

# MATRICES DE QUITOSANO MICROCRISTALINO OBTENIDAS POR MODIFICACIÓN QUÍMICA DEL QUITOSANO

Diego Alejandro Marín Silva<sup>1</sup>, Sandra Rivero<sup>1</sup>, Adriana Pinotti<sup>1,2</sup>

## 1. RESUMEN

El quitosano (Q) es un polímero derivado de la quitina, cuyas propiedades físicas y químicas dependen fuertemente del grado de desacetilación. Una modificación del Q es la preparación de quitosano microcristalino (QMC) por agregación de las macromoléculas glucosamina a partir de soluciones acuosas de ácidos orgánicos. Los objetivos del trabajo fueron: I) Caracterizar y modificar el Q a fin de obtener QMC; II) Estudiar las propiedades de las películas formuladas a partir de estos polímeros. Las películas mostraron buena apariencia e integridad estructural evidenciándose por SEM. Los perfiles mecánicos de los materiales obtenidos mostraron una mayor elongación de las películas QMC manteniendo los valores de esfuerzo respecto a las películas Q. Se determinó la solubilidad acuosa de las películas, obteniéndose mayores valores de solubilidad para las películas de Q. El análisis térmico por DMA evidenció que la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) fue menor para las películas formuladas con QMC, lo que se correlacionó con el mayor contenido de humedad de las películas QMC en comparación con las de Q, siendo estos de 23 % y 19 %, respectivamente. Los termogramas obtenidos por MDSC mostraron la intensificación de una relajación alrededor de 50 °C debido a un cambio microestructural experimentado por el Q. La modificación química del polímero también fue confirmada a través del análisis realizado por FTIR. Los resultados obtenidos demuestran que la modificación química del quitosano amplía las potenciales aplicaciones del polímero en el campo de los alimentos.

---

CONTACTO: Sandra Rivero [sandra\\_gmr@yahoo.com](mailto:sandra_gmr@yahoo.com)

1. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos, CONICET-La Plata, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. La Plata, Argentina.

2. Facultad de Ingeniería, UNLP. La Plata, Argentina.

## 2. INTRODUCCIÓN

La producción de películas biodegradables a partir de fuentes renovables le confiere un valor agregado a las materias primas, ampliando así su campo de aplicación. Existen numerosos estudios sobre la potencialidad del quitosano obtenido de diferentes fuentes para el desarrollo de películas y recubrimientos con propiedades diferenciales.

El quitosano se obtiene por desacetilación de la quitina, proceso que involucra la remoción parcial de los grupos acetilos de las cadenas poliméricas, siendo necesaria la evaluación de la extensión de este proceso ya que el grado de desacetilación determina las propiedades fisicoquímicas, y funcionales del quitosano, condicionando sus posibles usos. Es un polisacárido catiónico y su importancia reside en sus aplicaciones dado las propiedades antimicrobianas y formadores de películas que posee (No *et al.*, 2007).

Una modificación del quitosano (Q) es la preparación de quitosano microcristalino (QMC) por agregación de las macromoléculas glucosamina a partir de soluciones acuosas de ácidos orgánicos. Esta modificación posee ventajas que superan las del quitosano no modificado, otorgándole mayor elasticidad y menor solubilidad, entre otras propiedades (Pighinelli y Kucharska, 2014). Las propiedades biodegradables de la película dependen del tipo de material utilizado y condiciones de obtención que determinan sus aplicaciones (Krochta y De Mulder Johnston, 1997). Los estudios de obtención y aplicación de QMC en el desarrollo de películas biodegradables son escasos. Los objetivos del trabajo fueron: I) Caracterizar y modificar el quitosano a fin de obtener QMC; II) Estudiar las propiedades de las películas formuladas a partir de estos polímeros.

## 3. MATERIALES Y MÉTODOS

### CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DEL POLÍMERO

Se determinó el contenido de cenizas y de humedad del Q de acuerdo a la metodología descrita por Rivero *et al.* (2009).

