Películas de almidón reforzadas con fibras de celulosa obtenidas de residuos de plátano macho

R. A. González-Soto[1], S. J. Guzmán-Ozuna[2]*
[1]Centro de Desarrollo de Productos Bióticos del Instituto Politécnico Nacional, Carretera Yautepec-Jojutla, Km. 6, calle CEPROBI No. 8, Col. San Isidro, Yautepec, Morelos, México. C.P. 62731. [2]Instituto Tecnológico de Acapulco. Avenida Instituto Tecnológico S/N, Crucero del Cayaco, Acapulco, Gro. México. C.P. 39905,
**Email:* rsoto@ipn.mx
***Área de participación**: Ingeniería Química*

Resumen

Se obtuvieron películas elaborada con almidón de papa como matriz polimérica y reforzadas con nanocelulosas obtenidas del pseudotallo, raquis y cáscara de plátano macho, se midieron las propiedades mecánicas y de barrera de las películas. La adición de las tres nanofibras logró una disminución de la permeabilidad y la solubilidad de las películas, con respecto al control (película sin nanofibras). El valor más alto de la tensión a la fractura se observó en la película con nanocelulosa de raquis, mientras que la película con nanocelulsa de cáscara obtuvo una mayor elongación. Mediante microscopía electrónica se logró observar que las películas mostraban una superficie uniforme, sin grietas o fracturas; indicando una buena interacción entre los componentes. La adición de nanofibras de cáscara, pseudotallo y raquis de plátano macho produjo efectos diferenciados al ser adicionadas a películas de almidón de papa, logrando un mejoramiento en sus propiedades mecánicas y de barrera.

***Palabras clave**: Películas biodegradables, almidón, nanocelulosa, plátano macho.*

Abstract

Films made with potato starch as a polymeric matrix were obtained and reinforced with nanocelluloses obtained from the stem, rachis and peel of banana variety "macho", the mechanical and barrier properties of the films were measured. The addition of the three nanofibers achieved a decrease of permeability and solubility of the films, with respect to the control (film without nanofibers). The highest value of tensile strength was observed in the film with stem nanocellulose, while the film with peel nanocellulose obtained a higher elongation. By electronic microscopy, it was observed that the films showed a uniform surface, without cracks or fractures; indicating a good interaction between the components. The addition of peel, stem and rachis nanofibers from banana variety "macho" produced differentiated effects when added to potato starch films, achieving an improvement in their mechanical and barrier properties.

***Key words**: Biodegradable films, starch, nanocellulose, banana.*

Introducción

Los polímeros de origen petroquímico son los materiales con más demanda para el empaquetamiento de alimentos, ya que tienen gran disponibilidad, resistencia y son una buena barrera contra los gases. Sin embargo, debido a la creciente problemática de contaminación por residuos sólidos, se ha buscado obtener materiales que sean amigables con el ambiente y que sustituyan a los plásticos derivados del petróleo [Cyras y col., 2008]. Actualmente los polisacáridos son una de las opciones más convenientes para la elaboración de bioplásticos, ya que estos se obtienen de productos naturales. El almidón es un polisacárido termoplástico, versátil y abundante, que se puede obtener a bajo precio; y es uno de los materiales más prometedores para sustituir a los plásticos utilizados como materiales de empaque; sin embargo, debido a su naturaleza hidrofílica, las propiedades de barrera y mecánicas de las películas de almidón son pobres [Majdzadeh-Ardakani, y col., 2010]. La aplicación de diversos aditivos a las películas de almidón para mejorar estas propiedades, ha sido ampliamente estudiada. Se ha probado la adición de nanopartículas para formar nanocompuestos (materiales formados por dos o más fases donde al menos una de ellas tiene una de sus tres dimensiones a escala nanométrica); las nanopartículas actúan como material de refuerzo dentro de la matriz polimérica, haciendo más resistente al polisacárido y evitando también la difusión de los gases y el vapor de agua [Chivrac, y col., 2010].

