

## SÍNTESIS DE NANOCOMPOSITOS (Ag-Quitosano) Y SU INCLUSIÓN EN RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES A BASE DE QUITOSANO Y MUCILAGO DE LINAZA

R. P. Sandoval-Muñoz<sup>a\*</sup>; K. F. Romo-Zamarrón<sup>a</sup>, G. Ortiz-Duarte<sup>b</sup>, I. E. Medina-Ramírez<sup>c</sup>, L. E. Pérez-Cabrera<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Depto. de Tecnología de Alimentos, Centro de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Aguascalientes, México. <sup>b</sup> Posgrado en Ciencias Agronómicas del Centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, México. <sup>c</sup> Depto. de Química, Centro de Ciencias Básicas, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Aguascalientes, México.  
\*rpausm28@gmail.com

### RESUMEN:

Los nanocompositos (Ns) pueden generar productos económicos y hacer la producción eficiente al reducir los residuos y energía en la producción de envases alimentarios. En este trabajo se sintetizaron nanocompositos de quitosanos (comercial y de langostino) con agente activo de plata (Ns-Ag-QC / Ns-Ag-QL) para su inclusión en recubrimientos comestibles. Se logró integrar el hidrocoloide a películas a base de mucilago de linaza y quitosanos. Los recubrimientos se caracterizaron en su pH y % de sólidos solubles propiedades básicas para la formación y solubilidad de los polímeros. A los recubrimientos formados se determinó: % de solubilidad, espesor, permeabilidad al vapor de agua (Pva), propiedades mecánicas y ópticas. Las películas fueron transparentes, lisas y continuas lo que incrementa la posibilidad de integrarse a alimentos. El % de solubilidad en agua fue significativamente mayor para muestras a base de ML. El espesor fue significativamente menor en muestras a las que no se les incorporó Ns-Ag-Quitosano. Para la Pva presentó un incremento al añadir Ns-Ag-Quitosano. La incorporación de Ns-Ag-QC / QL no modifica la resistencia de la película a base de ML pero sí modifica la elasticidad. Para películas a base de QL la incorporación de Ns produce un material más resistente y elástico.

### ABSTRACT:

Nanocomposites (Ns) can generate economical products and make their production more efficient by reducing waste and energy consumption in the food packaging process. In this study chitosan (commercial and shrimp) were used to synthesize nanocomposites using the active agent silver (Ns-Ag-QC / Ns-Ag-QL), for its incorporation into edible coatings. Integration of the hydrocolloid into linseed mucilage and chitosan based films was achieved. The coatings were characterized based on their pH and percentage of soluble solids, which are key properties for the formation and solubility of polymers. The following parameters were determined in the formed coatings: percentage of solubility in water, thickness, permeability to steam (Pva), as well as mechanical and optical properties. The films transparent, smooth, thereby, increasing the possibility of integration into foods. Percentage of solubility in water was significantly greater among linseed mucilage based films. Thickness was significantly lower in samples where Ns- Ag – Chitosan was not incorporated. The Pva showed an increase in response to addition of Ns-Ag-chitosan. The incorporation of Ns- Ag -QC / QL does not change the resistance of the film based on linseed mucilage. However, it does affect its elasticity. Incorporating Ns produces a tough, elastic material in QL based films.

**Palabras clave:** Nanocompositos, Quitosano, Recubrimientos comestibles.

**Key Words:** Chitosan, Edible coatings, Nanocomposites

**Área:** Desarrollo de Nuevos Productos

## INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas, la investigación en ciencia y tecnología se ha centrado en la fabricación de estructuras atómicas y materiales a escalas nanométricas ( $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ ), lo que comúnmente se conoce como "*nanotecnología*" (Savage *et al.*, 2007). La nanotecnología en la industria alimentaria tiene su aplicación en áreas como la calidad y la seguridad alimentaria, el desarrollo de nuevos productos y el envasado. Para responder a la demanda de alimentos, la industria alimentaria hace uso de películas y recubrimientos comestibles a base de polímeros biodegradables a partir de proteínas de calidad alimentaria, polisacáridos y lípidos, además de estos componentes básicos, se añaden otros aditivos alimentarios que ayudan a mejorar la integridad mecánica, la calidad y seguridad de los alimentos (Arumugam *et al.*, 1989)