### *Determinación del peso molecular del quitosano*

Para determinar el peso molecular del quitosano (*Polymar Ciência e Nutrição*, Fortaleza, Brazil) se utilizó un viscosímetro capilar tipo Ubbelohde. Para calcular la

viscosidad intrínseca se determinó el tiempo de caída de un conjunto de muestras de Q de diferentes concentraciones preparadas por disolución en una mezcla de ácido acético 0,1 M y cloruro de sodio 0,2 M. Una vez calculada la viscosidad intrínseca, se determinó el peso molecular viscosimétrico ( $M_\eta$ ) del polímero a partir de la Ecuación 1 de Mark-Houwink: Las constantes utilizadas fueron  $K = 1,81 \cdot 10^{-3}$  ( $\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$ ) y  $a = 0,93$  (Abd-Elmohdy *et al.*, 2010; Ravi Kumar, 2000).

$$[\eta] = K(M_\eta)^a \quad \text{Ec.1}$$

#### ***Determinación del grado de desacetilación del quitosano por titulación potenciométrica***

Se utilizó un pH-metro HACH Instrument modelo EC30, equipado con un electrodo de vidrio combinado. La muestra se preparó disolviendo 0,5 g de Q en 20 mL de HCl 0,3 M y se tituló con una solución valorada de NaOH 0,102 N, registrándose el pH de la solución para distintos volúmenes de titulante agregado. El punto final de la titulación se determinó a través del método de la primera derivada obtenida de la curva de titulación.

#### **MODIFICACIÓN QUÍMICA DEL POLÍMERO**

El QMC se obtuvo por disolución del Q al 2 % (p/p) en ácido acético 2 % (v/v), tratamiento térmico durante 3 h a 70 °C y posterior precipitación mediante el agregado de NaOH 1,25 M hasta alcanzar un pH de 8,2. El residuo semi-sólido obtenido fue lavado, filtrado y finalmente liofilizado, hasta obtener el QMC en polvo.

#### **PREPARACIÓN DE LAS PELÍCULAS**

Las películas se prepararon por solubilización del Q y QMC al 2 % (p/p) en una solución de ácido acético al 1,5 % (v/v). Las películas fueron obtenidas por moldeo en placas de acrílico y secado en estufa a 37 °C de las soluciones filmogénicas.

#### **PROPIEDADES DE LAS PELÍCULAS**

##### ***Caracterización fisicoquímica de las matrices***

Las medidas de los espesores de las películas se realizaron utilizando un micrómetro digital (Microprocessor digital meter. CM – 8822). El contenido de humedad se determinó midiendo el peso de las matrices a tiempo iniciales y luego de ser secadas en estufa a 105 °C hasta peso constante.

La solubilidad se determinó sobre muestras de 3×3cm, las que fueron pesadas y sumergidas en 100 mL de agua destilada. Las muestras se mantuvieron bajo agitación durante 1 h a 20 °C. Las piezas remanentes se secaron nuevamente a 105 °C hasta alcanzar peso constante.

#### ***Permeabilidad al vapor de agua (PVA)***

Se determinó según una modificación del método de la ASTM E96 (Rivero *et al.*, 2009). Las muestras se colocaron en celdas de acrílico, y éstas en recipientes herméticos. Las películas se sometieron a un gradiente de 75 % de humedad relativa (RH) que corresponde a una fuerza impulsora de 1753,55 Pa. Se registró el cambio en el peso de la celda en función del tiempo (h). Los datos se regresionaron linealmente y, considerando el espesor, se calculó la PVA a 20 °C.

#### ***Propiedades mecánicas***

Las propiedades mecánicas se analizaron mediante un equipo de análisis dinámico-mecánico térmico Q800 (TA Instruments, New Castle, EE.UU) usando pinzas de tensión con un sistema de enfriamiento con N<sub>2</sub> líquido. Las muestras se cortaron de 30 mm de largo y 6 mm de ancho. El ensayo se realizó a temperatura ambiente, a una velocidad de 1 N min<sup>-1</sup> obteniéndose las curvas de esfuerzo-deformación hasta la ruptura de las películas o hasta un máximo de 18 N.