rec. 31/ago/2018, acc. 14/sep/2018

La nanocelulosa es un derivado celulósico que tiene al menos una dimensión en el intervalo de los nanómetros; es posible obtener nanofibras y nanocristales de celulosa a través de distintos procesos mecánicos, químicos, enzimáticos o biológicos [Wang y Sain, 2007]. Diversos autores han estudiado el efecto de la adición de nanofibras de celulosa en películas de almidón, informando que el aumento de éstas nanofibras de celulosa disminuye la permeabilidad al vapor de agua, la solubilidad, y la difusión del agua en comparación con películas de almidón sin fibras (Muller, y col., 2009). La industria agrícola es una de las principales fuentes de generación de residuos sólidos celulósicos, que se pueden obtener a parir de pseudotallos, raíces, hojas u otras partes de las plantas que no son utilizadas. Estos residuos pueden permitir la obtención de productos sustentables y no contaminantes. La industria platanera produce una gran cantidad de residuos vegetales, de los cuales, después de un proceso de extracción alcalina y blanqueo se obtiene celulosa, que puede ser utilizada para producir nanocelulosa; y servir como material de refuerzo dentro de matrices poliméricas de almidón, para formar películas biodegradables más resistentes y menos permeables a vapores y agua [Shah y col., 2005].

En el presente trabajo se obtuvo nanocelulosa a partir de tres diferentes desechos agrícolas como son el raquis, la cáscara y el pseudotallo del plátano macho (*Musa paradisiaca* L). Se elaboraron películas de almidón de papa reforzadas con las tres nanocelulosas y se realizó una caracterización de algunas de sus propiedades mecánicas (tensión a la fractura, porcentaje de elongación y módulo de Young), así como la permeabilidad al vapor de agua.

Metodología

Materiales

Se utilizaron la cáscara, pseudotallo y raquis de plátano macho (*Musa paradisiaca* L), los cuales fueron previamente sometidos a un proceso de secado a 45°C y una posterior molienda. Se utilizó almidón de papa nativo de Industrias Alimenticias FABP, S.A. de C.V.; glicerol ACS para uso en el laboratorio (Productos Químicos Monterrey, S.A. de C.V.). Todos los reactivos químicos utilizados fueron grado analítico.

Obtención de nanocelulosa

Para la extracción de la celulosa a partir del pseudotallo, raquis y cáscara de plátano macho se utilizó un proceso adaptado de las metodologías propuestas por Abraham y col. [2011] y Cherian y col. [2008], que consistió en un tratamiento alcalino con 2% de hidróxido de sodio por 6 h a una temperatura de 30°C. Posteriormente la fibra macerada se procesó en una autoclave a una presión de 150 Pa por 1.5 h, a una temperatura de 125 °C. Finalmente la fibra se blanqueó con clorito de sodio al 1% a 75°C por 2 h, a un pH de 4. Posteriormente, la celulosa se sometió a una hidrólisis parcial, utilizando ácido oxálico al 5% y seguido de un segundo paso en autoclave a 150 Pa por 1.5 h a una temperatura de 125 °C. Una vez terminado el tratamiento se lavó con agua destilada y se centrifugó a 2500 rpm por 20 min. La nanocelulosa, se obtuvo mediante una hidrólisis ácida con una solución al 15% (p/p) de H_2SO_4 a 45°C, con agitación continua durante 30 minutos. Pasado el tiempo la muestra se centrifugó a 2000 x g durante 30 min a 12°C. Se lavó hasta retirar los residuos de ácido, se liofilizó en una liofilizadora Labconco Modelo FreeZone 18 (EEUU) y se almacenó hasta su uso.

Obtención de películas

Las películas se elaboraron por el método de vaciado en placa o “casting” [Mali y col., 2002]. Se utilizó almidón de papa nativo como matriz polimérica. Se pesaron 8 g de almidón y 2.8 g de glicerol como plastificante, se agregaron 200 ml de agua destilada, esta solución se mantuvo en agitación constante y se calentó hasta alcanzar una temperatura de 95°C y se mantuvo a esta temperatura por 10 min. Posteriormente se enfrió a 70°C y se agregaron 0.2 g de nanocelulosa (de pseudotallo, raquis o cáscara) previamente ultrasonicada a una amplitud del 70% durante 10 min, en un procesador ultrasónico Hielscher, modelo UP200St (Alemania). La agitación de la solución filmogénica se mantuvo durante 30 min, manteniendo la temperatura de 70°C, posteriormente se vació en placas de plástico recubiertas con tela de teflón, se colocó en una estufa a una temperatura de 65°C durante 6 h, asegurando que se evaporara el agua por completo, transcurrido este tiempo la película se desprendió cuidadosamente de la placa y se acondicionó durante 48 h a una humedad relativa (HR) del 57% a 25° ± 2° C, en un desecador que contenía una solución saturada de bromuro de sodio.