En los últimos años ha crecido el interés en desarrollar materiales con la capacidad de formar películas con propiedades antimicrobianas que ayudan a mejorar la seguridad y vida útil. La inclusión de nanocompositos en estas películas, pueden servir como portadores de algunas sustancias activas, tales como antioxidantes y antimicrobianos (Sorrentino *et al.*, 2007). La plata es bien conocida por su actividad antimicrobiana de amplio alcance contra las bacterias, hongos y ciertos virus (Lloret *et al.*, 2012). El concepto de nanocompositos representa una ruta estimulante para crear materiales nuevos e innovadores. La aplicación de nanocompositos es detonante en la ampliación del uso de películas y recubrimientos comestibles y biodegradables en alimentos (Sorrentino *et al.*, 2007). Algunos trabajos (Okada y Usuki, 1995) han demostrado que, cargas relativamente bajas de nanopartículas incorporadas a materiales compuestos poliméricos refuerzan sus cadenas, además de restringir el nanocompuesto y confinándolo entre las láminas de las películas o recubrimientos reforzando e integrando la nanoestructura, estos cambios dan como resultado un incremento en la superficie de interacción, mejoras en las propiedades mecánicas y disminución en la permeabilidad a los gases y líquidos.

El objetivo del presente estudio fue investigar el efecto de nanocompositos de Ag-quitosano en películas a base de mucilago de linaza o quitosano de langosta de río evaluando las propiedades mecánicas, ópticas, solubilidad y permeabilidad al vapor de agua.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Síntesis de nanocompositos de Ag-Quitosano

Fueron preparados por reducción de  $\text{AgNO}_3$  con  $\text{NaBH}_4$  en un horno reactor de microondas (CEM, 908005). Se dispersaron  $100 \mu\text{g}$  de quitosano (QC: quitosano Sigma Aldrich; QL: quitosano de langostino) en  $10 \text{ mL}$  de ácido acético (J.T. Baker) al 1% y se dejó en agitación constante, posteriormente se le añadió  $37.5 \mu\text{g}$  de  $\text{AgNO}_3$  (J.T. Baker), se colocó en un horno reactor de microondas CEM 908005 y seguido la solución se enfrió sobre un baño de hielo con agitación constante a  $7 \text{ rpm}$ , se le adicióno gota a gota una solución fría de  $\text{NaBH}_4$  ( $11.35 \mu\text{g}$  Sigma Aldrich en  $2 \text{ mL}$  de agua desionizada) que actúa como reductor y se agitó a  $7 \text{ rpm}$  por  $30 \text{ min}$  en baño de hielo. Transcurrido el tiempo la muestra se transfirió al reactor y se agregó ácido ascórbico ( $0.088 \text{ g}$  en  $2 \text{ mL}$  de agua desionizada).

### **Formulación de recubrimientos comestibles a base de mucilago de linaza y quitosano de langosta de río**

Se extrajo el mucílago de la semilla de linaza en una relación semilla-agua (2:10) a 40° C en baño maría durante 1 h con agitación a 1400 rpm (IKA RW20), posteriormente se separó la semilla de linaza del mucílago por filtración. Se formulo el recubrimiento: mucílago de linaza (100 mL) + glicerol (0.5%) posteriormente se les aplico un tratamiento térmico (94 °C/15 min) para garantizar su inocuidad. Para el quitosano langosta de río (RQL): se dispersó 1.5 g en medio ácido (100 mL agua desionizada + 0.5 mL ácido láctico al 85%), se ajustó su pH=4.2±0.2, y se adiciono 0.6% de glicerol como plastificante, se agito por 24 h a 7 rpm, posteriormente se le aplico un tratamiento térmico (94 °C/15 min) para garantizar su inocuidad.

### **Formulación de recubrimientos comestibles a base de mucilago de linaza y quitosano de langosta de río, con la incorporación NsAg-QC y NsAg-QL**

Se colocaron 40 mL del RML por duplicado y a uno se le agrego NsAg-QC y al otro NsAg-QL en una relación de 1:40, se colocaron en agitación constante por 24 h a temperatura ambiente, obteniendo de esta manera los siguientes recubrimientos RML/NsAg-QC y RML/NsAgQL. El mismo proceso se realizó para los recubrimientos de quitosano de langosta de río (RQL/NsAg-QC y RQL/NsAgQL).