#### ***Propiedades térmicas***

Las propiedades térmicas del Q y QMC se analizaron por calorimetría diferencial de barrido modulada (MDSC) con un equipo modelo Q100 TA Instruments, EEUU. Los análisis de DSC se realizaron a una velocidad de calentamiento de 10 °C min<sup>-1</sup> en un intervalo de temperaturas de -100 a 200 °C.

Por otra parte, se empleó la técnica de DMA para determinar las temperaturas de relajación asociadas a la transición vítrea (T<sub>g</sub>) de los materiales. Se llevaron a cabo ensayos de barrido de frecuencias a 1, 3, 5, 10 y 15 Hz dentro del rango de viscoelasticidad lineal. La temperatura se varió entre -90 a 200 °C a una velocidad de calentamiento de 5 °C min<sup>-1</sup>. Tanto los parámetros evaluados por MDSC y DMA se determinaron con el universal Analysis V1.7F software (TA Instrument).

### ***Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)***

Los espectros de FTIR de las películas de Q y QMC se registraron en la región 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  con una resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$  realizando 60 escaneos por ensayo, con un espectrofotómetro FTIR Nicolet, iS10 Thermo Scientific, (USA). Los datos se analizaron utilizando el software Omnic 8 (Thermo Scientific).

### ***Caracterización de la microestructura***

Los estudios de la morfología de las películas se realizaron por microscopía electrónica de barrido SEM FEI QUANTA 200 (Japón). Las películas fueron criofracturadas por inmersión en  $\text{N}_2$  líquido. Las muestras se montaron en tacos de bronce con una cinta bifaz, permitiendo así la visualización de las superficies y de las secciones transversales.

## **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL POLÍMERO**

Se obtuvo un contenido de cenizas de 3,5 %, mientras que el contenido de humedad del Q fue del 13,9 %.

Se ha determinado que la quitina (fuente de la cual es extraído el Q) posee aproximadamente un 6,89 % de nitrógeno debido a que el Q tiene en su estructura primaria grupos aminos ( $\text{NH}_2$ ), (Ravi Kumar, 2000). Debido a la diversidad de métodos para la determinación de grupos amino libres, se seleccionó la titulación potenciométrica por tratarse de un método rápido y de bajo costo (Abdou *et al.*, 2008). Las curvas de titulación presentan dos puntos de inflexión; los volúmenes de NaOH correspondientes se determinaron según el método gráfico de la primera derivada, como se muestra en la Figura 1a y b. El porcentaje de grupos amino libres o grado de desacetilación (DD) del polímero fue del 65 %.

A partir de medidas viscosimétricas se pudo estimar el peso molecular del polímero (Eq. 1). De los datos extraídos de la Figura 2, se calculó la viscosidad intrínseca obteniéndose un valor de 349,5  $\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$  para el Q, obteniéndose un peso molecular de  $4,80 \cdot 10^5 \text{ g mol}^{-1}$ . Este valor es similar al informado por Ravi Kumar, (2000).

## PROPIEDADES DE LAS PELÍCULAS DE Q Y QMC

### *Caracterización fisicoquímica*

A partir de las soluciones filmogénicas a base de quitosano y su derivado (quitosano microcristalino) fue posible obtener películas de apariencia uniforme. El espesor promedio de las películas fue de 70  $\mu\text{m}$ . Se determinó la solubilidad de las películas en agua, obteniendo mayores valores de solubilidad para las películas de Q en comparación con las películas QMC, siendo los valores promedio obtenidos 63 % y 52,3 %, respectivamente. Asimismo, se observó que las películas obtenidas a partir de QMC presentaron un mayor contenido de humedad comparado con la película de Q, siendo 19,11 % y 23,4 %, respectivamente. En este sentido, el contenido de agua presente en la matriz tiene una significativa influencia en las propiedades físicas de las películas obtenidas a partir de polímeros biodegradables.