Espesor de las películas

El grosor de cada película se midió con un micrómetro electrónico Fowler High Precision, modelo 54-850-001 (EE. UU.). Las mediciones se realizaron en 10 diferentes puntos al azar a lo largo de cada espécimen.

Propiedades mecánicas de las películas reforzadas con nanofibras de celulosa

Se utilizó el método estándar ASTM, D-992-95 [ASTM, 1989], en un Texturómetro Stable Micro Systems, modelo TA-XT2i (UK). Se midió la tensión a la fractura (TF), porcentaje de elongación (%E) y el módulo de Young (MY) de las películas.

Permeabilidad al vapor de agua

La permeabilidad al vapor de agua (PVA) de las películas, se determinó empleando el método gravimétrico estándar de la ASTM, E 96-80 (ASTM, 1989) conocido como el "método de la copa" o "celda de prueba".

Porcentaje de solubilidad

El porcentaje de solubilidad (%S) de las películas de determinó de acuerdo a la metodología propuesta por García y col. [2004], con algunas modificaciones. Se recortaron rectángulos de película de 2x3 cm y se colocaron durante 7 días en un desecador provisto con una solución saturada de acetato de potasio a una HR de 22%. Las muestras se colocaron en vasos de precipitado, se agregaron 80 mL de agua desionizada y se mantuvieron en agitación constante por 1 h a temperatura ambiente. Trascurrido el tiempo de agitación, las piezas de película se secaron en una estufa a 100°C durante 8 h. Se calculó el porcentaje de materia soluble como %S.

Microscopía electrónica de barrido

Se utilizó un Microscopio Electrónico de Barrido Zeiss, Modelo Evo LS 10 (Alemania), trabajando con un voltaje de 15.00 kV, tomando fotos de la morfología de las fibras de nanocelulosa a un aumento de 15,000 X así como fotos superficiales y transversales de las películas con un aumento de 500 X.

Resultados y discusión

Obtención de nanofibras

En la figura 1 se muestran las microfotografías de las nanocelulosas obtenidas a partir de la cáscara, el raquis y el pseudotallo del plátano macho, para las tres muestras se pueden observar estructuras fibrosas. Se realizaron las mediciones de los grosores de las fibras y para la celulosa de cáscara se observan grosores que van de 29 nm a 64 nm, para el raquis las fibras son más cortas y los grosores observados van de 63 nm hasta 112 nm, mientras que para las fibras de celulosa de pseudotallo fueron de 24 nm hasta 72 nm. Se define a la nanocelulosa como un derivado celulósico que tiene al menos una dimensión en el intervalo de los nanómetros [Wang y Sain, 2007], por ello se puede considerar que las fibras obtenidas de las tres muestras son nanocelulosas.