### **Caracterización fisicoquímica de las nanocompositos y recubrimientos obtenidos y formación de las películas comestibles**

Se determino el pH (potenciómetro Hanna Instrument, HI9812-5) y índice de refracción y la cantidad de sólidos totales (%) en un refractómetro (Leica Marck II plus) por triplicado. Se extendieron en alícuotas de 20 g en superficies lisas de 90mmØ y se desecaron en una estufa (Felisa) a 40 °C por 24 h, ya secas las películas se retiraron de las superficies y se acondicionaron en una atmosfera controlada con sílica gel. Posteriormente las películas obtenidas se caracterizaron.

### **Caracterización de las películas**

*Solubilidad en agua:* se utilizo una modificación del procedimiento propuesto por Gontard (1992). El peso de la materia seca solubilizado se calculó usando la ecuación 1 y se expresa como el porcentaje de solubilidad en agua de las películas:

$$\text{Solubilidad en agua (\%)} = \frac{\text{Peso Inicial Seco} - \text{Peso Seco no Solubilizado}}{\text{Peso Inicial Seco}} (100) \quad \text{Eq. 1}$$

*Espesor:* fue medido con un micrómetro (Mitutoyo), se midieron en 5 puntos y fue considerado el valor promedio.

*Permeabilidad al vapor de agua:* se determinó según una modificación del método de la ASTM-E-96. Las muestras se colocaron en celdas de aluminio de 35 mm de diámetro (Payne, elcometer) en un gradiente de 52% de humedad relativa. Los datos se registraron linealmente y, considerando el espesor, se calculó la permeabilidad al vapor de agua (Pva) en g Pa<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup> a 15°C.

*Propiedades mecánicas:* se determinaron en base al ASTM E-D882-97, las muestras se cortaron con un área de 50x25 mm, se acondicionaron a 25° C a una humedad relativa de 50% y posteriormente fueron colocadas dejando una separación entre las pinzas de tensión (A/MTG) de 50 mm y el ensayo se realizó a una velocidad de 50 mm/min. Se evaluó esfuerzo de fractura ( $\delta F$ ), módulo de elasticidad (ME) y porcentaje de deformación (% E).

*Propiedades ópticas:* Se cortaron listones de 10x50 mm, y se analizaron en un espectrofotómetro UV-Visible (GBC). Las películas fueron colocadas directamente en la celda de cuarzo para su medición, y se utilizó aire como referencia para la determinación de la transparencia y opacidad. La transparencia se determinó a 600 nm ( $T_{600}$ ) a partir de la siguiente ecuación:

$$T_{600} = \log \%T/b \quad \text{Eq. 2}$$

Dónde: %T es el porcentaje de transmitancia y b es el espesor de la película (mm). La opacidad de las películas/recubrimientos fue calculada en base a la siguiente ecuación, de acuerdo al método descrito por Gontard y Guilbert (1994):

$$\text{Opacidad} = (A_{500})(b) \quad \text{Eq. 3}$$

Donde: A es la absorbancia a 500 nm y b es el espesor de la película (mm).