### *Permeabilidad al vapor de agua (PVA)*

Los valores de permeabilidad al vapor de agua para las películas de Q no mostraron diferencias significativas en comparación con el QMC ( $P > 0,05$ ), siendo  $9,38 \times 10^{-11} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$  y  $1,16 \times 10^{-10} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ , respectivamente.

### *Propiedades mecánicas*

Se estudiaron las propiedades mecánicas de los materiales mediante ensayos de tensión cuasi estáticos a través de análisis dinámico mecánico (DMA). En la Figura 3 se muestran los perfiles mecánicos de los materiales obtenidos los cuales evidenciaron una mayor elongación de las películas QMC manteniendo sin embargo los valores de esfuerzo respecto a las películas Q. Estos resultados indicarían que la modificación química del polímero induce un cambio o reacomodamiento de las cadenas poliméricas del quitosano.

### *Propiedades térmicas*

Las curvas obtenidas por MDSC evidenciaron la aparición de un evento endotérmico asociado a la remoción de agua presente en la matriz ( $T_p$ ), a 122,3 °C para el Q y a 126,4 °C para el QMC, con una entalpía de 356,8 y 445,3  $\text{J g}^{-1}$ , respectivamente (Figura 4a). Los sitios más importantes para la unión de las moléculas de agua son los grupos polares como los oxhidrilos y los grupos amino presentes en los po-

límeros. De los resultados obtenidos, se observó una correlación entre los valores de humedad de las películas y la entalpía asociada a la transición térmica observada por MDSC. Por otra parte, el termograma de las películas QMC demostró la intensificación de una relajación alrededor de 50 °C asociado a un cambio microestructural experimentado por el Q.

La Figura 4b muestra la dependencia de  $\tan \delta$  con la temperatura. Los patrones mecánico-dinámicos de las películas mostraron dos relajaciones, una localizada alrededor de 90 °C y otra a 67 °C asociada a la  $T_g$  del material. A partir de los espectros de Q y QMC se evidenció que la relajación asociada a la  $T_g$  ocurrió a menor temperatura para las películas formuladas con QMC. Cabe destacar que esta disminución se corresponde con un mayor contenido de humedad de las muestras.

### ***Propiedades microestructurales***

Las películas de Q y QMC mostraron buena apariencia e integridad estructural evidenciada por SEM (Figura 5), a través de las secciones transversales y la topografía de la superficie de las matrices. El análisis microestructural confirmó que la morfología superficial de las muestras era lisa y uniforme, sin grietas, poros e imperfecciones. El espesor medio de las películas determinado por SEM fue de 70  $\mu\text{m}$ .

### ***Análisis por FTIR***

En la Figura 6 se presentan los espectros FTIR obtenidos para las muestras de Q y QMC. La región comprendida entre 3600 y 3000  $\text{cm}^{-1}$  es atribuida al estiramiento de los grupos O-H y de los grupos N-H, mientras que las bandas en la zona 2920-2850  $\text{cm}^{-1}$  se deben al estiramiento del grupo C-H (Dong *et al.*, 2002). En 1650  $\text{cm}^{-1}$  se observó el pico de la amida I correspondiente al estiramiento del grupo N-H. Además, las bandas entre 1485-1380  $\text{cm}^{-1}$  corresponden al estiramiento asimétrico del C-H del grupo  $\text{CH}_2$  y entre 1092 -1031  $\text{cm}^{-1}$  al estiramiento simétrico del puente de C-O-C del residuo de glucosamina. Los resultados encontrados concuerdan con los informados por Kumirska *et al.*, (2010). La modificación química del Q fue confirmada por esta técnica cuyos espectros mostraron el corrimiento de la banda de la amida I y la amida II, la aparición de un pico a 1340  $\text{cm}^{-1}$  y una mejor resolución de la banda a 3370  $\text{cm}^{-1}$ .