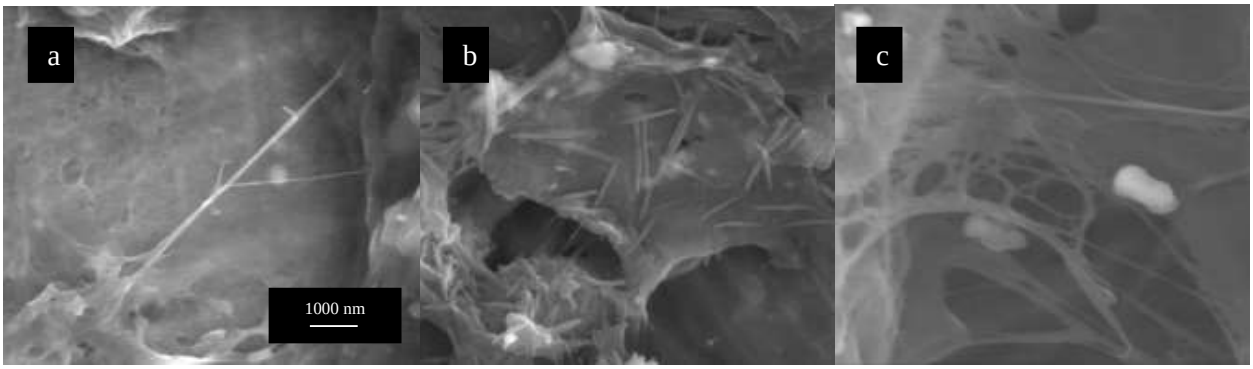

Figura 1.- Microfotografías (15,000 X) de nanofibras de celulosa de a: Cáscara, b: Pseudotallo y c: Raquis de plátano macho.

Propiedades mecánicas, de barrera y porcentaje de solubilidad

En la Tabla 1 se muestran los resultados del grosor, TF, %E y MY de las películas de almidón de papa con nanocelulosa de pseudotallo, raquis y cáscara de plátano macho, así como de la película control (sin nanocelulosa). El grosor de las películas varió entre 0.13±0.02 y 0.17±0.02 mm; siendo las películas más gruesas las que fueron adicionadas con nanocelulosa de raquis y las más delgadas las que contienen nanocelulosas de pseudotallo. En la literatura, algunos autores informan que ni el tipo de almidón, ni la adición de agentes hidrofóbicos influyen en el grosor de las películas, y confirmaron que esta propiedad sólo depende de la cantidad de sólidos depositados por unidad de área [López y col., 2010]. En el presente estudio la adición de las nanofibras de celulosa no mostró ninguna tendencia en el grosor de las películas. La TF expresa la fuerza máxima que la película puede soportar antes de que se rompa, en un área de sección transversal, mientras que el %E se define como la relación entre la variación en longitud después de la rotura de la muestra y la longitud inicial, así mismo, el MY indica la resistencia que se ejerce hasta la deformación de la película [Mali y col., 2006]. Diversos factores influyen en las propiedades mecánicas de las películas, como son la fuente botánica del almidón, la temperatura de transición vítrea (Tg) y la cristalinidad, esto último está estrictamente relacionado con la relación amilosa: amilopectina, también influye la adición de plastificantes y aditivos. Se ha reportado que la adición de nanopartículas, como las nanofibras de celulosa, produce un aumento en la TF y MY de películas de almidón [Hietala y col., 2013]. Con la adición de nanofibras de celulosa de raquis y pseudotallo hubo un aumento en la TF de las películas de almidón, al compararlas con el control (película de almidón de papa sin nanofibras) (Tabla 1); siendo los valores más altos de TF los que se encontraron en las películas con nanocelulosa de raquis, para la película con nanocelulosa de cáscara se observó el valor más bajo de TF, incluso menor que el control, siendo esta película la que obtuvo el valor más alto de %E, mientras que la de raquis obtuvo el valor más bajo en esta propiedad. El valor más alto para el MY fue el de la película con nanocelulosa de pseudotallo. Las diferencias en las propiedades mecánicas de las películas nos indican que la interacción entre la matriz polimérica (almidón) y las nanofibras, es diferente para cada una de las fuentes de celulosa y esto puede deberse a las diferencias estructurales y morfológicas en la composición de las nanofibras de las diferentes muestras.

Tabla 1. Grosor y propiedades mecánicas de películas de almidón de papa adicionadas con nanofibras de raquis, cáscara y pseudotallo de plátano macho.

Película	Grosor (mm)	Tensión a la fractura (MPa)	Elongación (%)	Módulo de Young (MPa)
Control	$0.15 \pm 0.01^{a,c}$	$2.43 \pm 0.70^{a,c}$	$61.22 \pm 24.2^{a,b}$	$0.088 \pm 0.05^{a,b}$
Raquis	0.17 ± 0.02^{a}	4.30 ± 0.83^{b}	57.97 ± 13.2^{a}	$0.074 \pm 0.05^{b,c}$
Cáscara	$0.14 \pm 0.01^{b,c}$	1.63 ± 0.44^{a}	82.18 ± 18.4^{b}	0.024 ± 0.02^{c}
Pseudotallo	0.13 ± 0.01^{b}	3.01 ± 0.73^{c}	54.62 ± 11.2^{a}	0.139 ± 0.04^{d}

