



IKER
GAZTE
NAZIOARTEKO
IKERKETA EUSKARAZ

V. IKERGAZTE

NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2023ko maiatzaren 17, 18 eta 19a
Donostia, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)



Aitortu-PartekatuBerdin 3.0

INGENIARITZA ETA ARKITEKTURA

**Agar-ekoizpeneko hondakinak 3D
inprimaketarako soja-proteinazko
hidrogelen betegarri**

*Jone Uranga Gama,
Teresa Carranza Fernandino,
Pedro Guerrero Manso
eta Koro De la Caba Ciriza*

29-33 or.

<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.v.03.03>

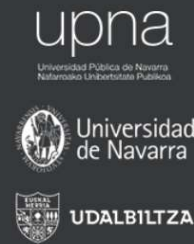
ANTOLATZAILEA:



BABESLEAK:



LAGUNTZAILEAK:



Agar-ekoizpeneko hondakinak 3D inprimaketarako soja-proteinazko hidrogelen betegarri

Jone Uranga, Teresa Carranza, Pedro Guerrero, Koro de la Caba

BIOMAT taldea, Ingeniaritza Kimikoa eta Ingurumenaren Ingeniaritza saila, Gipuzkoako Ingeniaritza Eskola, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Europa Plaza 1, 20018 Donostia.

jone.uranga@ehu.eus

Laburpena

Zelulosadun agar-ekoizpeneko hondakina balioztatzeke asmoz, inolako eraldaketarik egin gabe soja-proteinan oinarritutako hidrogeletan erantsi da betegarri gisa. Hidrogel horien azterketa erreologikoa egin da zizailadura bidezko mehetze portaera eta 3D inprimaketarako egokitasuna baieztatzeke. Hidrogel guztiak gel ahulak direla ikusi da, 3D inprimaketarako egokiak, inpresio eta formaren fideltasun ona azaltzen baitute. Zelulosa gehitzeak interakzio fisikoak eragiten ditu eta horrek inprimatutako scaffold-en gogortasuna eta forma berreskuratzea bultzatzen du. Emaitzetan, ekonomia zirkularra sustatzeko eta baliabideen erabilera minimizatzeko eraldatu gabeko hondakinak dituzten scaffold-ek duten potentziala beha daiteke.

Hitz gakoak: Hidrogelak, proteinak, zelulosa, erreologia, 3D inprimaketa

Abstract

Agar production residue containing cellulose was incorporated into soy protein-based hydrogels as a filler and revalorized without further purification. Rheological assessment of these hydrogels was carried out in order to confirm their shear-thinning behavior and their suitability for 3D printing. It was observed that all hydrogels behaved as weak gels, being suitable for 3D printing and having good printability and shape fidelity. The addition of cellulose caused physical interactions, which promoted hardness and shape recovery of 3D printed scaffolds. Results suggested the potential of the 3D printed scaffolds developed, using residues without further purification, to promote circular economy, minimizing the use of resources.

Keywords: Hydrogels, proteins, cellulose, rheology, 3D printing

1. Sarrera eta motibazioa

Biztanleriaren hazkundeak, banakako kontsumoaren dibertsifikazioak, hiri-kontzentrazioak, industria-kopurua handitzeak eta hondakinak tratatzeko estrategiarik ezak ingurumenarekin eta giza osasunarekin lotutako arazoak sortzen dituzte. Ekonomia zirkularreko politikekin eta zero zabor filosofiarekin bat eginez, azken urteetan industria-hondakinak erabiliz sortutako eta ingurumena errespetatzen duten material berritzaileak prestatzeko joera azaldu da. Testuinguru horretan, alga gorria aipa daiteke, bereziki *Gelidium sesquipedale*. Alga hau mundu osoan dago eskuragarri eta honen erabileratik sortutako agar-produktuak ekoizteko industria garrantzitsua bihurtu da, kosmetikoetatik hasi eta elikagaien industriaraino. Agar erauzketa-prozesuaren ondoren hondakin ugari sortzen da, gaur egun apenas erabiltzen dena; horrela, gehienak bota edo lurzoruaren ongarri gisa erabiltzen dira (Li et al., 2022). Beraz, alga-hondakin ugari daude eta oraindik ez da balio erantsi handiko materialak ekoizteko haien balorizazioa garatu. Hondar horien % 87,4a materia organikoa da, batik bat zelulosa eta proteinak (Martínez-Sanz et al., 2020). Beraz, hondakin horiek bio-oinarritutako materialen fabrikazioan erabiltzea interesgarria litzateke hondakin-fluxu horri balioa eransteke.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Literaturan egindako azterlan askok zelulosa purua lortzean jartzen dute fokua, nahiz eta erabilitako aurretratamendu, bereizketa eta funtzionalizazioak konplexuak izan. Gainera, azpiproduktu kaltegarriak sortzeko aukera dago hauetan eta arrisku posibleetako batzuk aipatzearen, kloroaren eta amoniakoaren ihesa, usaina, lurpeko uren kutsadura, toxikotasuna eta kartzinogenoak zerrenda daitezke. Hidrolisi azidoa da erauzketa-metodorik seguruenak, baina

