOSITE  
HIDROGELAK**



## **8. SARETUTAKO ALMIDOI ETA GRAFENOAN OINARRITUTAKO NANOKONPOSITE HIDROGELAK**

### **8.1. HELBURUA**

Kapitulu honetan almidoian oinarritutako saretutako hidrogelak lortu dira furano taldeez eraldatutako almidoia (S-FI) eta bismaleimidaren (BMI) arteko erreakzioz, pisu erlazio ezberdinetan. Bestalde, hidrogelari grafeno (G) nanoxaflak gehitu zaizkie propietate bereziak emateko asmoz, hala nola, eroankortasun elektrikoa eta propietate antimikrobianoak.

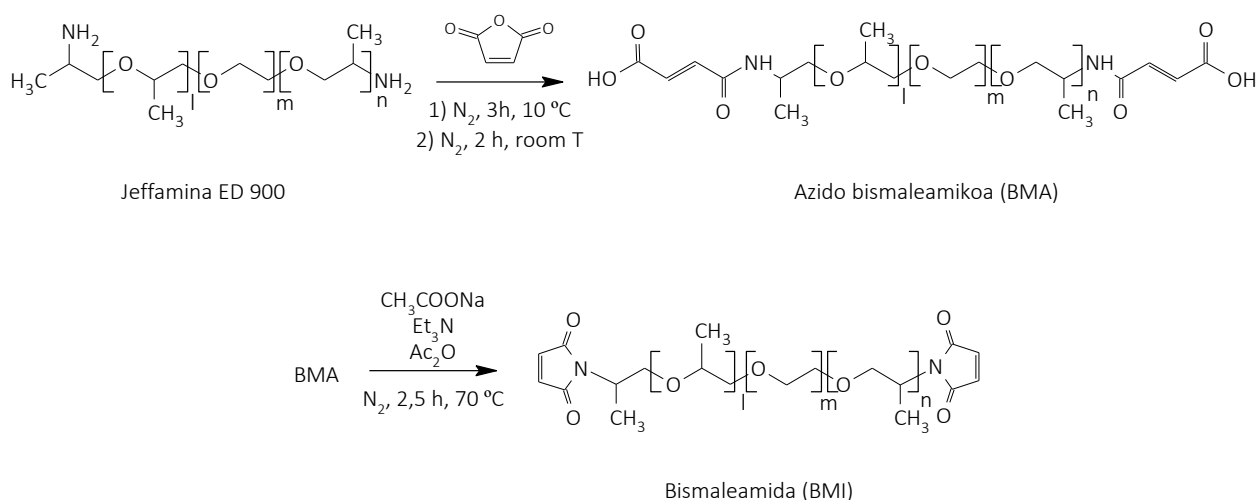
Horrela, saretutako hidrogelak DA erreakzio bitartez prestatu dira ingurune urtsuan, furanoz eraldatutako almidoia (7.2.1. Ataleko prozeduraz sintetizatua) eta propio sintetizatutako uretan disolbagarri den bismaleimida saretzailearen artean. Hidrogelaren saretze maila furano/maleimida (Fu:Mal) erlazioaren menpekoa izango dela aurrenez, saretze kantitate ezberdineko hidrogelak sintetizatu dira hauen propietate bereizgarrietan duen eragina aztertu delarik, nagusiki, portaera erreologikoan, puze gaitasunean eta morfologian. Gainera, nanokonposite hidrogelak prestatu dira G nanoerrefortzu eroale moduan erabiliz eta *Salvia* landare estraktuak grafenoaren ur-dispersio egonkortzaile gisa gehituz. Garen gehikuntzaren eragina hidrogelaren portaera mekanikoan, morfologian eta propietate antimikrobiano eta elektrikoetan aztertu da.

### **8.2. SARETUTAKO ALMIDOIZKO HIDROGELEN LORPENA**

#### **8.2.1. Bismaleimida saretzailearen sintesia (BMI)**

Uretan disolbagarria den BMI saretzailea sintetizatzeko gure taldean aurretik garatutako sintesi prozedura jarraitu da [1]. Erreakzioa 8.1. Eskeman pausoka azaltzen da. Laburki, 25,87 mmol Jeffamine® ED 900 kloroformoan disolbatutako anhidrido maleiko (50,97 mmol) 50 mL-ra tantaka gehitu dira. Erreakzioa aurrera eraman da 3 orduz 10 °C-tan nitrogenozko atmosfera inertepean. Ondoren, produktua irabiaketa magnetikoan eta giro tenperaturari mantendu da 2 orduz, jarraian

hutsunean lehortu delarik. Bitarteko produktuaren 4,56 mmol, azido bismaleamikoa hain zuzen ere, trietilamina (2,96 mmol) eta sodio azetato trihidratatuarekin (3,47 mmol) 10 mL azetonan nahastu dira nitrogeno atmosfera inertepean. Nahasteari anhidrido azetikoa gehitu (28,96 mmol) eta erreakzioa 2,5 orduz 70 °C-tan burutu da. Azkenik, BMI saretzailea hutsune bidezko lurrunketaz lortu da.



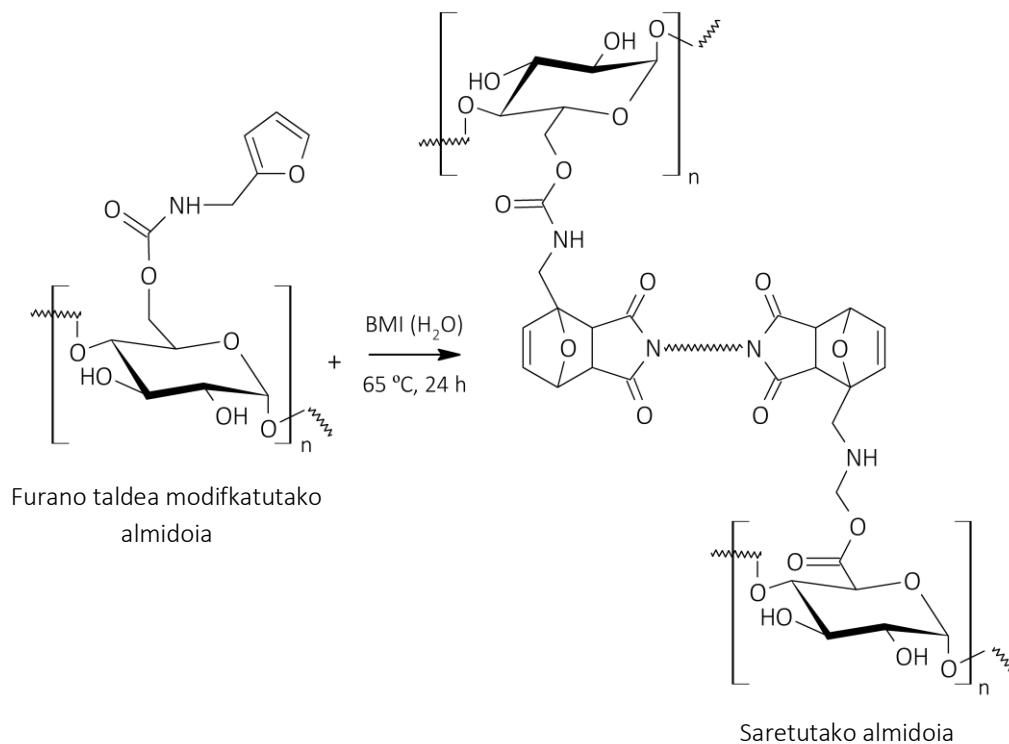
### 8.1. Eskema – BMI saretzailearen sintesia.

#### 8.2.2. Hidrogelaren sintesia S-FI eta BMI arteko DA erreakzioaren bitartez

Almidoizko hidrogelak S-FI eta BMI artean aurrera eramandako DA erreakzio bitartez lortu dira. DA erreakzioa 8.2. Eskeman ilustratzen da. S-FI almidoia furanodun deribatuaren sintesia 7.2.2. Atalean azaldutako prozedura jarraituz burutu da. BMI saretzailearen kantitate egokia eta S-FI deribatuaren disoluzio urtsuaren nahastea 65 °C-tan 24 orduz erreakzionarazi dira, hidrogela lortuz.

Fu:Mal pisu erlazioa aldatuz hiru S-FI:BMI hidrogel ezberdin prestatu dira, 1:0,5; 1:1,0 eta 1:1,5. S-FI/Jeffamine® ED 900 1:0,5 pisu erlazioko erreferentzi hidrogela ere prozedura berdina jarraituz prestatu da (kontrola). Lortutako hidrogelak HSFI izenez eta ondoren saretzailearen funtzionalitateaz (kapitulu honetan saretzailea bifuntzionala da) izendatuak izan dira, jarraian erabili

den Fu:Mal pisu erlazioa adieraziz. BMI kantitatearen eragina ebaluatzearen, hidrogelak prestatu bezala karakterizatuak izan dira.



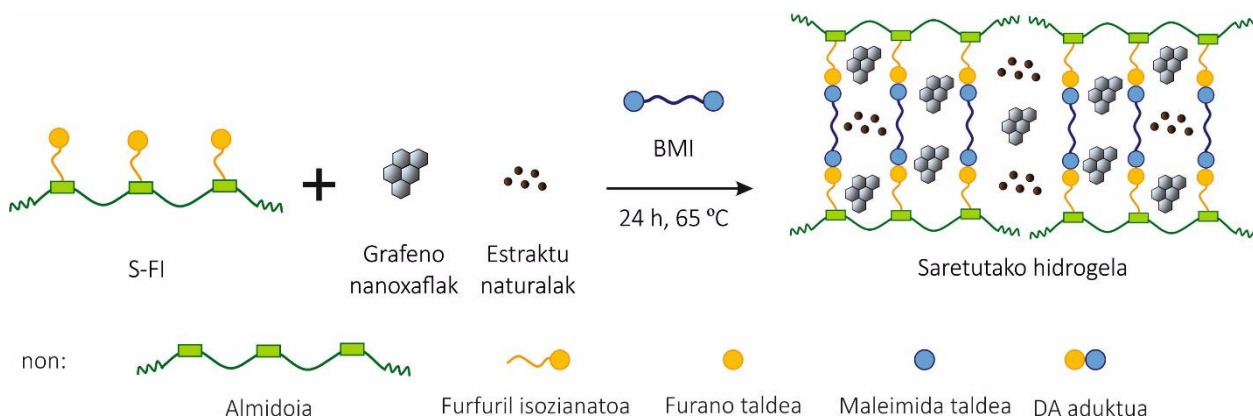
8.2. Eskema – DA saretze erreakzioa S-FI eta BMI artean.

### 8.2.3. Nanokonposite hidrogelen prestakuntza DA erreakzio bitartez

Nanokonposite hidrogelak erreakzio ingurunean G nanoxaflak gehituz prestatu dira. Grafitoaren esfoliazioa 4.2.2.1. Atalean azaldutako prozedura jarraituz burutu da, *Salvia* landarearen estraktuak 6.2.1. Atalean deskribatutako infusio metodoaz lortu direlarik..

Lehenik, G eta *Salvia* estraktuen dispersio urtsua ultrasonikazioz prestatu da, 6 orduz. Ondoren, 0,128 g S-FI dispersioan disolbatu eta 0,192 g BMI gehitu dira 1:1,5 pisu erlazioa osatuz. Erreakzioa orain ere 24 orduz 65 °C-tan burutu da. Bai G eta bai *Salvia* estraktuak S-FI+BMI masa totalarekiko %0,2an gehitu dira. Nanokonposite hidrogela HSFI2-1:1,5GE bezala izendatu da.