Media aritmética de 10 repeticiones ± desviación estándar. Letras iguales dentro de cada columna indican que no existen diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

En la Tabla 2 se muestran los valores de PVA y solubilidad para las películas con nanocelulosa de raquis, cáscara y pseudotallo de plátano y la película control. Para todas las muestras, la adición de nanofibras disminuyeron la permeabilidad de las películas, al compararlo con el control; en una matriz polimérica, la presencia de nanopartículas mejora las propiedades de barrera, debido a que éstas obligan a que las moléculas permeantes sigan una ruta tortuosa, minimizando una de las principales limitaciones de las películas biodegradables [Azeredo, 2009]. Brass y col., [2010] menciona que, el bajo valor de PVA en las películas de almidón con nanocelulosa puede ser debido a su tamaño nanométrico, produciendo un camino más tortuoso para las moléculas de agua, y así disminuyendo su difusión a través de la película.

En cuanto al porcentaje de solubilidad se observó una disminución significativa en las películas con nanocelulosa de pseudotallo y cáscara, con respecto al control; sin embargo, el valor de porcentaje de solubilidad de la película de raquis no tuvo diferencia significativa con el del control. La solubilidad en agua es una propiedad importante de las películas biodegradables, ya que las posibles aplicaciones pueden requerir insolubilidad en agua para mejorar la integridad del producto y la resistencia al agua. Sin embargo, en otros casos, la solubilidad al agua puede ser una ventaja para algunas aplicaciones (películas comestibles y de envolturas de dulces que se disuelvan mientras están en la boca) [Sothornvit y Krochta, 2005; Kim y col., 2002]. El agua puede penetrar

fácilmente en una matriz polimérica de almidón, debido a su carácter hidrofílico, pero al adicionar nanofibras estas pueden competir por el agua con el almidón, provocando una reducción en la tasa de solubilidad, además, la adición de nanocelulosa (con una naturaleza cristalina) logra interaccionar entre los grupos OH de las moléculas de amilosa y amilopectina, produciendo más zonas cristalinas que reducen la solubilidad en agua [Amash y Zugenmaier, 2000; Azeredo, 2009; Suarez y col., 2013]. La diferencia en la solubilidad de las películas puede ser atribuida a la naturaleza de las diferentes fibras y a su interacción con la matriz polimérica.

Tabla 2. Permeabilidad al vapor de agua (PVA) y solubilidad de películas de almidón de papa adicionadas con nanofibras de raquis, cáscara y pseudotallo de plátano macho.

Película	PVA X 10^{-9} (g/m.s.Pa)	Solubilidad (%)
Control	3.51 ± 0.19^{a}	32 ± 0.01^{a}
Raquis	0.233 ± 0.015^{b}	$30 \pm 0.02^{a,b}$
Cáscara	0.226 ± 0.025^{b}	$24 \pm 0.01^{b,c}$
Pseudotallo	$0.204 \pm 0.015b^{b}$	20 ± 0.01^{c}

Media aritmética de 3 repeticiones ± desviación estándar. Letras iguales dentro de cada columna indican que no existen diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,05$).

Microscopía electrónica de barrido

La Figura 2 muestra las microfotografías de la superficie y corte transversal de la película control y las películas con nanocelulosa de raquis, cáscara y pseudotallo de plátano macho, en las imágenes de la superficie de las películas no se observan fisuras ni separación de fases, teniendo una apariencia uniforme en todas las muestras, esto indica una buena interacción entre los componentes (almidón, agua, glicerol y nanocelulosa). En las películas con nanocelulosa se pueden observar algunos puntos sobre la superficie, siendo más notorios en la película con nanocelulosa de raquis (indicados con flechas) los cuales pueden ser debido a conglomerados de nanofibras que no se dispersaron adecuadamente en la matriz polimérica; las fibras de nanocelulosa de raquis presentaron una estructura menos larga que las de cáscara y pseudotallo (Figura 1), y esta forma pueden promover una mayor aglomeración. Sin embargo, a pesar de esto, se logró una mejora en las propiedades mecánicas de las películas. En el corte transversal de las películas (Figura 2b), pueden notarse superficies escamosas con apariencia fibrosa en las películas que contienen nanofibras, Hietala y col. [2013], observaron en un análisis morfoestructural de películas de almidón termoplástico con nanofibras de celulosa que su dispersión no resultó uniforme, dicho comportamiento lo atribuye a la cantidad creciente de nanofibras de celulosa en los compuestos.