prozedura horrek ere kalteak eragiten ditu ingurumenean (Hafid et al., 2021). Beraz, erauzketa-prozedura sinplifikatuak aplikatzea edo erauzketarik ez egitea onuragarria izan daiteke ekonomiaren eta ingurumenaren ikuspegitik. Zelulosazko materialak eraldaketarik gabe ekoizteko metodo bat hidrogelak prestatzea da. Polimero naturalez, bereziki polisakaridoz, osatutako hidrogelak material erakargarriak dira, eremu askotan erabiltzen baitira (nekazaritza, ehun-ingeniaritza, farmakoen askapen sistemak edota biosentsoreak). Gainera, lehengai ekologiko, berriztagarri eta ekonomikoetatik abiatuta egotearen abantaila dute. Hori da, hain justu, lan honen gidalerroa, izan ere, agar-ekoizpenean lortutako hondakina, nagusiki zelulosaz eta proteinaz osatua, eraldatu gabe betegarri gisa erabili da proteina-oinarriko formulazioetan. Hondakin hori erabiltzean hainbat onura lortu nahi dira: bata, hondakinak modu eraginkorragoan ezabatzea eta, bestea, kostu txikiagoa eta balio-erantsia duten produktuak prestatzea.

Zelulosa eta haren deribatuak sarritan beste biopolimero batzuekin nahasten dira, propietateak hobetzeko. Horien artean aurki daitezke proteinak, hala nola, soja-proteina, beste molekula batzuekin elkartzea errazten duten talde polar ugari dituen landare-proteina (Wu et al., 2020). Nahaste horiek hainbat metodoren bidez prozesa daitezke, besteak beste, 3D inprimaketaren bidez. Inprimatzeko gaitasuna materialaren propietate erreologikoen arabera dela kontuan hartuta, beste biopolimero batzuk ere erabil daitezke, gelatina esaterako, 3D inprimaketa-prozesurako behar den biskositatea lortzeko (Chen et al., 2019). Lan honetan, 3D inprimaketaren bidez soja-proteinazko scaffold-ak prestatu dira, gehigarri gisa gelatina eta agar-ekoizpeneko hondakinak gaineratuz. Lehenik eta behin, hidrogelen erreologia eta inprimatzeko gaitasuna ebaluatu dira, hondakin-edukiak 3D inprimaketan duen eragina aztertzeko. Gainera, scaffold-en karakterizazioa ere egin da.