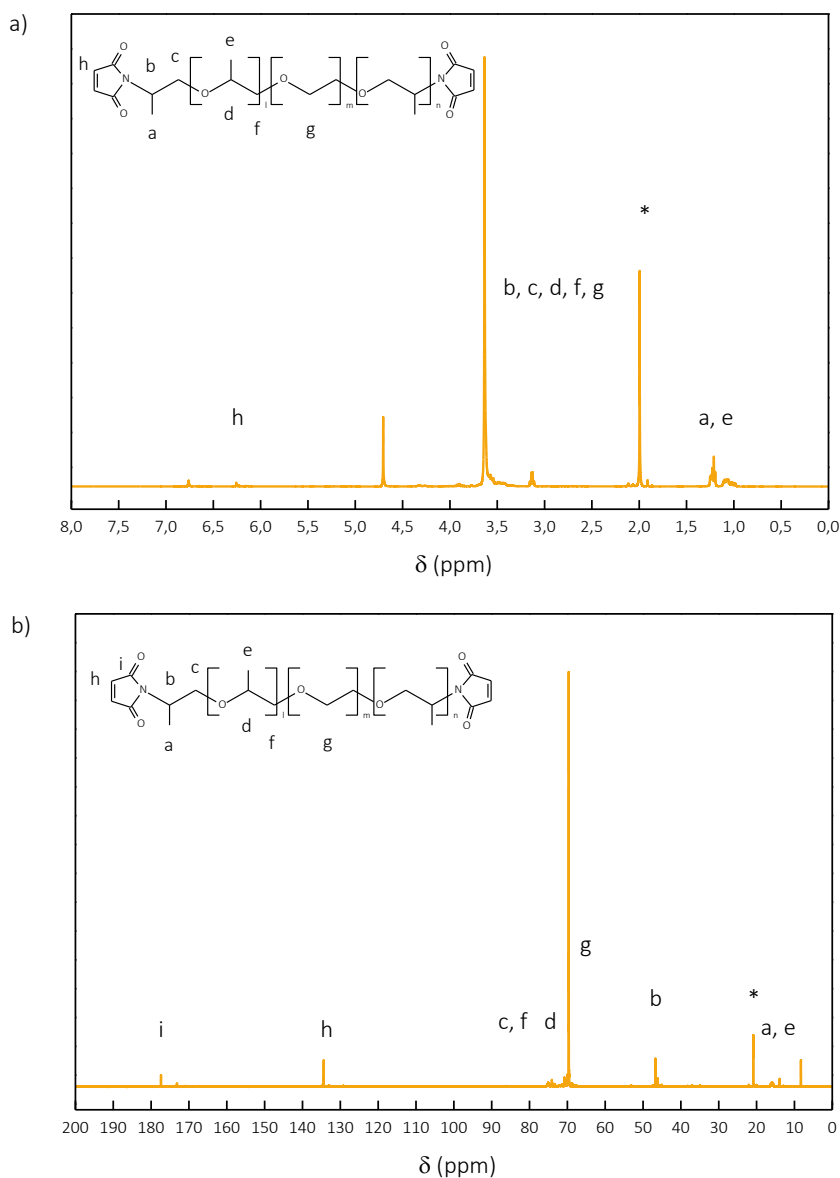
8.3. Eskema – Gz indartutako nanokonposite hidrogelak lortzeko DA saretze erreakzioa.

### 8.3. BISMALEIMIDAREN KARAKTERIZAZIOA

Uretan disolbagarria den bismaleimida Jeffamine® ED 900 aintzindariaren eta anhidrido maleikoaren arteko erreakzioz eta ondorengo ziklazioz sintetizatu da. Sintesi prozesuaren egokitasuna erresonantzia magnetiko nuklearrez berretsi da.

#### 8.3.1. Erresonantzia magnetiko nuklearra

BMI saretzailearen  $^1\text{H}$  NMR eta  $^{13}\text{C}$  NMR espektroak 8.1. Irudian aurkezten dira.  $^1\text{H}$  NMR espektroan ikus daitekeen bezala 3,5 eta 1,3 ppm desplazamenduen artean Jeffamine® ED 900 aintzindariaren seinale anitza azaltzen da [2]. Bestalde, maleimida eraztunaren lotura bikoitzeko (C=C) hidrogenoari dagokion piko txiki berria ikusgarri da 6,20 ppm-tan.  $^{13}\text{C}$  NMR espektroari dagokionez, maleimida eraztunaren lotura bikoitzari (C=C) eta karbonilo loturari (C=O) atxikitutako seinale berriak ikus daitezke 135 eta 171 ppm-tan, hurrenez hurren. Emaitza hauek aurretik argitaratutako emaitzekin bat datoz [2] BMI saretzailearen sintesiaren arrakasta adieraziz.

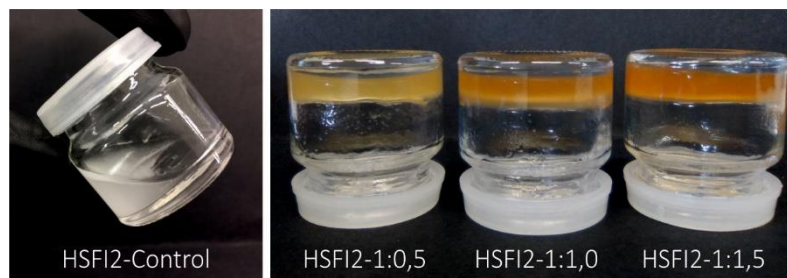


8.1. Irudia – BMI saretzailearen a)  $^1\text{H}$  NMR eta b)  $^{13}\text{C}$  NMR espektroak (\* azido azetiko ezpurutasunak).

#### 8.4. PRESTATUAKO HIDROGELEN ANALISIA

Diels Alder bidez saretutako almidoizko hidrogelak Fu:Mal pisu erlazio ezberdinak erabiliz sintetizatu dira, gure taldean gelatinarekin burutako prozedura aintzakotzat hartuz eraldaketa txikiekin [1]. Bestalde, erreferentzia hidrogela ere prestatua izan da (kontrola) S-FI eta modifikatu gabeko Jeffamine® ED 900 nahastuz, Fu:Mal 1:0,5 pisu erlazioan.

8.2. Irudian lortutako hidrogelei eginiko argazkiak ikus daitezke eta, ondorioztatu daitekeenez, erabilitako pisu erlazio guztiekin DA erreakzioari esker hidrogelak modu arrakastatsuan lortu dira, kontrol lagina, maleimida talderik gabekoa alegia, egoera likidoan mantendu da bitartean.

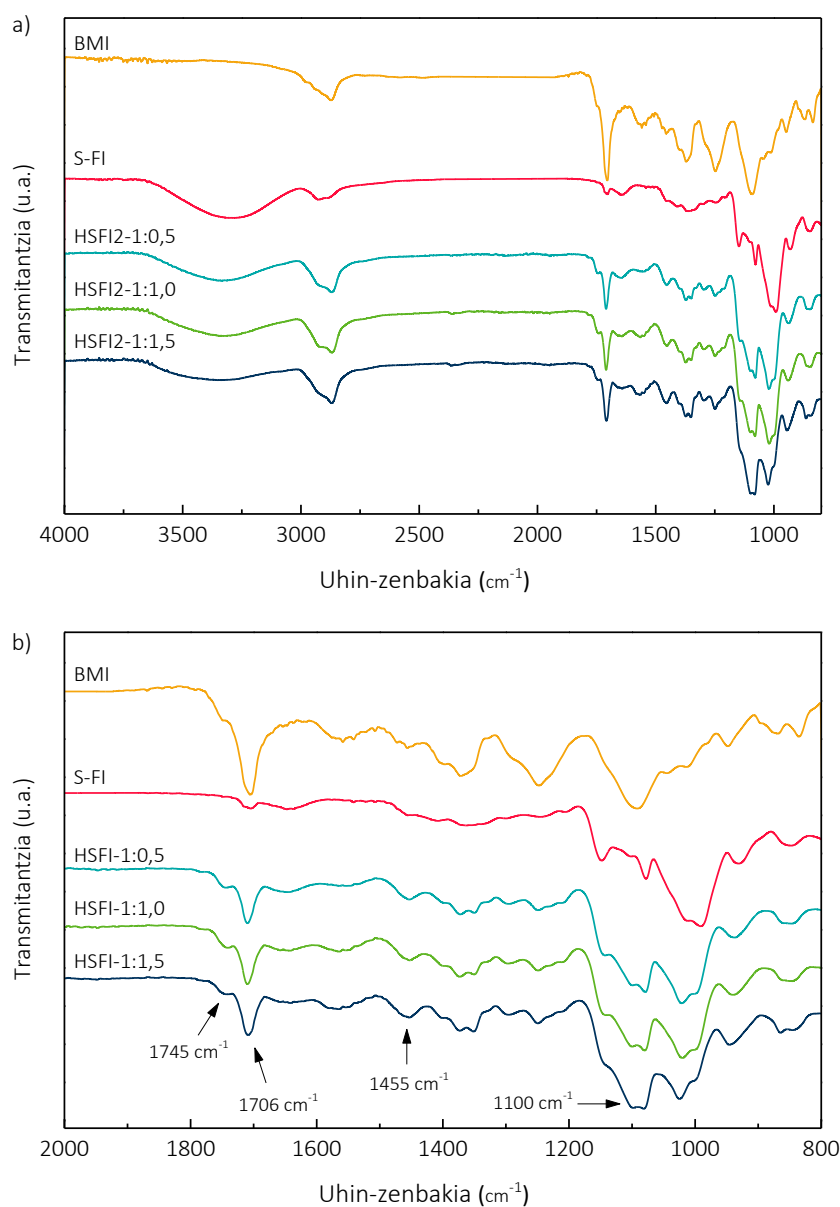


8.2. Irudia – DA erreakzioaren ondoren lortutako hidrogelen eta kontrol laginaren argazkiak

#### 8.4.1. Fourier transformadun infragorri espektroskopia

DA aduktuaren absortzio seinaleak ikusteko asmoz lortutako hidrogelak FTIR bitartez analizatuak izan dira. Lortutako espektroak 8.3. Irudian aurkezten dira. Uhin-zenbaki zonalde berdinean azaltzen diren seinale kopuru altua dela eta, zaila egiten da banda berriak ezberdintzea, beraz,  $2000-600\text{ cm}^{-1}$  bitarteko magnifikazioa ere aurkezten da.

Ikus daitekeenez, saretutako hidrogel guztien espektroetan  $1745$  eta  $1706\text{ cm}^{-1}$  uhin-zenbakietan maleimida taldearen karboniloari (C=O) atxiki dakeiken seinale berriak azaltzen dira [2]. Aldi berean, DA aduktuarenak diren bai karbono lotura bikoitzaren (C=C) luzapen bibrazioari dagokion seinalea bai eter taldearen (C-O-C) luzapen bibrazioari dagokiona ikusgai dira,  $1455\text{ cm}^{-1}$  [3–6] eta  $1100\text{ cm}^{-1}$ -tan [2], hurrenez hurren. Hala ere, 7. Kapituluan ondorioztatu bezala, espektroetan agertzen diren seinale ugariak direla eta DA erreakzioaren arrakasta ziurtatzea zaila da FTIR espektroetan soilik oinarrituz.



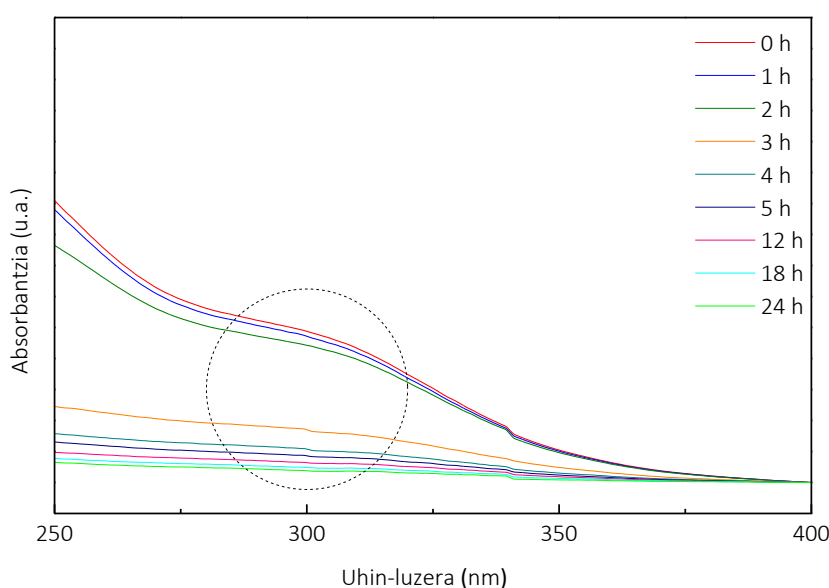
8.3. Irudia – BMI, S-FI eta lortutako hiru saretutako almidoizko hidrogelen FTIR espektroak a) 4000 - 600  $\text{cm}^{-1}$  tartea eta b) 2000 - 600  $\text{cm}^{-1}$  bitarteko magnifikazioa, giro temperaturan

#### 8.4.2. Espektroskopia ultramore-ikuskorra

DA erreakzioa berresteko helburuarekin, furanoz eraldatutako almidoia eta BMI arteko erreakzioa UV-vis espektroskopiaz jarraitu da, tenperaturaren kontrolerako gailua erabiliz. Neurketak 1:1,5 Fu:Mal pisu erlazioko hidrogelarekin burutu dira, 65 °C-tan 24 orduz, 30 minuturo espektroak jasoz. 8.4. Irudian lortutako UV-vis espektroen kolekzioa ikusgai da.

7. Kapitulan eztabaidatua izan den bezala, DA erreakzioak aurrera jo ahala eta aduktua sortzen doan heinean, maleimida taldearen absortzio seinalea desagertzen doa [7–9].

8.4. Irudian ikus daitekeen bezala, maleimidarekin lotutako absortzio bandaren jaitsiera progresiboa gertatu da DA saretze erreakzioan aduktua sortzearekin bat, erreakzioaren bukaeran seinalea guztiz desagertu delarik. Emaitza hauek DA erreakzioa bere osotasunean gertatu dela frogatzen dute, proposatutako sintesi estrategiaren arrakasta berresten dutelarik.