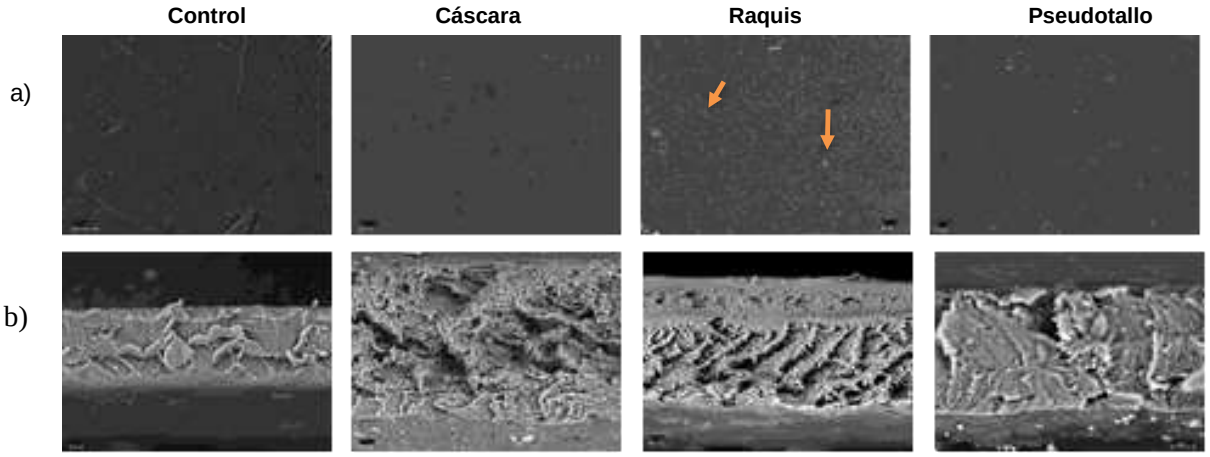

Figura 1.- Fotomicrografías de las películas control y reforzadas con nanofibras de cáscara, tallo y raquis de plátano macho. a) Corte longitudinal y b) Corte transversal.

Trabajo a futuro

Para complementar los resultados obtenidos en la presente investigación, se propone hacer estudios de permeabilidad al oxígeno y CO_2 de las películas y hacer estudios de la reolgía de las soluciones filmogénicas.

Conclusiones

Se observaron estructuras de dimensiones nanométricas en las fibras obtenidas de celulosa de pseudotallo, cáscara y raquis; sin embargo, la morfología y los tamaños fueron diferentes sobre todo para la nanocelulosa de raquis, presentando nanofibras menos largas y ligeramente más gruesas, observándose que esta morfología influyó en las propiedades mecánicas, ya que las películas elaboradas con nanofibras de raquis presentaron el valor más alto de tensión a la fractura. No obstante, las tres nanofibras produjeron una mejora en las propiedades de barrera, logrando una disminución en la PVA, así como también en la solubilidad de las películas.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo de SIP-IPN, COFAA-IPN y del Centro de Nanociencias y Micro y Nanotecnologías del IPN.