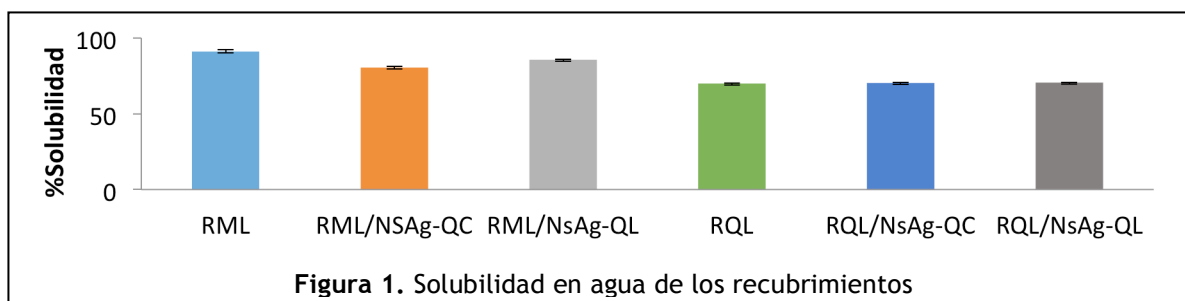
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la caracterización fisicoquímica de los nanocompositos, no existen diferencias significativas para el % de sólidos totales e índice de refracción ( $n_D$ ), sin embargo para pH existen diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre ambas muestras, teniendo mayor pH el hidrocolide de plata con quitosano comercial, este parámetro pudiera afectar a la formación de películas y al porcentaje de materia no soluble (impurezas) que se pudieran formar en las películas o recubrimientos. Posterior a la integración de NsAg-QC y NsAg-QL a RML y RQL se determinaron los valores de pH y % de sólidos totales (Tabla I), para garantizar que se tuviera una solubilidad alta del compuesto quitosano. En cuanto a los resultados obtenidos de pH de las muestras de RML, RML/NsAg-QC y RML/NsAg-QL, se tiene que al agregar los nanocompositos el pH disminuye 0.2 aproximadamente, esto puede deberse a la capacidad oxidativa de la plata o bien por la naturaleza del polímero presente en la semilla de linaza. Mientras que el valor de pH de las muestras RQL, RQL/NsAg-QC, RQL/NsAg-QL denotan valores similares, donde las muestras RQL/NsAg-QL y RQL tienen un pH= 4.2, mientras que la muestra de RQL/NsAg-QC tiene un valor de pH de 4.4. Los resultados anteriores son consistentes con lo esperado puesto que el pH al que se disolvieron las muestras para garantizar su solubilidad fue de 4.2, esto debido a que el pKa del quitosano es 6 y se requiere de un medio ácido para disolverlo (Chenite *et al*, 2000), sin embargo, existen diferencias significativas en cuanto a este parámetro entre las muestras elaboradas con RML y RQL, no obstante no existen diferencias significativas en las muestras del mismo grupo de recubrimiento.

**Tabla I.** Caracterización fisicoquímica de los recubrimientos comestibles de ML y QL

| Muestra     | pH         | Sólidos Totales (%) |
|-------------|------------|---------------------|
| RML         | 4.9 ± 0.05 | 1.6 ± 0.05          |
| RML/NsAg-QC | 4.7 ± 0.00 | 1.4 ± 0.05          |
| RML/NsAg-QL | 4.7 ± 0.00 | 1.5 ± 0.05          |
| RQL         | 4.2 ± 0.00 | 3.1 ± 0.10          |
| RQL/NsAg-QC | 4.4 ± 0.05 | 3.0 ± 0.05          |
| RQL/NsAg-QL | 4.2 ± 0.05 | 3.0 ± 0.05          |
| ANOVA       | 0.0001     | 0.0001              |

En la Tabla II, se muestra el % de sólidos totales, para muestras de RML el valor es de 1.63%, comparado con las muestras RML/NsAg-QC, RML/NsAg-QL las cuales presentan 1.46 y 1.5 % respectivamente teniendo una variación en su contenido de sólidos debido a su dilución en la dispersión. En tanto que para todas las muestras de RQL el valor promedio fue 3.0 a 3.1 lo cual indica que no existe variación al uso de quitosano de langosta, para este parámetro. Existen diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre las muestras de RML y RQL para ambos parámetros determinados, esto asociado a la naturaleza del polímetro que contiene el cada recubrimiento. Todos los recubrimientos comestibles formaron películas continuas, lisas, transparentes y homogéneas con superficie lisa y brillante, sin presencia de partículas no solubles. En la Figura 1, se puede observar el porcentaje de solubilidad en agua de las películas comestibles obtenidas, donde las películas elaboradas con RML presentan diferencias significativas entre ellas ( $P = 0.001$ ), con valores entre 91.27 a 80.52%, siendo más solubles las que no contienen nanocompositos con un valor de 91.7%, en tanto que para RML/NsAg-QC y RML/NsAgQL sus valores son inferiores, con valores de 80.52 y 85.67% respectivamente, siendo los nanocompositos los que les confieren esta condición. Mientras que para las películas elaboradas con RQL el porcentaje de solubilidad fue más estable para todas las muestras ya que no existen diferencias significativas entre ellas ( $P = 0.24$ ), con valores de 70 a 70.61%, con lo cual se deduce que al adicionar los Ns-Ag a los recubrimientos comestibles elaborados con QL, no presentan cambios.