8.4. Irudia – DA erreakzioaren garapenaren UV-vis espektroak 65 °C-tan.

## 8.5. FURANO MALEIMIDA ERLAZIOAREN ERAGINA HIDROGELEN PROPIETATEETAN

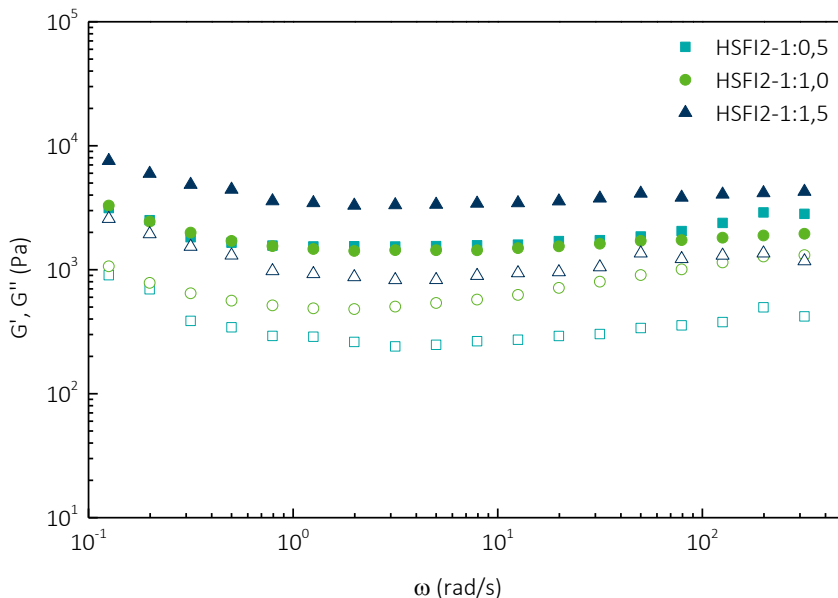
Furano eta maleimida taldeen arteko pisu erlazioaren eragina almidoizko hidrogelen azken propietateetan aztertzeke asmoz, DA hidrogelak S-FI deribatuaren eta saretzaile kantitate ezberdinen arteko erreakzioz sintetizatu dira. Hortaz, saretzailearen kantitate desberdinak erabiltzearen eragina hidrokelek aurkeztutako portaera erreologikoan, morfologia porotsuan eta puzte gaitasunean aztertu da.

### 8.5.1. Portaera erreologikoa

Fu:Mal pisu erlazioaren eragina ikertzeko hidrogelen portaera biskoelastikoa analizatu da ( $n=3$ ) hidrogelen zurruntasunean saretze kantitate handiagoen efektua neurtuz. Hasiera batean, lagin bakoitzaren biskoelastikotasun linealaren zonaldea, non bai pilatze-modulua ( $G'$ ) bai galera-modulua ( $G''$ ) deformazioarekiko independente diren, deformazio ekorketak maiztasun konstantepean burutuz finkatu da. Neurketa hauen emaitzetan oinarrituz, %1eko deformazio balioa erabaki da maiztasun ekorketak aurrera eramateko. Lortutako emaitzak 8.5. Irudian aurkezten dira. Ikus daiteken bezala, hasierako egonkortze tarte baten ondoren, lagin guztiek gel solidoen portaera erakutsi zuten [10,11], material elastiko baten patroi bereizgarri dena. Horrela,  $G'$  konstante eta  $G''$  baino altuagoko balioetan erabilitako maiztasun tarte osoan ( $0,1-500 \text{ rad s}^{-1}$ ) mantentzen dela ikusi da. Neurtutako balioei begira, hidrogelen artean ezberdintasun esanguratsuak nabaritu dira. HSFI2-1:0,5 eta HSFI2-1:1,0 bi hidrokelei dagokienez,  $1720 \pm 243 \text{ Pa}$  eta  $1600 \pm 173 \text{ Pa}$ -eko  $G'$  balio berdintsuak kalkulatu dira. 1:1,5 Fu:Mal pisu erlazioko hidrogelaren kasuan, ordea, lortutako  $G'$  balioa nabarmenki altuagoa izan da,  $3750 \pm 353 \text{ Pa}$ . Kimikoki saretutako hidrogelen kasuan,  $G'$  modulua balioa saretze dentsitatearekin erabat erlazionatua dagoela onartzen da. Izan ere, gure taldean burututako ikerketetan portaera hau jadanik ikusia izan da, bai saretzaile kontzentrazioaren igoeraren eraginez [2] bai maleimidaz funtzionalizatutako CNCak saretzaile gisa erabiliak izan direnean ere [13]. Horrela, HSFI2-1:1,5 hidrokelean neurtutako  $G'$  balioaren igoera nabarmena hidrogel sarean lortutako saretze puntuen dentsitate handiagoaren eragina dela ondorioztatu daiteke.

Polimero biodegradagarrietatik eratorritako hidrogelen aplikazio eremu nagusienetarikoa biomedikuntza arloari dagokiona da, inplante edo euskarri moduan, besteak beste. Beraz, hidrogelaren bukaerako portaeran materialaren zurruntasunaren balioak eragin erabakigarria izan dezake. Lortutako  $G'$  balioak,  $1600-3750 \text{ Pa}$  bitartekoak, hidrogelaren zurruntasunaren adierazle

diren heinean, aproposak direla esan daiteke, gibela, muskulu erlaxatu edo bular-guruinak osatzen dituzten ehunen balioen antzekoak baitira ( $10^3$ – $10^4$  Pa) [14].



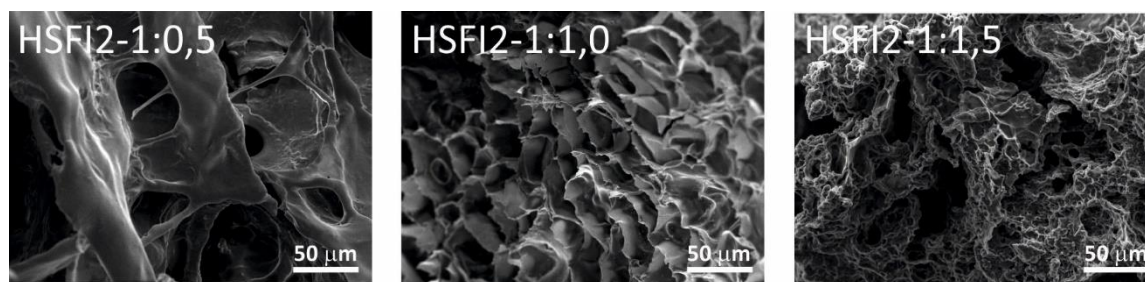
8.5. Irudia – ■ HSF12-1:0,5, ● HSF12-1:1,0 eta ▲ HSF12-1:1,5 hidrogelen maiztasun ekorketak:  $G'$  (ikur beteak) eta  $G''$  (ikur hutsak). Baldintzak: 37 °C and %1.

### 8.5.2. Ekorketa bidezko mikroskopia elektronikoa

Biomedikuntzan erabilgarri izateko barne egitura porotsua duen hidrogela lortzea ezinbestekoa da [1,15]. Beraz, uretan puztu ostean liofilizatutako hidrogel laginen mikroegitura aztertu da SEM bitartez. 8.6. Irudian lagin bakoitzaren mikroegituraren SEM mikrografiak aurkezten dira.

Ikus daitekeen bezala, saretze kantitateak hidrogelen barne-morfologian erabateko eragina izan du. Kasu guztietan, gerora ur edo isurkin kantitate handiak bereganatu ditzaketen mikroegitura porotsuak lortu dira [15]. Hala ere, saretzaile kantitate handiagoek porotasun handiagoko mikroegitura sortzen dutela ikus daiteke. Horrela, HSF12-1:0,5 laginak zonalde leun eta zulodunak dituen morfologia konpaktua azaltzen du, HSF12-1:1,0 eta HSF12-1:1,5 hidrogelentzat mikroegitura porotsu homogeneoagoa aurkitu den bitartean. Bestalde, azken honek aurkeztutako poro tamaina nabarmenki txikiagoa dela ikusi da ( $25 \mu\text{m}$  inguru HSF12-1:1,0 laginarentzat eta  $10 \mu\text{m}$  HSF12-1:1,5

hidrogelarentzat) laginean uniformeki banatuak egonik. Saretzaile kantitate handiagoek poro tamaina txikiagoak dakartzatela normalean onartzen da, saretze dentsitatearen igoeraren ondorio dena [15]. Horrela, emaitza hauek jadanik eztabaidatutako erreologiako emaitzekin bat datoz eta, beraz, 1:1,5 Fu:Mal pisu erlazioko hidrogelak saretze dentsitate handiena duela ondorioztatu daiteke, modulu altuena eta poro tamaina txikiena aurkeztuz.



8.6. Irudia – HSF12-1:0,5, HSF12-1:1,0 eta HSF12-1:1,5 almidoizko hidrogelen mikroegitura porotsuen SEM mikrografiak

### 8.5.3. Puzte gaitasuna

Hidrogelen puzte gaitasuna grabimetrikoki determinatu da, liofilizatutako laginak ( $n=3$ ) hestearen isurkina simulatzen duen tanpoi soluzioan (fosfato tanpoi soluzioa (PBS)), 7,4ko pHan eta 37 °C-tan puztuz. SR puzte maila, pisu igoera balioak denbora tarte ezberdinetan hartuz eta 2.10. Ekuazioa aplikatuz kalkulatu da. Lortutako puzte kurbak 8.7. Irudian aurkezten dira.

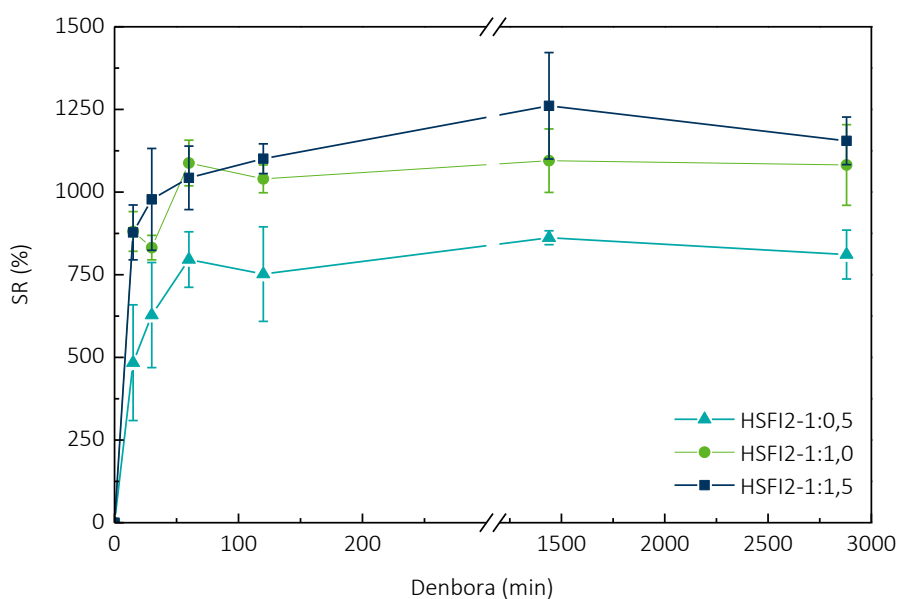
Hidrogel guztientzat lortutako puzte makurrek bi puzte abiadura ezberdin azaltzen dutela ikus daiteke. Lehenengo denbora tartean, SR balioak azkar igotzen dira %400 inguru arte 1:0,5 hidrogelarentzat eta %800 arte beste bi formulazioentzat, bigarren puzte etapa batean puzte maila mantso handitzen delarik oreka lortu arte. Horrela, puzte mailaren orekako balioa hiru hidrogelen kasuan denbora tarte berdintsuan lortu da.

7. Kapituluari eztabaidatu bezala, hidrogelen puzte gaitasuna hauen barne mikroegiturak baldintzatua dator. Honez gain, puzte maila erabilitako polimero eta saretzaile kantitate eta izaera



hidrofilikoarekin lotuta egongo da [1,2,13,16] kate polimerikoen eta uraren artean suertatuko diren hidrogeno zubiek inguruneko ura barneratuko baitute, SR balioak handituz [16]. Hortaz, bai hidrogeletan lortutako saretze dentsitatea eta bai erabilitako BMI saretzailearen izaera hidrofilikoak aldagai erabakigarriak izango dira. Normalean, SR balioak polimeroaren saretze dentsitatearekin bat jaitsi ohi dira, 3D sareak soluzioaren barneratzea hidrogelaren barrena saihesten duelako eta, aldi berean, kate polimerikoen mugikortasuna txikitzen delako, hauen arteko alderatzea eta beraz puztea ekidinez [13,16].

Erreologiako emaitzen eta SEM mikrografien arabera, BMI kantitate gehiagoko hidrogelean saretze dentsitate handiagoa ondorioztatu da. Beraz, SR balio baxuagoa espero zitekeen Fu:Mal erlazio handieneko hidrogelarentzat. Hala ere, kontrako efektua ikusi da hidrogel honentzat, hau da, BMI kantitate handieneko HSF12-1:1,5 hidrogelak SR balio handienak aurkeztu zituen. Erabilitako saretzailearen izaera hidrofilikoa izan daiteke puzte gaitasunean ikusitako portaera honen arrazoia, gure taldean aurretik burututako zenbait ikerketan aurkitu bezala [5]. Antzeko emaitzak lortu dira BMI saretzailearekin aurrera eramandako zenbait aurretiazko ikerketetan [17].