3. Ikerketaren muina

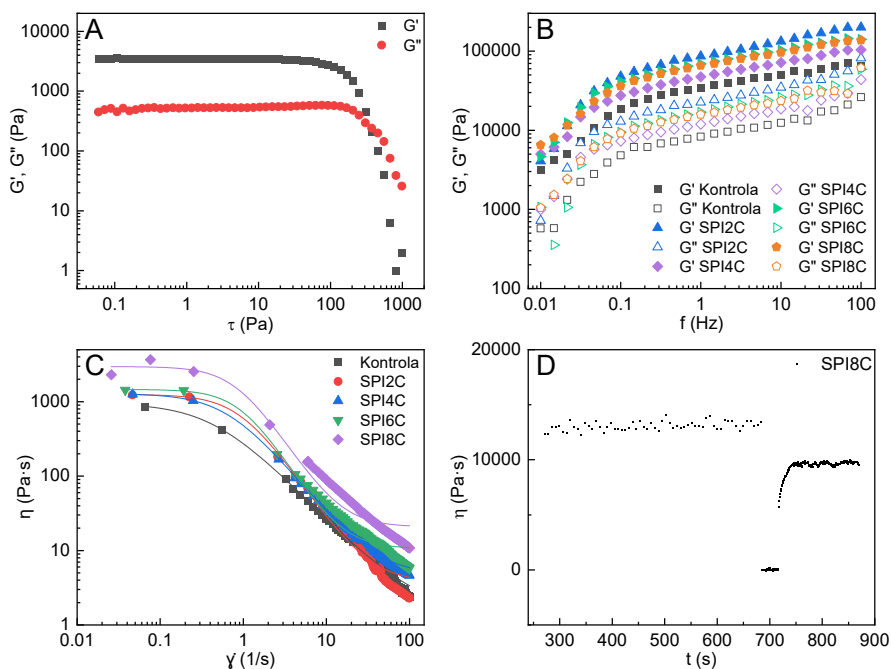
3.1 Hidrogelen eta scaffold-en prestaketa

Hidrogelak prestatzeko, isolatutako soja-proteina (SPI) (% 50 masa/bolumena), txerri-gelatina (% 5, soja idorreriko, masa portzentajearen arabera), glizerola (% 20, soja idorreriko, masa portzentajearen arabera) eta agar-ekoizpeneko hondakin ehotua (C) 50 mL ur destilatuan nahastu dira. Erabilitako hondakin kantitateak hauexek izan dira: sojarekiko % 0, 2, 4, 6 edo 8, masa portzentajearen arabera. Scaffold-en izendapena erabilitako hondakin kantitate hauen arabera egin da: Kontrola, SPI2C, SPI4C, SPI6C eta SPI8C. Ordenagailu laguntzazko diseinu (CAD) software bat erabili da 20 mm-ko diametroa eta 20 mm-ko altuera duten scaffold-ak diseinatzeko, eta prestatzeko, berriz, domoBIO 2A (Domotek, Gipuzkoa, Espainia) 3D inprimagailua.

3.2 Emaitzak

Hidrogelek inprimatzeko izango duten egokitasuna zehazteko analisi erreologikoa burutu da. Horrela, eremu biskoelastiko lineala (LVR) zehaztu da (1.A. irudia) eta eremu horretan hidrogelek solido gisako portaera azaldu dute (biltegitarte modulua (G') > galera modulua (G'')). LVR eremu handia lortu da, zeinak laginen forma-leialtasuna handia dela adierazten duen (Chen et al., 2021). Horrez gain, galera tangentzial ertain-txikiak dituzte laginek (1.B. irudia) eta, hortaz, gel ahul direla esan daiteke (Manzoor et al., 2020). Bestalde, zelulosa gehitzeak handitu egiten ditu zertxobait G' eta G'' -ren balioak eta horrek adierazten du proteina-polisakarido molekulen arteko interakzioez eratutako sare sendoagoa eta estuagoa lortzen dela. Dena den, ez da joera argirik aurkitu zelulosaren edukia handitzean, ziurrenik zelulosadun lagin guztiek antzeko mikroegitura izango dutelako. Zelulosa kantitatea handitzean biskositatea ere handiago egiten da, % 8 hondakin duten hidrogelek baliorik handienak azalduz (1.C. irudia). Halere, hidrogel guztiek inprimatzeko aproposa den zizailadura bidezko mehetze portaera azaltzen dute. Azkenik, hidrogelek jalki eta forma mantentzeko beharrezkoa duten errekupeazioak % 70 inguruko balioak hartzen ditu (1.D. irudia), SPI8C laginak % 78ko baliorik altuena erakusten duelarik.

1. irudia. Hidrogelen analisi erreologikoak. A. Anplitudearen ekorketa (kontrola). B. Frekuentziaren ekorketa (lagin guztiak). C. Fluxu testa eta Cross eredu (lagin guztiak). D. Hiru tarteko tixotropia testa (SPI8C).