En la Tabla III se observan los resultados que se obtuvieron en cuanto al espesor de las películas comestibles, donde para las películas de RML existen diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre las mismas, con valores de ente  $4.3 \times 10^{-2}$  a  $6.7 \times 10^{-2}$ , presentando un menor espesor aquellas a las que no se les incorporo Ns-Ag. En cuanto a las películas de RQL también existen diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre ellas, con valores entre  $5.3 \times 10^{-2}$  a  $9.0 \times 10^{-2}$ , presentando un menor espesor

aquellas que no se les agrego nanocompositos. Park *et al.*, (1993) atribuyen el efecto del espesor a cambios en la estructura de las películas o film ocasionados por el hinchamiento que provoca el agua en el polímero.

**Tabla III.** Espesor y Pva de películas comestibles a partir de Ns-Ag y recubrimientos comestibles de ML y QL

| Muestra     | Espesor                                     | Pva              |
|-------------|---|------------------|
| RML         | $4.3 \times 10^{-2} \pm 3.5 \times 10^{-3}$ | $1.550 \pm 0.11$ |
| RML/NsAg-QC | $6.7 \times 10^{-2} \pm 8.1 \times 10^{-3}$ | $3.086 \pm 0.03$ |
| RML/NsAg-QL | $4.9 \times 10^{-2} \pm 4.2 \times 10^{-3}$ | $2.532 \pm 0.01$ |
| ANOVA       | 0.007                                       | 0.004            |
| RQL         | $5.3 \times 10^{-2} \pm 2.5 \times 10^{-3}$ | $2.172 \pm 0.09$ |
| RQL/NsAg-QC | $9.0 \times 10^{-2} \pm 7.9 \times 10^{-3}$ | $3.175 \pm 1.15$ |
| RQL/NsAg-QL | $9.0 \times 10^{-2} \pm 6.6 \times 10^{-3}$ | $2.982 \pm 1.14$ |
| ANOVA       | 0.002                                       | 0.649            |

En la tabla III se presenta que las películas RML/NsAg-QC y RML/NsAg-QL fueron notoriamente más permeables que RML (Tabla III) esto ocasionado posiblemente por la cantidad de biopolímero, la naturaleza de este y por su estructura cristalina lo que permite el paso de moléculas de agua con mayor facilidad. Mientras que para las películas de RQL este parámetro fue más estable ya que no existen diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre los resultados obtenidos. En la tabla IV se indica el módulo de elasticidad (ME en MPas), el esfuerzo de fractura (sF en MPas) y el porcentaje de deformación de fractura (%E). No hay diferencias significativas para el esfuerzo de fractura y el % de deformación para el ME de muestras con NsAg para ambos quitosanos (QL y QC) indicando que su incorporación no modifica la resistencia de la película a base de mucilago de linaza (RML) pero si modifica la elasticidad. Para películas a base de QL la incorporación de NsAg produce un material más resistente y elástico lo cual es coincidente con los resultados obtenidos por otros autores (De Moura *et al.*, 2012) al incrementar la interacción de partículas con la matriz de RQL se refuerza la estructura; de esta manera la adición de Ns a las películas a base QL se traduce en significativas mejoras.