## 5. CONCLUSIONES

La aplicación de diferentes técnicas instrumentales de variada complejidad permitió caracterizar de forma adecuada las propiedades fisicoquímicas del quitosano, un hidrocoloide con un amplio espectro de aplicaciones industriales.

Los estudios por FTIR confirmaron las modificaciones estructurales atribuidas al tratamiento químico del polímero, que permitieron obtener matrices más flexibles y con menor solubilidad acuosa. Los resultados obtenidos demuestran que la modificación química del quitosano amplía las potenciales aplicaciones del polímero en el campo de los alimentos.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABD-ELMOHDY F.A., El-said Z., Essam S., y Hebeish A. (2010). "Controlling Chitosan Molecular Weight via Bio-chitosanolytic". *Carbohydrate Polymers*, 82(3), 539-542.
- DONG Y., Xu C., Wang J., Wu Y., Wang M., y Ruan Y. (2002). "Influence of degree of deacetylation on critical concentration of chitosan/dichloroacetic acid liquid crystalline solution". *Journal Applied Polymer Science*, 83, 1204-1208.
- KROCHTA, J. M. y De Mulder-Johnston, C. (1997). "Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities". *Food Technology*, 51(2): 61-74.
- KUMIRSKA J., Czerwicka M., Kaczynski Z., Bychowska A., Brzozowski K., Thoming J., y Stepnowski P (2010). "Review: Application of Spectroscopic Methods for Structural Analysis of Chitin and Chitosan". *Marine Drugs*, 8, 1567-1636.
- NO H.K., Meyers S.P., Prinyawiwatkul W., y Xu Z. (2007). "Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: A Review". *Concise Reviews/Hypotheses in Food Science*, 72(5), 87-100.
- PIGHINELLI, L., y Kucharska, M. (2014). "Properties and Structure of Microcrystalline Chitosan and Hydroxyapatite Composites". *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 5, 128-138
- RAVI KUMAR M.N.V., Muzzarelli C., Sashiwa H., y Domb A.J. (2004). "Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives". *Chemical Reviews*, 104, 6017-6084.
- RIVERO S, García MA, Pinotti A. (2009). "Composite and bi-layer films based on gelatin and chitosan". *Journal of Food Engineering*. 90, 531-539.



## 7. TABLAS Y FIGURAS

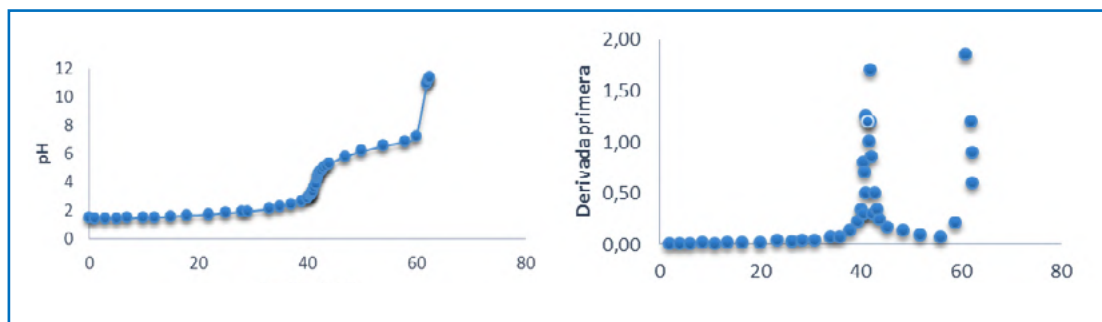


FIGURA 1. a) Curva de titulación para Q; b) primera derivada. Los máximos corresponden a los puntos de inflexión