Scaffold-ei dagokienez, 2. irudian ikus daitekeen bezala, itxura aproposa azaltzen dute laginek. Halere, formaren fideltasuna kuantifikatzeko, deskribatzaile geometrikoak (zirkularitatea (Cr) eta inprimatze-gaitasuna (Pr)) erabili dira, poroak aztertu eta haien dimentsioak prestatutako CAD diseinuarekin alderatu ahal izateko. Horrela, 1. taulan ikus daitekeen bezala, kontrolak poro karratu perfektuetatik (Cr $\pi/4$ eta Pr 1) gertuen dauden emaitzak erakusten ditu. Halere, nabarmentzekoa da lagin guztiak balio onargarriak azaltzen dituztela 0,9-1,1 tartean.

2. irudia. 3D inprimatutako laginen irudiak.



1. taula. Zirkularitate (Cr) eta inprimatze-gaitasun (Pr) balioak 3D inprimatutako laginetan.

Laginak	Cr	Pr
Kontrola	0,76±0,01 ^a	1,04±0,02 ^a
SPI2C	0,74±0,02 ^b	1,06±0,03 ^b
SPI4C	0,72±0,02 ^c	1,09±0,03 ^c
SPI6C	0,73±0,01 ^{bc}	1,07±0,02 ^{bc}
SPI8C	0,72±0,02 ^c	1,09±0,03 ^c

^{a-c}Zutabe berean letra bera duten bi balio ez dira esanguratsuki ($p > 0,05$) ezberdinak Tukey-ren froga anizkoitzaren arabera.

Scaffold-en puzte gaitasuna eta degradazioa ere aztertu da, PBS ingurunean laginek duten jarrera behatzeko (2. taula). Kontrol laginak puzte balio altuenak dituela eta SPI8C scaffold-ak baliorik txikienak (\approx % 400) dituela ikusita, interakzio fisikoak baieztatu ahal izan dira. Lortutako balioak interesgarriak dira zenbait aplikaziotarako, hala nola, zaurien sendatzerako, puzte gaitasun handiak behar baitira. Gainera, literaturan azaltzen diren SPI scaffold-en emaitzekin alderatuta (Varshney et al., 2022), laginek bere osotasuna gordetzen dute PBS 37 °C-an murgiltzean eta lagin guztietan 24 ordutara pisu-galera % 30-40koa da.

2. taula. Laginen puzte 5 eta 24 ordutara, eta degradazioa 24 ordutara.

Laginak	Puztea 5 h-tara (%)	Puztea 24 h-tara (%)	Degradazioa 24 h-tara (%)
Kontrola	454±37 ^a	484±42 ^a	35±8 ^a
SPI2C	396±12 ^{ab}	417±32 ^{ab}	37±5 ^a
SPI4C	406±8 ^{ab}	425±10 ^{ab}	38±2 ^a
SPI6C	408±28 ^{ab}	429±33 ^{ab}	32±2 ^a
SPI8C	385±20 ^b	398±17 ^b	37±5 ^a

^{a-b}Zutabe berean letra bera duten bi balio ez dira esanguratsuki ($p > 0,05$) ezberdinak Tukey-ren froga anizkoitzaren arabera.

4. Ondorioak

Lehenik, hidrogelen inprimatzeko gaitasuna aztertu da azterketa erreologiko bitartez eta ikusi hondakin kantitate guztiak direla aproposak inprimatzeko. Izan ere, inprimatzeko egokiak diren portaera erreologikoak behatu dira, besteak beste, zizailadura bidezko mehetze portaera. Scaffold-etako poroak CAD diseinukoekin alderatu direnean ikusi da lagin guztiek Cr eta Pr balio onargarriak azaltzen dituztela eta, hortaz, hidrogelen 3D inprimaketarako egokitasuna berretsi da. Azkenik, PBS ingurunean scaffold-ek osotasuna mantentzearekin batera, puzte balio esanguratsuak azaldu dituzte.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Lan honetan prestatutako hidrogelak inprimatzeko egokiak direla ikusi da. Hortaz, etorkizuneko lerro posibleen artean interesgarria izango da sortutako scaffold horiei aplikazio apropos bat ematea, hau da, scaffold-ak karakterizatu eta aukeratutako aplikaziorako egokiak direla baieztatzea. Lanean zehar aipatu den bezala, scaffold-ek puzte gaitasun handiak behar diren aplikazioetarako potentziala azaltzen dute. Hortaz, zaurien sendatzean zer nolako erabilgarritasuna duten beha daiteke, horretarako *in vitro* entseguak aurrera eramanez. Aipatzekoa da, sendatzeko zailak diren zauri kronikoen eragin soziala/ekonomikoa handia dela eta patologia hori osasun publikoko arazo larritzat jotzen dela. Hortaz, planteatzen den etorkizuneko ikerketa lerro honek garrantzi handia izango du, osasun-gastu handia suposatzen duen arazo bati aurre egiteko aukera eskaini baitezake.