**Tabla IV.** Propiedades mecánicas y ópticas de recubrimientos comestibles de ML y QL con la adición de Ns-Ag

| Muestra     | ME (MPas)   | sF (MPas)  | %E         | Trasparencia | Opacidad                     |
|-------------|-------------|------------|------------|--------------|------------------------------|
| RML         | $156 \pm 2$ | $8 \pm 1$  | $12 \pm 1$ | $34.5 \pm 3$ | $0.008 \pm 6 \times 10^{-4}$ |
| RML/NsAg-QC | $185 \pm 5$ | $7 \pm 1$  | $8 \pm 1$  | $20.6 \pm 2$ | $0.077 \pm 6 \times 10^{-3}$ |
| RML/NsAg-QL | $203 \pm 3$ | $9 \pm 1$  | $10 \pm 1$ | $28.1 \pm 3$ | $0.042 \pm 6 \times 10^{-3}$ |
| ANOVA       | 0.0020      | 0.0814     | 0.0865     | 0.0015       | 0.0011                       |
| RQL         | $143 \pm 4$ | $7 \pm 1$  | $18 \pm 1$ | $16.8 \pm 1$ | $0.023 \pm 3 \times 10^{-3}$ |
| RQL/NsAg-QC | $196 \pm 5$ | $10 \pm 1$ | $36 \pm 1$ | $13.3 \pm 2$ | $0.189 \pm 4 \times 10^{-2}$ |
| RQL/NsAg-QL | $222 \pm 6$ | $10 \pm 1$ | $39 \pm 2$ | $16.4 \pm 2$ | $0.085 \pm 2 \times 10^{-2}$ |
| ANOVA       | 0.0011      | 0.0351     | 0.0015     | 0.0022       | 0.0001                       |

En la Tabla IV a las películas que incorporaron Ns-Ag se reduce su transparencia significativamente y se incrementa su opacidad, así mismo hay diferencias asociadas al tipo y pureza del biopolímero empleado; el caracterizar las propiedades ópticas, transparencia u opacidad de las películas, es de suma importancia principalmente si

se pretenderá utilizar dicha película como una capa de protección o de apoyo a un alimento o producto con el fin de mejorar sus características sensoriales.

### CONCLUSIONES

Del estudio se concluye que los resultados obtenidos de la caracterización fisicoquímica de las nanopartículas en la cual no existen diferencias significativas para el %ST y nD. Todas las películas formaron películas continuas, lisas, transparentes y homogéneas con superficie lisa y brillante, sin presencia de partículas no solubles. Las películas más solubles son a las que no se les incorporo Ns-Ag, así como un menor espesor. La Pva presentó una influencia significativa por la cantidad de biopolímero (ML o QL), la naturaleza de este y por su estructura cristalina lo que permite el paso de moléculas de agua con mayor facilidad. Para películas a base de QL la incorporación de Ns-Ag produce un material más resistente y elástico lo cual es coincidente con los resultados obtenidos por otros autores. Las propiedades ópticas se ven significativamente influenciadas por los Ns-Ag.

### BIBLIOGRAFÍA

- Savage, N, Thomas, T.A. & Duncan J.S. 2007. Nanotechnology applications and implications research. *J Environ Monit.* 9, 1046-1054.
- Arumugam, N., Tamareselvy, K., Venkata Rao, K., & Rajalingam, P. (1989). Coconutfiber reinforced rubber composites. *Journal of Applied Polymer Science*, 37, 2645–2659.
- Sorrentino, A., & Gorrasi, G. 2007. Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. *Trends in Food Science & Technology*, 18(2), 84–95.
- Lloret, E. Picouet, P., Fernandez. A. 2012. Matrix effects on the antimicrobial capacity of silver based nanocomposite absorbing materials. *LWT Food Science and Technology*, 49 (2), 333–338.
- Okada, Akane, & Usuki, Arimitsu. 1995. The chemistry of polymer-clay hybrids. *Materials Science & Engineering*, 3(2), 109-115.
- McHugh, T.H., Krochta, J.M. 1994. Permeability properties of edible films. En: Krochta, J.M., Baldwin, E.A., Nisperos-Carriedo, M.O. (eds.). *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*. Ed. Technomic Publishing Company, Inc., Lancaster, USA, pp. 139-187.
- Park, H.J., Weller, C.L., Vergano, P.J. & Testin, R.F. 1993 Permeability and Mechanical Properties of Cellulose-Based Edible Films. *Journal of Food Science*, 58, 1361–1364.
- De Moura, M.R., Mattoso, L.H.C., Zucolotto, V., 2012. Development of Cellulose-Based Bactericidal Nanocomposites Containing Silver Nanoparticles and Their Use as Active Food Packaging. *Journal of Food Engineering* 109, 520-524.