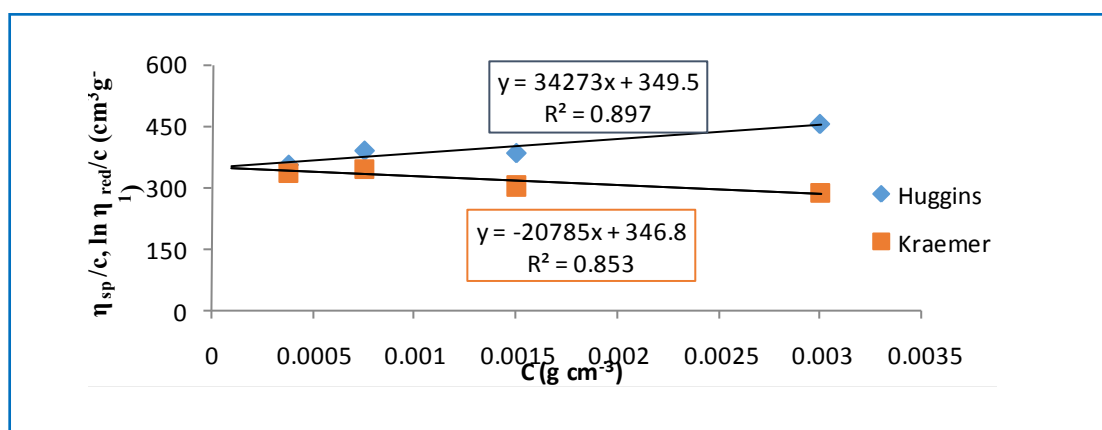


FIGURA 2. Determinación gráfica de la viscosidad intrínseca del Q

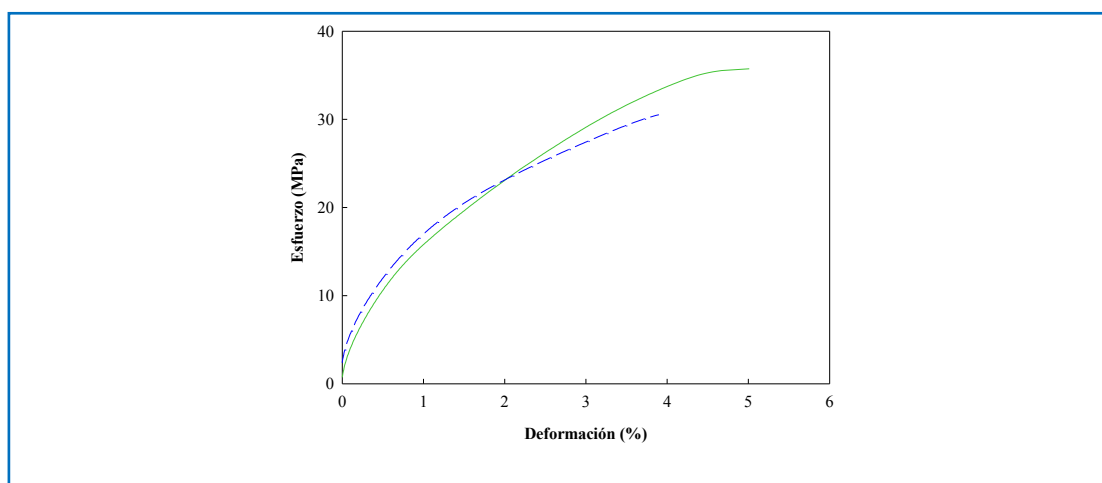
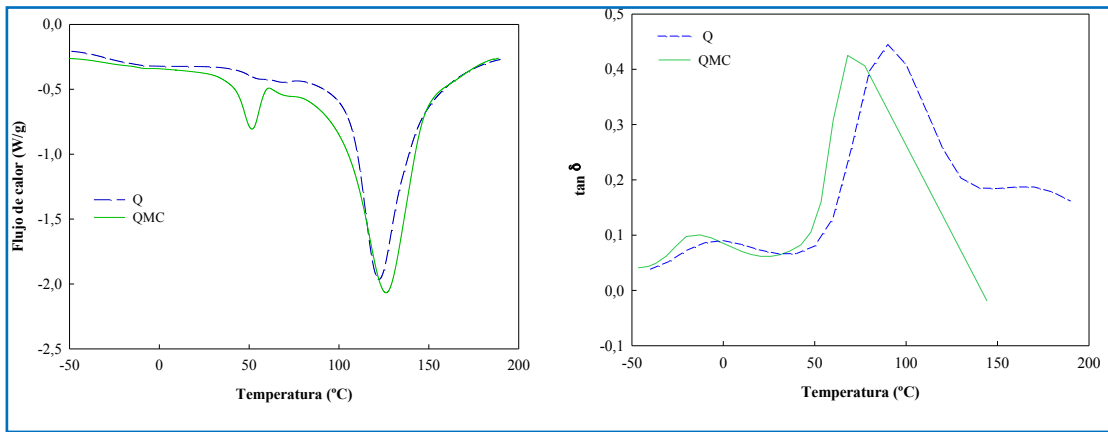
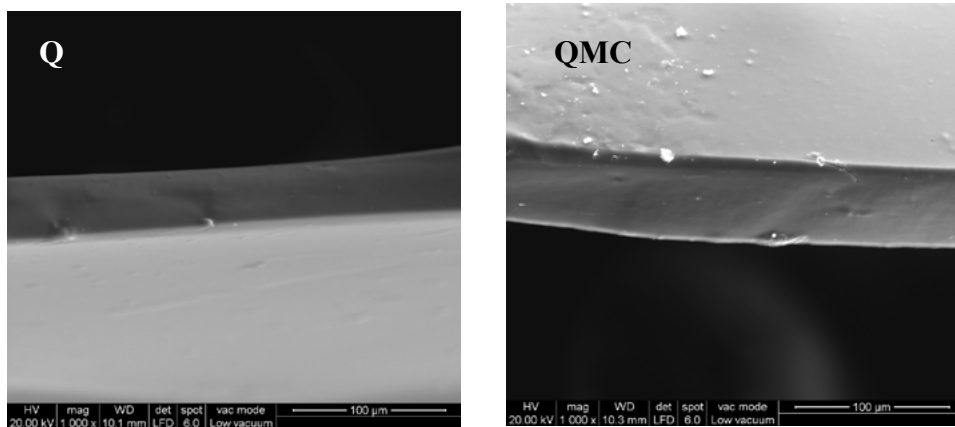