8.7. Irudia – Almidoizko hidrogelentzat lortutako SR (%) vs denbora kurbak, PBSn 37 °C-tan.

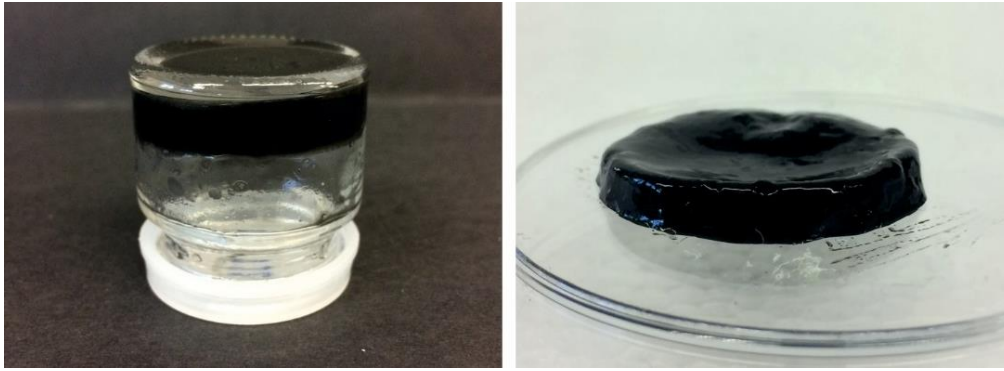
#### 8.5.4. Degradazio hidrolitikoa

Hidrogelen denbora luzerako egonkortasuna eta biodegradagarritasuna ebaluatzeko asmoz, hidrogel laginak (n=3) PBSan murgildurik mantendu dira, hauen degradazio hidrolitikoa jasandako pisu-galeraren bitartez erregistratuz (2.11. Ekuazioa). HSFI2-1:1,0 eta HSFI2-1:1,5 bi hidrokelei dagokienez antzeko degradazio balioak (%-tan) lortu dira,  $53 \pm 2$  eta  $52 \pm 5$ , hurrenez hurren, HSFI2-1:0,5 balio altuagoak lortu direlarik ( $79 \pm 1$ ). Emaitza hauek literaturan argitaratutakoekin bat datoz [3,6], non, degradazio maila saretze dentsitatearekiko alderantziz proportzionala dela onartzen den.

### 8.6. GRAFENODUN NANOKONPOSITE HIDROGELEN ANALISIA

Bigunak, malguak, biobateragarriak eta, gainera, elektroaktiboak diren hidrokelek badute beren aplikazio eremua biomedikuntzan, hala nola, botika askapenerako gailu konmutagarri bezala, ehun ingeniartzarako estimuludun edo sentsoredun euskarri moduan eta elektrodo neuronaletarako inplanteen estaldura bezala [18]. Hortaz, gure almidoizko hidrokeletan G nanoxaflak gehituz elektrikoki eroaleak diren hidrogelak garatu zitezkeela hipotetizatu genuen.

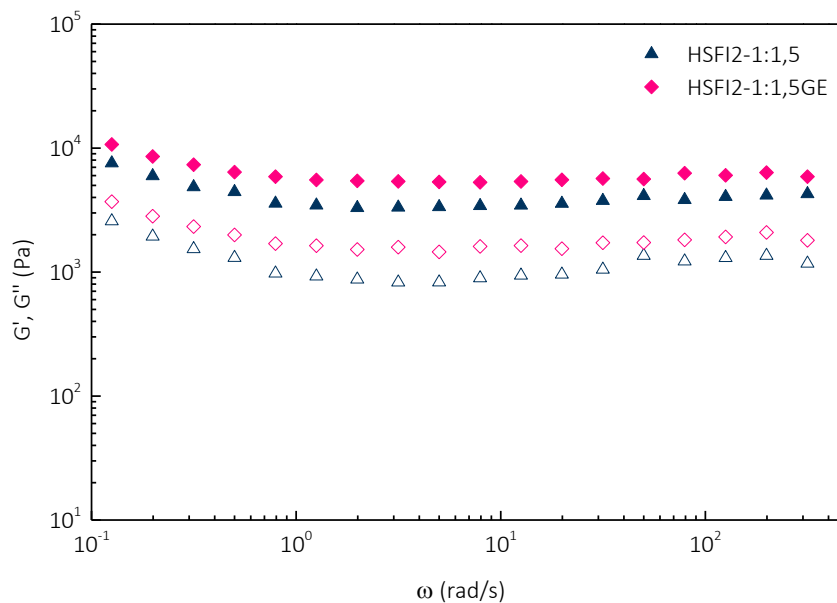
Horrela, nanokonposite hidrogelak prestatzeko aurretik burututako karakterizazioaren ondoren lortutako emaitzei begira HSFI2-1:1,5 aukeratu da matrizea bezala, batez ere, zurruntasun altuena eta puzte balio altuenak aurkezten zituelako, poro tamaina txikienarekin bat. G hidrokelean barneratzeko ( $0,2$ ) *Salvia* estraktuekin batera aurre-dispertsio homogenea prestatu da ultrasonikazioz. 6. Kapituluaren ikus bezala, landare estraktuetan ugari diren konposatu polifenolikoek G nanoxaflen ur-dispertsio egonkorak lortzea baimentzen dute [19]. Gainera, *Salvia* landare-estraktuek propietate antibakteriarrak eta hantura aurkako propietateak dituztela ikusi da [20], biomedikuntzaren arloko aplikazioetarako garrantzia izan dezaketenez ezaugarriak direlarik. 8.8. Irudian grafenoa duen nanokonposite hidrogelaren (HSFI2- 1:1,5GE) argazkia aurkezten da.



8.8. Irudia –HSFI2-1:1,5GE hidrogela

### 8.6.1. Portaera erreologikoa

G nanoxaflak sartzearen efektua almidoizko hidrogelaren portaera erreologikoan aztertu da, aurretik beste hidrogelentzat erabilitako prozedura berdina jarraituz. Lortutako emaitzak 8.9 Irudian aurkezten dira.



8.9 Irudia – ▲ HSF12-1:1,5 eta ◆ HSF12-1:1,5GE hidrogelen maiztasun ekorketak:  $G'$  (ikur beteak) eta  $G''$  (ikur hutsak). Baldintzak: 37 °C and 1 Hz.

HSFI2-1:1,5GE hidrogelak  $G$  gabeko matrizeak (HSFI2-1:1,5) aurkeztutako biskoelastikotasun patroi berdina aurkezten duela ikus daiteke, non,  $G'$  konstante eta  $G''$  baino altuagoko balioan mantentzen den erabilitako maiztasun tarte osoan.

Bestalde, soilik %0,2ko grafeno gehikuntzarekin G'ren igoera nabarmena neurtu da,  $3660 \pm 352$  Pa-eko baliotik matrize hutsarentzat  $5680 \pm 362$  Pa-eko baliora nanokonpositearentzat. Emaizta hauek Ganguly eta kideek [21] argitaratutako emaitzekin bat datoz, zeinek G' balioaren igoera neurtu zuten Gz nanoindartutako hidrogel akrilikoaren kasuan.

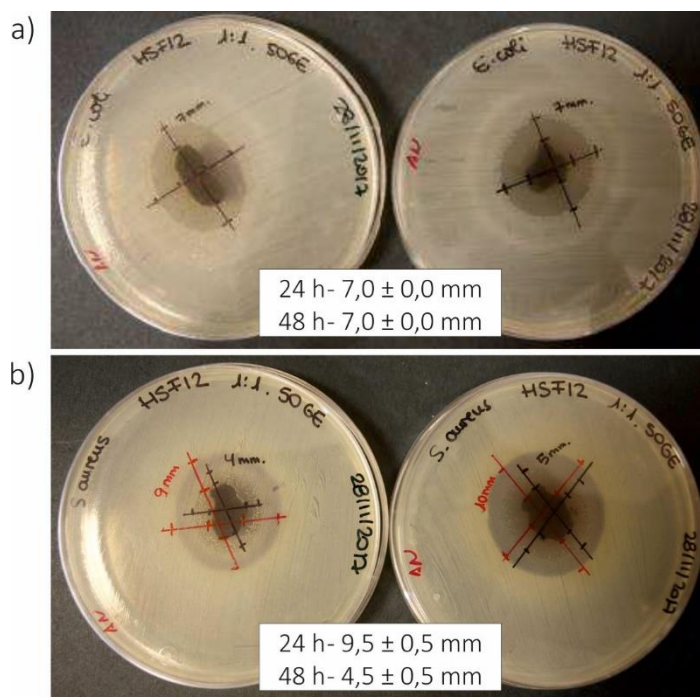
### **8.6.2. Eroankortasun elektrikoa**

Elektroaktiboak diren hidrogelak estrategia ezberdinak jarraituz lortu izan dira, hauen artean erabiliena ohiko polimero isolatzaileak eroankortasun intrintsekoa duten osagaiekin konbinatzea izanik, karbono egiturak (nanozuntzak, nanotutuak edo G), nanopartikula metalikoak edo polimero eroaleak gehienbat. HSFI2-1:1,5 hidrogelaren propietate elektrikoaren neurketa Garekin eta G gabe bi puntuko teknikaren bitartez burutu da, 0-5 V bitartean aplikatutako boltaje balio bakoitzeko lortutako korrone intentsitatea determinatuz. Lortutako emaitzetatik G gabeko HSFI2-1:1,5 hidrogelarentzat  $1,23 \times 10^{-4}$  S m<sup>-1</sup> eroankortasun elektriko balioa kalkulatu da, HSFI2-1:1,5GE hidrogelarena, ordea,  $1,16 \times 10^{-3}$  S m<sup>-1</sup> izan delarik. Eroankortasunaren hamarkada bateko igoera honek G nanoerrefortzu eroale eraginkorra izan dela adieraziko luke. Ganguly eta kideek [21] eta Alam eta kideek [22] bolumenean %0,40 inguruko G balioak ondorioztatu zituzten hidrogel akrilikoaren eroankortasun elektrikoaren perkolazio atari bezala, tesi honetan erabilitakoaren bikoitza dena. Hala ere, perkolazio atariaren balioak sare polimerikoaren izaera eta egitura kimikoarekiko menpekotasuna duela jakina da. Beraz, almidoizko hidrogelatan G kantitate ezberdinekin lan egin beharko litzateke perkolazio atari elektrikoaren ikerkuntza sakonagoa burutu eta hidrogelaren propietate elektrikoak optimizatzearen.

### **8.6.3. Aktibitate antibakteriarra**

Biomedikuntzaren arloan aplikatzeko materialen diseinuan aktibitate antibakteriarrak garrantzia handia hartzen du. Ga agente antibakteriarren artean hautagai bikaina da [23,24], mikroorganismo ugarien ugalketa eten eta kontrolatzeko duen gaitasuna dela eta [25]. Bestalde,

*Salvia* estraktuak agente antibakteriar eta antioxidatzaile eta hantura aurkako agente bezala erabilia dela ere aipatzekoa da [20,26,27]. Gdun hidrogelen aktibitate antibakteriarra *Escherichia coli* CECT 405 eta *Staphylococcus aureus* CECT 239 bakterioen aurka entsaiatu da. Lagin inokulatuak 24 eta 48 orduz 37 °C-tan mantendu dira eta disko-plater antibiograma teknika bitartez testatu dira. Bakterioen hazkuntza inhibizio zonaldeak neurtu dira (8.10. Irudia).



8.10. Irudia – HSF12-1:1,5GE hidrogelaren test antibakteriarrak a) *E. coli* (bikoiztua) and b) *S. aureus* (bikoiztua) inhibizio haloak 24 h (gorriz) eta 48 h (beltzez).

HSF12-1:1,5GE nanokonposite hidrogelak bai *E. coli* eta bai *S. aureus* bi bakterioen aurkako aktibitatea aurkezten du. 24 orduko inkubazio ondoren 7,0 mm-ko inhibizio haloa ikusi da *E. coli* bakterioaren kasuan, *S. aureus* bakterioaren kasuan diametroa 9,5 mm izan delarik. 48 orduko inkubazio ondoren *E. coli* bakterioaren haloa konstante mantendu den bitartean, *S. aureus* bakterioaren inhibizio haloaren diametroa 4,5 mm-tara jaitsi dela ikusi da. Hala ere, 48 ordu ostean *S. aureus* bakterioaren inguruan inhibizio haloaren agerpenak aktibitate antibakteriarra dagoela adierazten du, diametroa txikiagoa izan arren. Santamaria-Echart eta kideek [27] argitaratu zutenaren arabera, *Salvia* estraktuak (%3 eta 5ean) *ex situ* gehitzean uretan oinarritutako poliuretanoetan *S.*

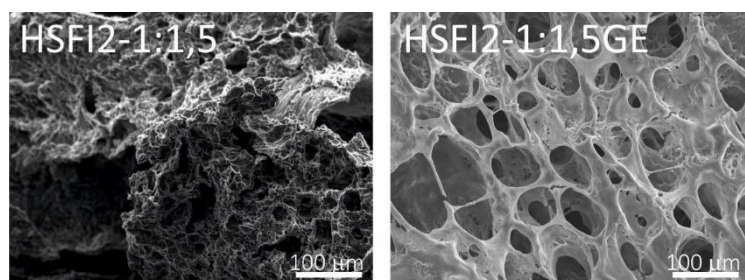
*aureus* bakterioaren ugalketa aurkitu zen zenbait laginetan. Kontutan hartu behar da lan honetan erabili den *Salvia* estraktuen kontzentrazioa askoz txikiagoa dela. Beraz, garatutako hidrogelen aktibitate antimikrobianoa G nanoxaflengatik ere etor daitekeela ondoriozta genezake. Dena dela, Garen gehikuntzaz *Salvia* estraktuekin batera hidrogel matrizean material antibakteriar eraginkorrak lortu direla esan daiteke.