Referencias

1. Amash, A. and Zugenmaier, Z. (2000). Morphology and properties of isotropic and oriented samples of cellulose fiber–polypropylene composites. *Polymer*. **(41)** 1589-1596.
2. Abraham, E., Deepa, B., Pothan, L., Jacob, M., Thomas, S., Cvelbar, U. and Anandjiwala, R. (2011). Extraction of nanocellulose fibrils from lignocellulosic fibers: A novel approach. *Carbohyd. Polym*. **(86)** 1468– 1475.
3. ASTM (1989). Standard methods for water vapor transmission of materials. Annual Book of ASTM Standards, Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.
4. Azeredo, H. M. (2009). Nanocomposites for food packaging applications. *Food Res. Int*. **(42)** 1240-1253.
5. Bras, J., Mohammad, L. H., Bruzesse, C., Hassan E. A., El-Wakil, N. A. and Dufresne, A. (2010). Mechanical, barrier, and biodegradability properties of bagasse cellulose whiskers reinforced natural rubber nanocomposites. *Ind. Crop Prod.* **(32)** 627-633.
6. Cherian, B. M., Pothan, L. A., Nguyen-Chung, T., Mennig, G., Kottaisamy, M., and Sabu, T. (2008). A novel method for the synthesis of cellulose nanofibril whiskers from banana fibers and characterization. *Agr. Food Chem.* **(56)** 5617–5627.
7. Chivrac, F., Pollet, E. Dole, P. and Avérous, L. (2010). Starch-based nano-biocomposites: Plasticizer impact on the montmorillonite exfoliation process. *Carbohyd. Polym*. **(79)** 941-947.
8. Cyras, V. P., Manfredi, L. B., Ton-That, M. T. and Vázquez, A. (2008). Physical and mechanical properties of thermoplastic starch/montmorillonite nanocomposite films. *Carbohyd. Polym.* **(73)** 55–63.
9. García, A., Pinottia, A., Martinoa M. N. and Zaritzkya, N. E. (2004). Characterization of Composite Hydrocolloid Films. *Carbohyd. Polym.* **(56)** 339-345.
10. Hietala, M., Mathew, A. and Oksman, K. (2013). Bionanocomposites of thermoplastic starch and cellulose nanofibers manufactured using twin-screw extrusion. *Eur. Polym. J.* **(49)** 950-956.
11. Kim, K. W., Ko, C. J. and Park, H. J. (2002). Mechanical Properties, Water Vapor Permeabilities and Solubilities of Highly Carboxymethylated Starch-Based Edible Films. *J. Food Sci.* **(67)** 218-222.
12. López O. V., Zaritzky N. E. and García M. A. (2010). Physicochemical characterization of chemically modified corn starches related to rheological behavior, retrogradation and film forming capacity. *J. Food Eng.* **(100)** 160-168.
13. Majdzadeh-Ardakani, K., Navarchian, A. H. and Sadeghi, F. (2010). Optimization of mechanical properties of thermoplastic starch/clay nanocomposites. *Carbohyd. Polym*. **(79)** 547–554.
14. Mali, S., Grossmann, M. V. E., García, M. A., Martino, M. N. and Zaritzky, N. E. (2002). Microstructural characterization of yam starch films. *Carbohyd. Polym*. **(50)** 379-386.
15. Mali, S., Grossmann, M. V., García, M. A., Martino, M. M. and Zaritzky, N. E. (2006). Effects of controlled storage on thermal, mechanical and barrier properties of plasticized films from different starch sources. *J. Food Eng*. **(75)** 453-460.
16. Müller, C. M., Laurindo, J. B. and Yamashita, F. (2009). Effect of cellulose fibers addition on the mechanical properties and water vapor barrier of starch-based films. *Food Hydrocolloid.* **(23)** 1328-1333.

17. Shah, M. P., Reddy, G. V., Banerjee, R., Babu, P. R. and Kothari, I. L. (2005). Microbial degradation of banana waste under solid state bioprocessing using two lignocellulolytic fungi (*Phylosticta* spp. MPS-001 and *Aspergillus* spp. MPS-002). *Process Biochem*. **(40)** 445-451.
18. Sothornvit, R. and Krochta, J. M. (2005). Plasticizers in edible films and coatings. In: Food Science and Technology. Ed. By Jung H. Han. Academic Press. Pp: 403-433
19. Suarez, A., Palma, S., Rodríguez, A. L., Hernández, J., Bello, L. and Vargas, A. (2013). Characterization of films made with chayote tuber and potato starches blending with cellulose nanoparticles. *Carbohyd. Polym. Carbohyd. Polym.* **(98)** 102-107.
20. Wang, B. and Sain, M. (2007). Isolation of nanofibers from soybean source and their reinforcing capability on synthetic polymer. *Compos. Sci. Tech.* **(67)** 2521-2527.