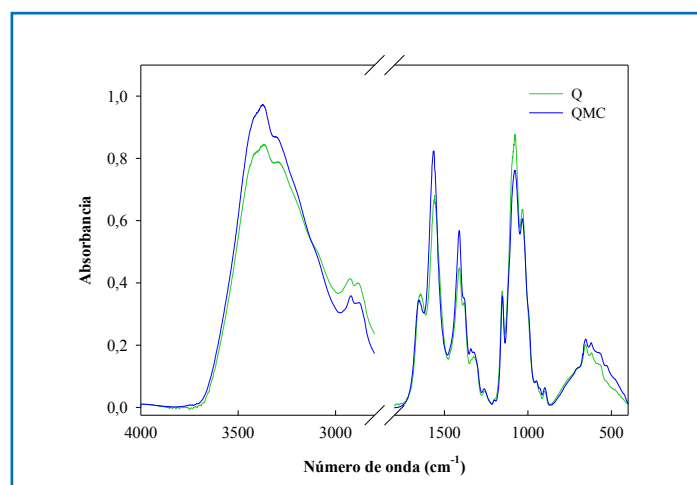
FIGURA 3. Perfil mecánico de películas de Q y QMC. Efecto de la modificación química del Q



**FIGURA 4.** a) Termogramas obtenidos por MDSC;  
b) espectros dinámico-mecánicos de Qy QMC



**FIGURA 5.** Microscopía electrónica de barrido de cortes transversales de películas de Qy QMC. Escala: 100 µm



**FIGURA 6.** Espectro FTIR de Qy QMC