#### 8.6.4. Ekorketa bidezko mikroskopia elektronikoa

Nanokonposite hidrogelen mikroegitura SEM bitartez ikertu zen. Beste hidrokelekin burutu bezala, G eta estraktuak dituen hidrogela ur distilatuan puztu ondoren liofilizatu dira analisirako.

8.11. Irudian lortutako SEM mikrografiak aurkezten dira, matrizearekin konparazioan.

Ikus daitekeen bezala, nanokonposite hidrogelak bilatutako mikroegitura porotsu homogeneoa azaltzen du. Matrizearen mikroegiturarekin konparatuz, nanoxaflen gehikuntzak poro tamainaren igoera nabarmena eragin du. Izan ere, poro tamaina 10  $\mu\text{m}$  inguru izatetik (matrizearena) 100  $\mu\text{m}$  ingurukoa izateraino igo da (nanokonpositea), 7. Kapituluaren zelulosa nanokristalekin portaera berdina erakutsiz eta G nanoxaflen gehikuntzak sare polimerikoaren formazioan izan duen eragina agerian utziz.



8.11. Irudia – Amidoizko HSF12-1:1,5 eta HSF12-1:1,5GE hidrogelen mikroegitura porotsuaren SEM mikrografiak.

## 8.7. ONDORIOAK

Almidoian oinarritutako hidrogelak furanoz eraldatutako almidoia eta BMI saretzaile hidrofiliokoaren arteko ingurune urtsuan burututako DA erreakzio bitartez modu arrakastatsuan lortu dira. DA erreakzioa hidrogelak sortzeko FTIR eta UV-vis espektroskopia bitartez berretsi da. Fu:Mal pisu erlazioak hidrogelaren propietate erreologikoetan eta barne mikroegituraren eragin nabarmena duela ikusi da, poro tamaina jaitsiz eta pilatze moduluaren balioa handituz 1:1,5 erlazioaren kasurako. G nanoxafak nanoerrefortzu eroale gisa erreakzio ingurunera gehitu dira *Salvia* estraktuak dispersio egonkortzaile moduan erabiliz. Uste bezala, lortutako nanokonposite hidrogelaren zurruntasuna hobetzeaz gain, eroankortasun elektrikoa hamarkada batean handiagotu egin da bai *gram* positibo bai *gram* negatibo bakterioen aurkako aktibitate antimikrobiarra ere aurkeztuz. Lortutako biooinarritutako material berriak beraz aplikazio biomedikoetan erabilgarri izateko propietateak aurkezten dituztela ondoriozta daiteke, batez ere korrante elektrikoaren estimulari erantzungo liokeen hidrogela behar izanez gero.

## 8.8. ERREFERENTZIAK

- [1] C. García-Astrain, A. Gandini, C. Peña, I. Algar, A. Eceiza, M. Corcuera, N. Gabilondo, Diels–Alder “click” chemistry for the cross-linking of furfuryl-gelatin-polyetheramine hydrogels, *RSC Adv.* 4 (2014) 35578. doi:10.1039/C4RA06122E.
- [2] C. García-Astrain, I. Algar, A. Gandini, A. Eceiza, M.Á. Corcuera, N. Gabilondo, Hydrogel synthesis by aqueous Diels-Alder reaction between furan modified methacrylate and polyetheramine-based bismaleimides, *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* 53 (2015) 699–708. doi:10.1002/pola.27495.
- [3] M. Fan, Y. Ma, Z. Zhang, J. Mao, H. Tan, X. Hu, Biodegradable hyaluronic acid hydrogels to control release of dexamethasone through aqueous Diels-Alder chemistry for adipose tissue engineering, *Mater. Sci. Eng. C.* 56 (2015) 311–317. doi:10.1016/j.msec.2015.04.004.
- [4] O. Guaresti, C. García-Astrain, T. Palomares, A. Alonso-Varona, A. Eceiza, N. Gabilondo, Synthesis and characterization of a biocompatible chitosan-based hydrogel cross-linked via ‘click’ chemistry for controlled drug release, *Int. J. Biol. Macromol.* 102 (2017) 1–9. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.04.003.
- [5] O. Guaresti, C. García-Astrain, R.H. Aguirresarobe, A. Eceiza, N. Gabilondo, Synthesis of stimuli-responsive chitosan-based hydrogels by Diels–Alder cross-linking ‘click’ reaction as potential carriers for drug administration, *Carbohydr. Polym.* 183 (2018) 278–286.

- doi:10.1016/j.carbpol.2017.12.034.
- [6] C.M. Nimmo, S.C. Owen, M.S. Shoichet, Diels-alder click cross-linked hyaluronic acid hydrogels for tissue engineering, *Biomacromolecules*. 12 (2011) 824–830. doi:10.1021/bm101446k.
- [7] T. Engel, G. Kickelbick, Thermoreversible reactions on inorganic nanoparticle surfaces: Diels-alder reactions on sterically crowded surfaces, *Chem. Mater.* 25 (2013) 149–157. doi:10.1021/cm303049k.
- [8] A. Gandini, D. Coelho, M. Gomes, B. Reis, A. Silvestre, Materials from renewable resources based on furan monomers and furan chemistry: work in progress, *J. Mater. Chem.* 19 (2009) 8656. doi:10.1039/b909377j.
- [9] C. Vilela, L. Cruciani, A.J.D. Silvestre, A. Gandini, Reversible polymerization of novel monomers bearing furan and plant oil moieties: a double click exploitation of renewable resources, *RSC Adv.* 2 (2012) 2966. doi:10.1039/c2ra20053h.
- [10] B. Mandal, A.P. Rameshbabu, S.R. Soni, A. Ghosh, S. Dhara, S. Pal, In situ silver nanowire deposited cross-linked carboxymethyl cellulose: A potential transdermal anticancer drug carrier, *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 9 (2017) 36583–36595. doi:10.1021/acsami.7b10716.
- [11] S. Wang, J. Wang, W. Zhang, J. Ji, Y. Li, G. Zhang, F. Zhang, X. Fan, Ethylenediamine modified graphene and its chemically responsive supramolecular hydrogels, *Ind. Eng. Chem. Res.* 53 (2014) 13205–13209. doi:10.1021/ie501448p.
- [12] C. García-astrain, R. Hernández, O. Guaresti, L. Fruk, C. Mijangos, A. Eceiza, N. Gabilondo, Click crosslinked chitosan/gold nanocomposite hydrogels, *Macromol. JOURNALS*. 301 (2016) 1295–1300. doi: 10.1002/mame.201600247
- [13] C. García-Astrain, K. González, T. Gurrea, O. Guaresti, I. Algar, A. Eceiza, N. Gabilondo, Maleimide-grafted cellulose nanocrystals as cross-linkers for bionanocomposite hydrogels, *Carbohydr. Polym.* 149 (2016) 94–101. doi:10.1016/j.carbpol.2016.04.091.
- [14] C. García-Astrain, I. Ahmed, D. Kendziora, O. Guaresti, A. Eceiza, L. Fruk, M.A. Corcuera, N. Gabilondo, P. Yang, I.K. Kwon, J.M. Greeneche, Effect of maleimide-functionalized gold nanoparticles on hybrid biohydrogels properties, *RSC Adv.* 5 (2015) 50268–50277. doi:10.1039/C5RA06806A.
- [15] X. Bai, S. Lü, Z. Cao, B. Ni, X. Wang, P. Ning, D. Ma, H. Wei, M. Liu, Dual crosslinked chondroitin sulfate injectable hydrogel formed via continuous Diels-Alder (DA) click chemistry for bone repair, *Carbohydr. Polym.* 166 (2017) 123–130. doi:10.1016/j.carbpol.2017.02.062.
- [16] F. Yu, X. Cao, L. Zeng, Q. Zhang, X. Chen, An interpenetrating HA/G/CS biomimic hydrogel via Diels-Alder click chemistry for cartilage tissue engineering, *Carbohydr. Polym.* 97 (2013) 188–195. doi:10.1016/j.carbpol.2013.04.046.
- [17] C. García-Astrain, O. Guaresti, K. González, A. Santamaria-Echart, A. Eceiza, M.A. Corcuera, N. Gabilondo, Click gelatin hydrogels: Characterization and drug release behaviour, *Mater. Lett.* 182 (2016) 134–137. doi:10.1016/j.matlet.2016.06.115.
- [18] R.K. Pal, E.E. Turner, B.H. Chalfant, V.K. Yadavalli, Mechanically robust, photopatternable



- conductive hydrogel composites, *React. Funct. Polym.* 120 (2017) 66–73. doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2017.09.006.
- [19] A. Mohamed, T. Ardyani, S. Abu Bakar, M. Sagisaka, Y. Umetsu, J.J. Hamon, B.A. Rahim, S.R. Esa, H.P.S. Abdul Khalil, M.H. Mamat, S. King, J. Eastoe, Rational design of aromatic surfactants for graphene/natural rubber latex nanocomposites with enhanced electrical conductivity, *J. Colloid Interface Sci.* 516 (2018) 34–47. doi:10.1016/j.jcis.2018.01.041.
- [20] N. Martins, L. Barros, C. Santos-Buelga, M. Henriques, S. Silva, I.C.F.R. Ferreira, Evaluation of bioactive properties and phenolic compounds in different extracts prepared from *Salvia officinalis* L., *Food Chem.* 170 (2014) 378–385. doi:10.1016/j.foodchem.2014.08.096.
- [21] S. Ganguly, D. Ray, P. Das, P.P. Maity, S. Mondal, V.K. Aswal, S. Dhara, N.C. Das, Mechanically robust dual responsive water dispersible-graphene based conductive elastomeric hydrogel for tunable pulsatile drug release, *Ultrason. Sonochem.* 42 (2018) 212–227. doi:10.1016/j.ultsonch.2017.11.028.
- [22] A. Alam, Q. Meng, G. Shi, S. Arabi, J. Ma, N. Zhao, H.C. Kuan, Electrically conductive, mechanically robust, pH-sensitive graphene/polymer composite hydrogels, *Compos. Sci. Technol.* 127 (2016) 119–126. doi:10.1016/j.compscitech.2016.02.024.
- [23] B. Gao, J. Mei, Y. Ma, G. Yuan, L. Ren, Environmental-friendly assembly of functional graphene hydrogels with excellent antibacterial properties, *ChemistrySelect.* 2 (2017) 7474–7482. doi:10.1002/slct.201701419.
- [24] C.D. Grande, J. Mangalao, J. Fan, A. De Leon, J. Delgado-Ospina, J.G. Rojas, D.F. Rodrigues, R. Advincula, Chitosan cross-linked graphene oxide nanocomposite films with antimicrobial activity for application in food industry, *Macromol. Symp.* 374 (2017) 1–8. doi:10.1002/masy.201600114.
- [25] X. Zeng, G. Wang, Y. Liu, X. Zhang, Graphene-based antimicrobial nanomaterials: rational design and applications for water disinfection and microbial control, *Environ. Sci. Nano.* 4 (2017) 2248–2266. doi:10.1039/C7EN00583K.
- [26] M. Ghorbanpour, M. Hatami, K. Kariman, P. Abbaszadeh Dahaji, Phytochemical variations and enhanced efficiency of antioxidant and antimicrobial ingredients in *Salvia officinalis* as inoculated with different rhizobacteria, *Chem. Biodivers.* 13 (2016) 319–330. doi:10.1002/cbdv.201500082.
- [27] A. Santamaria-Echart, I. Fernandes, F. Barreiro, A. Retegi, A. Arbelaiz, M.A. Corcuera, A. Eceiza, Development of waterborne polyurethane-ureas added with plant extracts: Study of different incorporation routes and their influence on particle size, thermal, mechanical and antibacterial properties, *Prog. Org. Coatings.* 117 (2018) 76–90. doi:10.1016/j.porgcoat.2018.01.006.