6. Erreferentziak

Chen, J., Mu, T., Goffin, D., Blecker, C., Richard, G., Richel, A. eta Haubruge, E. (2019). Application of soy protein isolate and hydrocolloids based mixtures as promising food material in 3D food printing. *Journal of Food Engineering*, 261, 76-86. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.03.016>

- Chen, M., Yang, L., Zheng, Y., Li, L., Wang, S., Huang, Y., Zhao, P., Lu, L. eta & Cheng, X. (2021). Rheological behaviors and structure build-up of 3D printed polypropylene and polyvinyl alcohol fiber-reinforced calcium sulphoaluminate cement composites. *Journal of Materials Research and Technology*, 10, 1402-1414. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2020.12.115>
- Hafid, H.S., Omar, F.N., Zhu, J. eta Wakisaka, M. (2021). Enhanced crystallinity and thermal properties of cellulose from rice husk using acid hydrolysis treatment. *Carbohydrate Polymers*, 260, 117789-117800. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117789>
- Li, Z., Hu, Q., Chen, J., Liu, X., Sang, Y., Wang, J., Zheng, M., Ni, H., Li, Q., Jiang, Z. eta & Zhu, Y. (2022). Optimized strategy for simultaneous recovering bioactive oligosaccharides and reusable perlite from agar industrial waste residues. *Journal of Cleaner Production*, 378, 134631-134642. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.134631>
- Manzoor, M., Singh, J., Bandral, J. D., Gani, A., & Shams, R. (2020). Food hydrocolloids: Functional, nutraceutical and novel applications for delivery of bioactive compounds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 165, 554-567. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.182>
- Martínez-Sanz, M., Cebrián-Lloret, V., Mazarro-Ruiz, J. eta López-Rubio, A. (2020). Improved performance of less purified cellulosic films obtained from agar waste biomass. *Carbohydrate Polymers*, 233, 115887-115899. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.115887>
- Varshney, N., Sahi, A.K., Poddar, S., Vishwakarma, N.K., Kavimandan, G., Prakash, A. eta Mahto, S.K. (2022). Freeze-Thaw-Induced Physically Cross-linked Superabsorbent Polyvinyl Alcohol/Soy Protein Isolate Hydrogels for Skin Wound Dressing: In Vitro and In Vivo Characterization. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 14(12), 14033-14048. <https://doi.org/10.1021/acsami.1c23024>
- Wu, M., Wu, P., Xiao, L., Zhao, Y., Yan, F., Liu, X., Xie, Y., Zhang, C., Chen, Y. eta Cai, L. (2020). Biomimetic mineralization of novel hydroxyethyl cellulose/soy protein isolate scaffolds promote bone regeneration in vitro and in vivo. *International Journal of Biological Macromolecules*, 162, 1627-1641. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.029>

7. Eskerrak eta oharrak

Egileek Eusko Jaurlaritzari (IT1658-22) eta Zientzia eta Berrikuntza Ministerioari (PID2021-124294OB-C22) eskertu nahi diete emandako diru laguntza. Halaber, Jone Urangak Euskal Herriko Unibertsitateari UPV/EHU (ESPDOC21/74) eta Teresa Carranzak Eusko Jaurlaritzari (PRE_2021_1_0254) eskerrak ematen dizkiete diru-laguntzengatik.