## **9. KAPITULUA:**

**ONDORIO OROKORRAK,  
ETORKIZUNERAKO LAN-ILDOAK  
ETA ARGITALPENAK**



## 9. ONDORIO OROKORRAK, ETORKIZUNERAKO LAN-ILDOAK ETA ARGITALPENAK

### 9.1. ONDORIO OROKORRAK

Ikerketa lan honen helburu nagusia arto almidoian oinarritutako material berrien garapena izan da, alde batetik almidoia dituen mugak gainditzeko eta bestetik aplikazio eremu berriak aztertzeko. Horrela, estrategia ezberdinak proposatu dira, hala nola, plastifikatzaile eta prozesaketa teknika ezberdinen erabilera, nanokonposite filmen garapena eta hidrogelen sintesirako zuzendutako almidoia funtzionalizazio eta saretzea.

Plastifikatzaileei dagokienez, PLSa lortu da glizerola, D-isosorbida eta 1,3-propanodiola erabiliz bai *solvent casting* eta bai estrusio/konpresio bi prozesaketa teknika erabiliz. Plastifikatzaile ezberdinen erabilerak filmen gardentasunean, kontaktu angelu balioan, propietate mekanikoetan eta iragazkortasunean eragina zuela ikusi da, erlaxazio trantsizioetan aldaketak sortzearekin bat. Horrela, D-isosorbida nabarmendu daiteke hiruen artean PLSaren erretrogradazioaren aurkako plastifikatzaile eraginkorrena dela erakutsiz.

WSNC eta CNCak hidrolisi azido bitartez modu arrakastatsuan isolatu ziren. Bestalde, grafitotik abiatuz bai G eta bai GO sonikazio/zentrifugazio eta oxidazio prozesuen bitartez lortu ziren, hurrenez hurren.

Glizerolaz plastifikatutako almidoizko nanokonposite filmak *solvent casting* eta estrusio/konpresio bi metodoen bidez prestatu ziren, nanoerrefortzu gisa WSNC eta CNC erabiliz. Alde batetik WSNCen erabilerak almidoia erlaxazio trantsizioengan eragina zuela ondorioztatu zen eta, honez gain, PLSaren propietate mekaniko eta oxigenoaren aurkako iragazkortasunean hobekuntzak ikusi ziren. Bestalde, CNC nanoerrefortzu moduan erabiltzeak nagusiki propietate mekanikoetan hobekuntza dakarrela ondorioztatu da.

*Solvent casting* eta estrusio/konpresio bi prozesaketa metodoen konparaketari dagokionez, azkenekoak, eskala handiagoetara produkzioa baimentzearekin batera, gardentasunean eta propietate mekanikoetan balio hobegoak eman zituen, iragazkortasunean aldaketarik sumatu ez zen bitartean.

Glizerolaz plastifikatutako PLS filmak bai G eta bai GO nanoerrefortzu gisa erabiliz *solvent casting* teknika bidez prestatu ziren. Salbia landaretik eratorritako estraktuak surfaktante moduan erabiliz grafenozko dispersio egonkorak lortu ziren. Lortutako nanokonpositeek propietate mekanikoetan hobekuntzak erakusteaz gain eroankortasun elektrikoa ere aurkeztu zuten. Hala ere, Salbia estraktuen erabilerak almidoiarengan plastifikatze efektua zekarrela ondorioztatu daiteke. GOz indartutako PLS nanokonpositeen karakterizazioak almidoiaren eta nanoerrefortzuaren arteko elkarrekintza sendoak sortu zirela erakutsi zuen, errefortzuaren dispersio maila egokia ondorioztatuz. Gainera, GO nanolaminen erredukziorako burututako tratamendu azidoaren eraginkortasuna demostratu zen, eroankortasun elektrikodun filmak lortu zirelarik.

Azkenik, arto almidoiaren funtzionalizazioa burutu zen furfural isozianatoarekin erreakzionaraziz eta, horrela, talde furanikoak txertatuz, gerora DA bitartez saretutako hidrogelak lortu zirelarik uretan disolbagarriak diren funtzionaltasun ezberdineko bismaleimidak erabiliz. CNCak tetramaleimidaz saretutako hidrogeletan sartzeak, pilatze moduluaren igoera eta poro tamainaren handitzea sortarazi zuen botika askapen abiadura altuagoak aurkeztuz. Azkenik, elektrikoki eroankor eta antibakteriodun gaitasuna zuten G nanolaminaz indartutako DA hidrogel saretuak garatu ziren.

## 9.2. ETORKIZUNERAKO LAN-ILDOAK

Tesi honetan lortutako emaitzetan oinarrituz, hurrengo ideia eta estrategiak proposatzen dira etorkizunerako lan-ildo moduan, bai aplikazio eremu berdinean erabiliak izateko eta bai ikerkuntza ildo berriak hasteko:

- Nanokristal kantitate totala handitu WSNC eta CNC batera PLS matrizean erabiltzen diren kasuetan sor daitekeen sinergia efektua modu sakonago batean ikertu ahal izateko, propietate mekaniko eta iragazkortasun balioetan hobekuntza nabarmenagoak lortzearen.
- G eta GO karbonodun nanolaminekin PLS filmak estrusio/konpresio metodoaz prestatu, eta *solvent casting* metodoaz lortutako emaitzekin alderatu.
- Maleimidaz funtzionalizatutako almidoi deribatua sintetizatu, tesian sintetizatutako deribatu furanikoarekin bat, soilik almidoiez osatutako DA hidrogelak garatu ahal izateko.
- DA hidrogelak garatu gainazalean talde funtzional egokiaz eraldatutako polisakarido nanokristal berriak erabiliz. Horrela, maleimida taldeen txertaketa bai CNC eta bai WSNC nanokristalen gainazalean proposatzen da.
- G kantitate handiagoak erabili DA hidrogel eroale eta antimikrobiarren garapenerako. Horrela, landare estraktuen eta grafenoaren kontzentrazioaren optimizazioa proposatzen da propietate elektriko eta antimikrobialen diseinu egokia lortzeko.
- Ikuspuntu biomedikoari dagokionez tesian garatutako DA hidrogelaren karakterizazioa osatu.

### 9.3. ARGITALPENAK

Tesi honetatik eratorri diren argitalpenak eta konferentzia ezberdinen kontribuzioak jarraian aurkezten dira:

#### 9.3.1. Argitalpenak

<b>Egileak:</b>	Kizkitza González, Clara García-Astrain, Arantzazu Santamaria-Echart, Lorena Ugarte, Luc Avérous, Arantxa Eceiza, Nagore Gabilondo.
<b>Izenburua:</b>	Starch/graphene hydrogels via click chemistry with relevant electrical and antibacterial properties.
<b>Aldizkaria:</b>	Carbohydrate Polymers
<b>Urtea:</b>	2018.

- Inpaktua:** 5.158 (JCR 2017)
- Sailkapena:** Polymer Science 7/87 (JCR 2017)  
Applied Chemistry 2/71 (JCR 2017)  
Organic Chemistry 6/57 (JCR 2017)
- Egileak:** Kizkitza González, Loli Martin, Alba González, Aloña Retegi, Arantxa Eceiza, Nagore Gabilondo.
- Izenburua:** D-isosorbide and 1,3-propanediol as plasticizers for starch-based films: Characterization and aging study.
- Aldizkaria:** Journal of Applied Polymer Science
- Urtea:** 2017.
- Inpaktua:** 1.901 (JCR 2017)
- Sailkapena:** Polymer Science 38/87 (JCR 2017)
- Egileak:** Kizkitza González, Aloña Retegi, Alba González, Arantxa Eceiza, Nagore Gabilondo.
- Izenburua:** Starch and cellulose nanocrystals together into thermoplastic starch bionanocomposites.
- Aldizkaria:** Carbohydrate Polymers
- Urtea:** 2015.
- Inpaktua:** 5.158 (JCR 2017)
- Sailkapena:** Polymer Science 7/87 (JCR 2017)  
Applied Chemistry 2/71 (JCR 2017)  
Organic Chemistry 6/57 (JCR 2017)

#### Kolaborazioak

- Egileak:** Arantzazu Santamaria-Echart, Lorena Ugarte, Kizkitza González, Loli Martin, Lourdes Irusta, Alba González, María Angeles Corcuera Arantxa Eceiza.
- Izenburua:** The role of cellulose nanocrystals incorporation route in waterborne polyurethane for preparation of electrospun nanocomposites mats.

- Aldizkaria:** Carbohydrate Polymers
- Urtea:** 2016.
- Inpaktua:** 5.158 (JCR 2017)
- Sailkapena:** Polymer Science 7/87 (JCR 2017)  
Applied Chemistry 2/71 (JCR 2017)  
Organic Chemistry 6/57 (JCR 2017)
- Egileak:** Clara García-Astrain, Olatz Guaresti, Kizkitza González, Arantzazu Santamaria-Echart, Arantxa Eceiza, Maria Ángeles Corcuera, Nagore Gabilondo.
- Izenburua:** Click gelatin hydrogels: Characterization and drug release behaviour.
- Aldizkaria:** Materials Letters
- Urtea:** 2016.
- Inpaktua:** 2.687 (JCR 2017)
- Sailkapena:** Applied Physics 44/146 (JCR 2017)  
Multidisciplinary Materials Science 97/285 (JCR 2017)
- Egileak:** Clara García-Astrain, Kizkitza González, Tania Gurrea, Olatz Guaresti, Itxaso Algar, Arantxa Eceiza, Nagore Gabilondo.
- Izenburua:** Maleimide-grafted cellulose nanocrystals as cross-linkers for bionanocomposite hydrogels.
- Aldizkaria:** Carbohydrate Polymers
- Urtea:** 2016.
- Inpaktua:** 5.158 (JCR 2017)
- Sailkapena:** Polymer Science 7/87 (JCR 2017)  
Applied Chemistry 2/71 (JCR 2017)  
Organic Chemistry 6/57 (JCR 2017)



### 9.3.2. Konferentziak

**Egileak:** Kizkitza González, Clara García-Astrain, Arantzazu Santamaria-Echart, Lorena Ugarte, Luc Avérous, Arantxa Eceiza, Nagore Gabilondo

**Izenburua:** Tailor-made starch-based hydrogels by means of ‘Click’ cross-linking strategies.

**Konferentzia:** 10<sup>th</sup> ECNP International Conference on Nanostructured Polymers and Nanocomposites.

**Kontribuzioa:** Poster.

**Urtea:** 2018.

**Lekua:** Donostia.

**Egileak:** Kizkitza González, Clara García-Astrain, Arantzazu Santamaria-Echart, Lorena Ugarte, Luc Avérous, Arantxa Eceiza, Nagore Gabilondo

**Izenburua:** Tailor-made starch-based hydrogels by means of ‘Click’ cross-linking strategies.

**Konferentzia:** 6<sup>th</sup> Young Polymer Scientists Conference

**Kontribuzioa:** Oral presentation.

**Urtea:** 2018.

**Lekua:** Donostia.

**Egileak:** Kizkitza González, Leire Iturriaga, Tamara Calvo-Correas, Alba González, Arantxa Eceiza, Nagore Gabilondo.

**Izenburua:** Strategies for improving the behaviour of extruded starch based films (Best Poster Award)

**Konferentzia:** 9<sup>th</sup> Conference on Green Chemistry and Nanotechnologies in Polymeric Materials

**Kontribuzioa:** Oral presentation.

**Urtea:** 2018.

**Lekua:** Cracow, Poland.

**Egileak:** Kizkitza González, Clara García-Astrain, Arantzazu Santamaria-Echart, Lorena Ugarte, Luc Avérous, Arantxa Eceiza, Nagore Gabilondo.

**Izenburua:** Almidoian oinarritutako saretutako 'klik' hidrogel eroaleak.

**Konferentzia:** Materialen Zientzia eta Teknologia IV. kongresua.

**Kontribuzioa:** Oral presentation.

**Urtea:** 2018.

**Lekua:** Donostia.

**Egileak:** Kizkitza González, Clara Carcia-Astrain, Arantzazu Santamaria-Echart, Lorena Ugarte, Luc Avérous, Arantxa Eceiza, Nagore Gabilondo

**Izenburua:** Starch based 'click' cross-linked conductive nanocomposite hydrogels.

**Konferentzia:** ImagineNano2018 International Conference

**Kontribuzioa:** Oral presentation.

**Urtea:** 2018.

**Lekua:** Bilbo.

**Egileak:** Kizkitza González, Clara García-Astrain, Luc Avérous, Arantxa Eceiza, Nagore Gabilondo.

**Izenburua:** Furan-modified starch hydrogels cross-linked through Diels-Alder reaction.

**Konferentzia:** 6<sup>th</sup> International Conference on Biobased and Biodegradable Polymers, BIOPOL.

**Kontribuzioa:** Poster.

**Urtea:** 2017.

**Lekua:** Mons, Belgium.

**Egileak:** Kizkitza González, Olatz Guaresti, Clara García-Astrain, Arantxa Eceiza, Nagoren Gabilondo.

**Izenburua:** Diels-Alder reaction for the cross-linking of maize starch based materials.

**Konferentzia:** 4<sup>th</sup> International Conference on Biobased Materials and Composites, ICBMC.

**Kontribuzioa:** Poster.

**Urtea:** 2017.

**Lekua:** Nantes, France.

**Egileak:** Kizkitza González, Clara García-Astrain, Arantxa Eceiza, Nagore Gabilondo.

**Izenburua:** Functionalization and cross-linking of maize starch through Diels-Alder reaction.

**Konferentzia:** Seminario de jóvenes investigadores en polímeros.

**Kontribuzioa:** Oral presentation.

**Urtea:** 2016.

**Lekua:** Madrid, España.

**Egileak:** Kizkitza González, Clara García-Astrain, Olatz Guaresti, Arantxa Eceiza, Nagore Gabilondo.

**Izenburua:** Functionalized polysaccharides ready for the Diels-Alder reaction.

**Konferentzia:** The 3<sup>rd</sup> International Conference on Bioinspired and Biobased Chemistry & Materials.

**Kontribuzioa:** Poster.

**Urtea:** 2016.

**Lekua:** Nice, France.

**Egileak:** Kizkitza González, Clara García-Astrain, Olatz Guaresti, Arantxa Eceiza, Nagore Gabilondo.

**Izenburua:** Diels-Alder “klik” erreakzio bidez elkar-gurutzatutako polisakaridoak.

**Konferentzia:** UPV/EHU-ko I. Doktorego jardunaldiak.

**Kontribuzioa:** Poster.

**Urtea:** 2016.

**Lekua:** Bilbao

**Egileak:** Kizkitza González, Loli Martin, Alba González, Arantxa Eceiza, Nagore Gabilondo

**Izenburua:** `Green´ plasticizers for thermoplastic starch based materials.

**Konferentzia:** 5<sup>th</sup> International Conference on Biobased and Biodegradable Polymers, BIOPOL.

**Kontribuzioa:** Poster.

**Urtea:** 2015.

**Lekua:** Donostia

**Egileak:** Kizkitza González, Clara García-Astrain, Arantxa Eceiza, Nagore Gabilondo.

**Izenburua:** Bionanocomposite hydrogel from cross-linked cellulose nanocrystals.

**Konferentzia:** 6<sup>th</sup> Workshop on Green Chemistry and Nanotechnologies in Polymer Chemistry Bragança.

**Kontribuzioa:** Poster.

**Urtea:** 2015.

**Lekua:** Bragança, Portugal

**Egileak:** Kizkitza González, Loli Martin, Alba González, Arantxa Eceiza, Nagore Gabilondo.

**Izenburua:** Bioresoruced plasticizers for thermoplastic starch: preparation, characterization and ageing studies.

**Konferentzia:** 3<sup>rd</sup> International Symposium International Meeting on Packaging Material / Bioproduct Interactions (MATBIM 2015)

**Kontribuzioa:** Poster.

**Urtea:** 2015.

**Lekua:** Zaragoza, España.

**Egileak:** Kizkitza González, Itxaso Algar, Leire Urbina, Alba González, Arantxa Eceiza, Nagore Gabilondo.

**Izenburua:** Thermoplastic starch based bionanocomposites reinforced with combined polysaccharide nanocrystals.

**Konferentzia:** 5<sup>th</sup> Workshop Green Chemistry and Nanotechnologies in Polymer Chemistry, ECLIPSE Workshop, BIOPURFIL Workshop.

**Kontribuzioa:** Poster.

**Urtea:** 2014.

**Lekua:** Donostia.

**Egileak:** Kizkitza González, Aloña Retegui, Alba González, Arantxa Eceiza, Nagore Gabilondo

**Izenburua:** Polisakarido nanokristalen konbinaketa almidoi termoplastiko bionanokonpositeetan

**Konferentzia:** Materialen Zientzia eta Teknologiaren II. kongresua.

**Kontribuzioa:** Poster.

**Urtea:** 2014.

**Lekua:** Donostia.

**Egileak:** Kizkitza González, Aloña Retegi, Silvia Goyanes, Alba González, Arantxa Eceiza, Nagore Gabilondo.

**Izenburua:** Starch and cellulose nanocrystals together into thermoplastic starch bionanocomposites.

**Konferentzia:** 4<sup>th</sup> International Conference of Biodegradable and Biobased Polymers, BIOPOL.

**Kontribuzioa:** Poster.

**Urtea:** 2013.

**Lekua:** Roma, Italia.

Kolaborazioak:

**Egileak:** Olatz Guaresti, Kizkitza González, Arantxa Eceiza, Nagore Gabilondo.

**Izenburua:** Thiolated chitosan based hydrogels using Michael addition and by controlling the macromolecular architecture.

**Konferentzia:** 10<sup>th</sup> ECNP International Conference on Nanostructured Polymers and Nanocomposites.

**Kontribuzioa:** Poster.

**Urtea:** 2018.

**Lekua:** Donostia.

**Egileak:** Leire Urbina, Itxaso Algar, Kizkitza González, Arantxa Eceiza, Nagore Gabilondo, Maria Ángeles Corcuera, Nagore Gabilondo.

**Izenburua:** Biodegradable composites with improved optical and barrier properties from the impregnation of PLA to bacterial cellulose membranes.

**Konferentzia:** 3<sup>rd</sup> International Symposium International Meeting on Packaging Material / Bioproduct Interactions (MATBIM 2015)

**Kontribuzioa:** Poster.

**Urtea:** 2015.

**Lekua:** Zaragoza, España.

**Egileak:** Leire Urbina, Itxaso Algar, Kizkitza González, Arantza Eceiza, Aloña Retegi.

**Izenburua:** Bionanocomposites obtained from renewable resources.

**Konferentzia:** 5<sup>th</sup> Workshop Green Chemistry and Nanotechnologies in Polymer Chemistry, ECLIPSE Workshop, BIOPURFIL Workshop.

**Kontribuzioa:** Poster.

**Urtea:** 2014.

**Lekua:** Donostia.

**Egileak:** Leire Urbina, Itxaso Algar, Kizkitza González, Arantza Eceiza, Aloña Retegi.

**Izenburua:** Iturri berriztagarrietatik eratorritako bionanokonpositeak.

**Konferentzia:** Materialen Zientzia eta Teknologiaren II. kongresua.

**Kontribuzioa:** Poster.

**Urtea:** 2014.

**Lekua:** Donostia.

# ERANSKINAK





## ERANSKINAK

### TAULAK

#### 3. Kapitulua: Arto almidoian oinarritutako filmak

3.1. Taula – Lortutako PLS eta TPS filmen deskribapena.....	54
3.2. Taula – Plastifikatzaile desberdinak erabiliz burututako gelatinizazioen gelatinizazio tenperatura (T) eta entalpia ( $\Delta H$ ) balioak.....	56
3.3. Taula – PLS filmen hesi propietateak. ....	66
3.4. Taula – PLS filmen hezetasun espezifikoa. ....	69
3.5. Taula – PLS eta zahartzearen ondorengo filmen hesi propietateak. ....	84

#### 5. Kapitulua: Almidoi eta polisakarido nanokristaletan oinarritutako nanokonposite filmak

5.1. Taula –WSNCez indartutako PLS nanokonposite filmen hesi propietateak. ....	119
5.2. Taula – WSNCz eta CNCz indartutako PLS nanokonposite filmen hesi propietateak.....	125

#### 6. Kapitulua: Almidoi eta karbonodun nanopartikuletan oinarritutako nanokonposite filmak

6.1. Taula – Gz errefortzatutako PLS nanokonpositeen transmitantzia balioak eta kolore parametroak.....	147
6.2. Taula – GOz errefortzatutako PLS nanokonpositeen transmitantzia balioak eta kolore parametroak.....	157

### IRUDIAK

#### 1. Kapitulua: Sarrera

1.1. Irudia – European prozesatutako laboreak eta almidoi merkatuaren aplikazioak [20] .....	5
1.2. Irudia – Amilosa eta amilopektinaren egitura kimikoak.....	6
1.3. Irudia – Arto-alearen eskema .....	6
1.4. Irudia – Almidoi granuluaren egitura antolakuntzaren maila desberdinen ereduak. a) Granulu osoaren sekzioa hilumatik hedatzen diren txandakatutako hazkunde eraztun erdikristalino (beltzak) eta amorfoak (zuriak) erakutsiz. b) <i>blocklet</i> egitura, non, hazkunde eraztun erdikristalinoen ( <i>blocklet</i> berdeak) tamaina hazkunde eraztun amorfoetan ( <i>blocklet</i> horiak) baino handiagoa den. c) Hainbat lamela kristalino eta amorfo aurkezten dituen <i>blocklet</i> normala. d) Lamela egitura, bertan amilopektina kateen antolamendua aurkezten delarik. e) Amilopektina multzoa: amilosa eta lipido	

kokapena amilopektina kateen antolamenduan. f) Amilopektina helize bikoitzaren egitura. g) Amilopektina helize bikoitzaren antolamenduaren goiko bista kristalen egitura desberdinak erakutsiz, A eta B-motako polimorfismoak hain zuzen.....	7
1.5. Irudia – Erabilitako plastifikatzaileen egitura kimikoak.....	12
1.6. Irudia – Grafitik eratorritako G, GO eta rGO ereduak.....	17
1.7. Irudia – Furano eta maleimida taldeen arteko DA erreakzioaren eskema.....	19
<b>2. Kapituluak: Materialak eta karakterizazio teknikak</b>	
2.1. irudia – Botikaren askapen neurketaren eskema.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>3. Kapituluak: Arto almidoian oinarritutako filmak</b>	
3.1. Irudia – Solvent casting bidez prestatutako PLS filmen fabrikazio prozesua. ....	52
3.2. Irudia – Estrusio/konpresio bidez lortutako TPS filmen fabrikazio prozesua.....	53
3.3. Irudia – Plastifikatzaile desberdinak erabiliz burututako gelatinizazioen DSC termogramak.....	56
3.4. Irudia – Sg35 gelatinizazioaren argi polarizatuko irudiak hautatutako denbora tarteetan. ....	57
3.5. Irudia – Arto almidoi normala eta PLS filmen XRD difraktogramak.....	58
3.6. Irudia – PLS filmen UV-vis transmitantzia neurketak.....	60
3.7. Irudia – PLS filmen aurreratze eta atzeratze kontaktu angelu neurketak.....	61
3.8. Irudia – PLS filmen $E'/E'_g$ eta $\tan \delta$ -ren bilakaera tenperaturarekin. ....	62
3.9. Irudia – ■ CSg35, ■ CSi35 eta ■ CSpd35 laginen propietate mekanikoak.....	64
3.10. Irudia – Plastifikatzaile puruen a) TG eta b) DTG kurbak.....	68
3.11. Irudia – PLS filmen a) TG eta b) DTG kurbak.....	69
3.12. Irudia – a) CSg35, b) CSi35 eta c) CSpd35 filmen AFM altura irudiak.....	71
3.13. Irudia – Arto almidoi normala eta TPS filmen XRD difraktogramak.....	72
3.14. Irudia – TPS filmen UV-vis transmitantzia neurketak.....	73
3.15. Irudia – TPS filmen $E'/E'_g$ eta $\tan \delta$ -ren bilakaera tenperaturarekin. ....	74
3.16. Irudia – TPS filmen a) TG eta b) DTG kurbak.....	75
3.17. Irudia – Solvent casting (marradun patroia) eta estrusio/konpresio (betetako patroia) bidez lortutako eta ■ Glizerol, ■ D-isosorbida and ■ 1,3-propanodiolaz plastifikatutako filmen propietate mekanikoak.....	77

3.18. Irudia – PLS (lerro jarraitua) eta zahartutako (lerro ez-jarraitua) filmen UV-vis transmitantzia neurketak. ....	80
3.19. Irudia – PLS (lerro jarraitua) eta zahartzearen ondorengo filmen (lerro ez-jarraitua) aurreratze eta atzerapen kontaktu angelu neurketak. ....	81
3.20. Irudia – ■ Glizerol, ■ D-isosorbida and ■ 1,3-propanodiolaz plastifikatutako PLS (marradun patroia) eta zahartzearen ondorengo filmen (betetako patroia) propietate mekanikoak. ....	83
3.21. Irudia – PLS eta zahartzearen ondorengo filmen AFM fase irudiak. ....	85

#### 4. Kapituluua: Nanoentitateak

4.1. Irudia – WSNC eta CNCen XRD difraktogramak. ....	95
4.2. Irudia – WSNC eta CNCen a) TG eta b) DTG kurbak. ....	96
4.3. Irudia – a) WSNC eta b) CNCen AFM fase eta altuera irudiak eta lerro urdinez adierazitako zonaldeetan lortutako altuera profilak. ....	98
4.4. Irudia – Isolatutako G eta GOren irudiak. ....	99
4.5. Irudia – Grafito, G, GO eta rGOren Raman espektruak. ....	101
4.6. Irudia – G, GO eta rGOren XRD difraktogramak. ....	103
4.7. Irudia – Grafito, G, GO eta rGOren a) TG eta b) DTG kurbak. ....	104
4.8. Irudia – a) G eta b) GOren TEM fase eta erresoluzio handiko irudiak. ....	105

#### 5. Kapituluua: Almidoi eta polisakarido nanokristaletan oinarritutako nanokonposite filmak

5.1. Irudia – WSNCez indartutako PLS nanokonpositeen $E'/E'_g$ eta $\tan \delta$ -ren bilakaera tenperaturarekin. ....	116
5.2. Irudia – ■ CSg35, ■ CSg35 - 1 (100/0), ■ CSg35 - 2,5 (100/0) eta ■ CSg35 - 1 (100/0) laginen propietate mekanikoak. ....	117
5.3. Irudia – WSNCez indartutako PLS nanokonposite filmen a) TG eta b) DTG kurbak. ....	120
5.4 Irudia – WSNCz eta CNCz indartutako PLS nanokonpositeen $E'/E'_g$ eta $\tan \delta$ -ren bilakaera tenperaturarekin. ....	122
5.5. Irudia – ■ CSg35, ■ CSg35 - 1 (100/0), ■ CSg35 - 1 (50/50) eta ■ CSg35 - 1 (0/100) laginen propietate mekanikoak. ....	123
5.6. Irudia – CSg35 - 1 (100/0), CSg35 - 1 (50/50) eta CSg35 - 1 (0/100) filmen AFMko altuera irudiak. Karratu zuriak eskuineko irudiaren zonaldea adierazten du. ....	125
5.7. Irudia – CSg35 eta ESg35 filmen $E'/E'_g$ eta $\tan \delta$ -ren bilakaera tenperaturarekin. ....	126

5.8. Irudia – WSNCz indartutako TPS nanokonposite filmen $E'/E'_g$ eta $\tan \delta$ -ren bilakaera tenperaturarekin.....	127
5.9. Irudia – ■ %0 WSNC, ■ %1 WSNC, ■ %2,5 WSNC eta ■ %5 WSNC laginen propietate mekanikoak. Solvent casting (marradun patroia) eta estrusio/konpresio (betetako patroia) .....	129
5.10. Irudia – WSNCz errefortzatutako TPS nanokonposte filmen a) TG eta b) DTG kurbak. ....	131
5.11. Irudia – WSNC eta CNC konbinatuz lortutako TPS nanokonposite filmen $E'/E'_g$ eta $\tan \delta$ -ren bilakaera tenperaturarekin.....	132
5.12. Irudia – ■ %0 WSNC, ■ %1 NC (0/100), ■ %1 NC (50/50) eta ■ %1 NC (0/100) laginen propietate mekanikoak. Solvent casting (marradun patroia) eta estrusio/konpresio (betetako patroia).....	133
<b>6. Kapituluak: Almidoi eta karbonodun nanopartikuletan oinarritutako nanokonposite filmak</b>	
6.1. Irudia – Salvia estraktuen eta Gz errefortzatutako PLS nanokonpositen FTIR espektroak a) $4000 - 600 \text{ cm}^{-1}$ tartean eta b) $2000 - 600 \text{ cm}^{-1}$ tarteko magnifikazioa.....	144
6.2. Irudia – Gz errefortzatutako PLS nanokonpositen XRD difraktogramak. ....	145
6.3. Irudia – CSg35 eta CSg35 – 1GE PLS filmen UV-vis transmitantzia neurketak. ....	146
6.4. Irudia – Gz errefortzatutako PLS nanokonposite filmen kontaktu angelu neurketak. ....	147
6.5. Irudia – Gz errefortzatutako nanokonposite filmen $E'/E'_g$ eta $\tan \delta$ -ren bilakaera tenperaturarekin. ....	148
6.6. Irudia – ■ CSg35, ■ CSg35 - 1GE, ■ CSg35 - 2.5GE eta ■ CSg35 - 5GE laginen propietate mekanikoak. ....	149
6.7. Irudia – Gz errefortzatutako nanokonposite filmen eroankortasun elektrikoa G edukiarekiko. ....	150
6.8. Irudia – Gz errefortzatutako nanokonposite filmen a) TG eta b) DTG kurbak. ....	152
6.9. Irudia – GOz errefortzatutako PLS nanokonpositen FTIR espektroak a) $4000 - 600 \text{ cm}^{-1}$ tartean eta b) $2000 - 600 \text{ cm}^{-1}$ tarteko magnifikazioa. ....	153
6.10. Irudia – GOz errefortzatutako PLS nanokonpositen XRD difraktogramak. ....	155
6.11. Irudia – GOz errefortzatutako PLS nanokonposite filmen UV-vis transmitantzia neurketak. ....	156
6.12. Irudia – GOz errefortzatutako PLS nanokonposite filmen kontaktu angelu neurketak. ....	157
6.13. Irudia – GOz errefortzatutako nanokonposite filmen $E'/E'_g$ eta $\tan \delta$ -ren bilakaera tenperaturarekin. ....	158

6.14. Irudia – ■ CSg35, ■ CSg35 - 1GO, ■ CSg35 - 2,5GO eta ■ CSg35 - 5GO laginen propietate mekanikoak.....	159
6.15. Irudia – GOz errefortzatutako nanokonposite filmen a) TG eta b) DTG kurbak.....	161
6.16. Irudia – rGOz errefortzatutako PLS nanokonpositen XRD difraktogramak.....	162
6.17. Irudia – rGOz errefortzatutako PLS nanokonposite filmen kontaktu angelu neurketak. ....	163
6.18. Irudia – Karbonodun egiturez errefortzatutako nanokonposite filmen eroankortasun elektrikoaren bilakaera nanoerrefortzu edukiarekiko. ....	165
6.19. Irudia – rGOz errefortzatutako nanokonposite filmen TG kurbak.....	166

## **7. Kapitulua: Saretutako almidoi eta zelulosa nanokristaletan oinarritutako nanokonposite hidrogelak**

7.1. Irudia – <sup>1</sup> H NMR espektoak a) almidoi gelatinizatua eta b) furanoz eraldatutako almidoia; osoa (ezkerrean) eta 8 - 6 ppm tarteko magnifikazioa (eskuinean) (Tenperatura = giro tenperatura, disolbatzailea = D <sub>2</sub> O) .....	177
7.2. Irudia – Sintetizatutako DA hidrogelaren azken itxura.....	178
7.3. Irudia – S-FI eta saretutako almidoizko hidrogelaren FTIR espektoak: a) 4000 - 600 cm <sup>-1</sup> tartea eta b) 2000 - 600 cm <sup>-1</sup> bitarteko magnifikazioa, giro tenperaturan.....	179
7.4. Irudia – DA erreazioaren garapenaren UV-vis espektoak 65 °C.....	180
7.5. Irudia – ■ HSFI4, ● HSFI4-2,5CNC eta ▲ HSFI4-5CNC hidrogelen maiztasun ekorketak: G' (ikur beteak) eta G'' (ikur hutsak). Baldintzak: 37 °C and %1. ....	183
7.6. Irudia – HSFI4, HSFI4-2,5CNC eta HSFI4-5CNC hidrogelentzat lortutako SR (%) vs denbora kurbak, PBSan 37 °Ctan. ....	184
7.7. Irudia – HSFI4, HSFI4-2,5CNC eta HSFI4-5CNC hidrogelen botika askapen profilak, PBSan 37 °C-tan.....	185
7.8. Irudia – HSFI4, HSFI4-2,5CNC eta HSFI4-5CNC hidrogelen mikroegitura porotsuen SEM mikrografiak. ....	187
7.9. Irudia – (a) Kontrol positiboa, negatiboa eta HSFI4, HSFI4-2,5CNC eta HSFI4-5CNC hidrogelekin 540 nm-tan lortutako absorbantzia balioak inkubazio denboraren aurrean eta b) L-929 fibroblasto zelulen bideragarritasuna kontrol positiboa, negatiboa eta HSFI4, HSFI4-2,5CNC eta HSFI4-5CNC hidrogelen 48 h-ko estraktuetan.....	188

## **8. Kapitulua: Saretutako almidoi eta grafenoan oinarritutako nanokonposite hidrogelak**

8.1. Irudia – BMI saretzailearen a) <sup>1</sup> H NMR eta b) <sup>13</sup> C NMR espektoak (* azido azetiko ezpurutasunak).....	199
--	-----

8.2. Irudia – DA erreakzioaren ondoren lortutako hidrogelen eta kontrol laginaren argazkiak .....	200
8.3. Irudia – BMI, S-FI eta lortutako hiru saretutako almidoizko hidrogelen FTIR espektroak a) 4000 - 600 cm <sup>-1</sup> tartea eta b) 2000 - 600 cm <sup>-1</sup> bitarteko magnifikazioa, giro tenperaturan .....	201
8.4. Irudia – DA erreakzioaren garapenaren UV-vis espektroak 65 °C-tan.....	202
8.5. Irudia – ■ HSFI2-1:0,5, ● HSFI2-1:1,0 eta ▲ HSFI2-1:1,5 hidrogelen maiztasun ekorketak: G' (ikur beteak) eta G'' (ikur hutsak). Baldintzak: 37 °C and %1.....	204
8.6. Irudia – HSFI2-1:0,5, HSFI2-1:1,0 eta HSFI2-1:1,5 almidoizko hidrogelen mikroegitura porotsuen SEM mikrografiak.....	205
8.7. Irudia – Almidoizko hidrogelentzat lortutako SR (%) vs denbora kurbak, PBSn 37 °C-tan. ....	206
8.8. Irudia –HSFI2-1:1,5GE hidrogela .....	208
8.9 Irudia – ▲ HSFI2-1:1,5 eta ◆ HSFI2-1:1,5GE hidrogelen maiztasun ekorketak: G' (ikur beteak) eta G'' (ikur hutsak). Baldintzak: 37 °C and 1 Hz. ....	208
8.10. Irudia – HSFI2-1:1,5GE hidrogelaren test antibakteriarrak a) <i>E. coli</i> (bikoiztua) and b) <i>S. aureus</i> (bikoiztua) inhibizio haloak 24 h (gorriz) eta 48 h (beltzez).....	210
8.11. Irudia – Amidoizko HSFI2-1:1,5 eta HSFI2-1:1,5GE hidrogelen mikroegitura porotsuaren SEM mikrografiak.....	211

## ESKEMAK

### 7. Kapituluua: Saretutako almidoi eta zelulosa nanokristaletan oinarritutako nanokonposite hidrogelak

7.1 Eskema – Furanoz eraldatutako almidoiaren sintesia.....	174
7.2 Eskema – Uretan disolbagarria den TTMI saretzaile tetrafuntzionalaren egitura kimikoa .....	175
7.3 Eskema – DA saretze erreakzioa S-FI eta TTMI artean .....	175
7.4 Eskema – CNCz indartutako nanokonposite hidrogelak lortzeko DA saretze erreakzioa .....	176

### 8. Kapituluua: Saretutako almidoi eta grafenoan oinarritutako nanokonposite hidrogelak

Eskema 8.1 – BMI saretzailearen sintesia .....	194
Eskema 8.2 – DA saretze erreakzioa S-FI eta BMI artean.....	195
Eskema 8.3 – Gz indartutako nanokonposite hidrogelak lortzeko DA saretze erreakzioa.....	196

**LABURDURAK**

<sup>1</sup> HNMR	Proton nuclear magnetic resonance spectroscopy
AFM	Atomic force microscopy
ARES	Advanced Rheometric Expansion System
CNC	Cellulose nanocrystals
DA	Diels-Alder
DMA	Dynamic mechanical analysis
DMSO	Dimethyl sulfoxide
DS	degree of substitution
DSC	Differential scanning calorimetry
FTIR	Fourier transform infrared spectroscopy
NMP	N-methyl pyrrolidone
NMR	Nuclear magnetic resonance
OTR	Oxygen transmission rate
PBS	Phosphate buffered saline
PLS	Plasticised Starch
RH	Relative humidity
SEM	Scanning electron microscopy
SR	Swelling ratio
TGA	Thermogravimetric analysis
TPS	Thermoplastic starch
UV-vis	Ultraviolet-visible
WSNC	Waxy maize starch nanocrystals
WVTR	Water vapor transmission rate

**LIST OF SYMBOLS**

$\theta$	Contact angle
$2\theta$	Reflectance angle
$\lambda$	Incident radiation wavelength
$\theta_a$	Advancing contact angle
$\theta_r$	Receding contact angle



$A$	Area of film
$a^*$ and $b^*$	Chromaticity parameters
$a_{ext}$	Penetrant activity outside the cell
$a_{int}$	Water activity
$d$	Shortest distance between successive identical planes in the crystal
$E'$	Stored modulus
$E''$	Loss modulus
$G'$	Storage modulus
$G''$	Loss modulus
$I_d/I_g$	Intensity ratio of D and G bands
$I_x$	Peak intensity of a crystallographic plane
$l$	Film thickness
$L^*$	Luminosity
$m$	Weight loss of the cell
$n$	Whole number (in our case 1)
$R_q$	Roughness
$\tan \delta$	Tangent of phase angle
$T_g$	Glass transition
$T_{gel}$	Gelatinisation temperature
$T_{\alpha 1}$	Temperature of the plasticizer-rich phase
$T_{\alpha 2}$	Temperature of the starch-rich phase
$W_d$	Initial weight of the freeze-dried sample
$W_s$	Weight of the swollen simple
$W_t$	Weight of the final dried simple
$\Delta E$	Total difference parameter
$\Delta H_{gel}$	Gelatinisation enthalpy
$\omega$	Frequency



