Caracterización Óptica, Antioxidante y Morfológica De Films Con Nanocompositos Plata-Quitosano

*G. Ortiz-Duarte[1], J.F. Velasco-Reyes[2], L. E. Pérez-Cabrera[5], A. M. García-Munguía[3], I. E. Medina-Ramírez[4], R. Casillas-Peñuelas[5],

1 Posgrado en Ciencias Agronómicas del Centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes (UAA). **2** Ingeniaría Agroindustrial del Centro de Ciencias Agropecuarias, Depto. Tecnología de Alimentos, UAA. **3** Depto. de Fitotecnia, UAA. **4** Depto. de Química, UAA. **5** Depto. de Tecnología de Alimentos UAA.
*Correo: genesisortizduarte543@hotmail.com.

RESUMEN:

Los nanocompositos (NPs) 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 (NPs-Ag-QC / NPs-Ag-QL) para su inclusión en recubrimientos comestibles. Se integró el hidrcoloide a films a base de mucilago de linaza (ML), quitosano comercial (QC) y quitosano de langostino (QL). Los recubrimientos se caracterizaron en pH y % de sólidos solubles. A los films formadas se les determinó: % solubilidad, propiedades ópticas (Transparencia y Opacidad (%)), actividad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC-DPPH) y morfológica por microscopio de barrido (SEM). Los resultados de esta investigación arrojaron que las films fueron trasparentes, lisas y continuas lo que incrementa la posibilidad de integrarse en alimentos.

Palabras clave: Films, Morfología, Nanocompositos, Permeabilidad, Quitosano, Solubilidad, Recubrimientos comestibles.

ABSTRACT:

Nanocomposites (NPs) can generate economic products and make a efficient production by reducing waste and energy in food packaging. In this work nanocomposites of chitosan (commercial and shrimp) with silver active agent (NPs-Ag-QC / NPs-Ag-QL) were synthesized for inclusion in eatable coatings. The hydrocolloid was integrated into films based on mucilage of linseed (ML), commercial chitosan (QC) and chitosan of prawn (Cherax Quadricarinatus) (QL). The coatings were characterized in pH and % of soluble solids. The films formed were determined: % solubility, optical properties (Transparency and Opacity (%)), antioxidant activity equivalent to Trolox (TEAC-DPPH) and morphological by microscope (SEM). The results of this investigation showed that the films were transparent, smooth and continuous, which increases the possibility of integrating into a food.

Keywords: Chitosan, Eatable coating, Films Nanocomposites, Morphology, Permeability, Solubility.

INTRODUCCIÓN

Durante la última década para responder a la demanda de alimentos y mejorar la integridad mecánica, la calidad y seguridad, se ha incrementado considerablemente el número de trabajos de investigación con el objetivo de estudiar la habilidad de diversos materiales para formar recubrimientos y films comestibles y analizar sus propiedades; los principales componentes utilizados son biopolímeros, lípidos, proteínas y polisacáridos. Desde el punto de vista fisicoquímico, el quitosano es un biopolímero hidrosoluble que puede formar recubrimientos, films, hidrogeles, fibras, micro y nanopartículas en condiciones y medio ácido suaves Tolaimate y col. (2000).

Actualmente la investigación en ciencia y tecnología se ha centrado en la fabricación de estructuras atómicas y materiales a escalas nanométrica Savage y col. (2007). La aplicación de nanocompositos es detonante en el uso de films y recubrimientos comestibles en alimentos. Se han demostrado que cargas relativamente bajas de nanopartículas incorporadas a materiales compuestos poliméricos refuerzan sus cadenas confinándolo entre las láminas de las films o recubrimientos reforzando e integrando la nanoestructura, estos cambios dan como resultado un incremento en la superficie de interacción, mejoras en las propiedades mecánicas, en la absorción de nutrientes y en el envasado, disminución en la permeabilidad a los gases y líquidos, un menor uso de grasas, nuevos sabores y texturas ObservatoryNano (2009).
Es por ello que el presente trabajo se centra en desarrollar recubrimientos comestibles a bases de quitosano comercial (RQC), de langostino (RQL) y mucilago de linaza (RML) con nanocompositos de plata-quitosano comercial (NPs-Ag-QC) y quitosano de langostino (NPs-Ag-QL) para caracterizar los films en propiedades ópticas, antioxidantes y morfológicas. Los resultados de esta investigación arrojaron que los films fueron trasparentes, lisos y continuos lo que incrementa la posibilidad de integrarse en alimentos. De los valores de % de solubilidad dependerá su adecuidad para ser aplicadas en un alimento con mayor o menor porcentaje de humedad en agua, así mismo, el caracterizar las propiedades ópticas de transparencia y opacidad, es de suma importancia si se pretende utilizar dicha película como una capa de protección o de apoyo a un alimento con el fin de mejorar sus características sensoriales

MATERIALES Y MÉTODOS

Síntesis de Nanocomposito. La síntesis de nanocompositos de Plata-Quitosano se realiza por una adaptación al método descrito por Medina y col. (2009) por reducción de $AgNO_3$ con $NaBH_4$ en un horno reactor de microondas (SEM, 908005).
Formulación de Recubrimientos e incorporación de nanocompositos. Para la formulación de recubrimientos comestibles a base de mucilago de linaza se usa el método descrito por Hernández y col. (2011) y el quitosano de langosta de rio (RQL) y quitosano comercial se obtienen mediante el método descrito por Zamarrón y col. (2014). Los recubrimientos se caracterizan fisicoquímicamente en pH por medio de un potenciómetro (Hanna Instrument, HI9812-5), y en sólidos totales (%) por medio de refractómetro (Hanna Instrument, HI96801).
Formación de Films comestibles. Para la formación de los films comestibles se extendieron 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 films se retiraron de las superficies y se acondicionan en una atmosfera controlada con sílica gel.

Caracterización de Films comestibles
Solubilidad en vapor de agua. Se usó una modificación del procedimiento propuesto por Gontard (1992). Se pesaron 150 mg de cada uno de los films y se secaron en un horno a 100 ± 2 °C por 24 h obteniendo así el peso inicial seco. Las muestras secas se sumergieron en 50 mL de agua desionizada y se agitaron suavemente a una temperatura de 20 ± 2 °C por 24 h. Al finalizar las 24 h, las muestras insolubilizadas fueron separadas por centrifugación a 5000 rpm, se decantó el agua y se determinó el peso seco de los films que no se solubilizaron. El peso de la materia seca solubilizado se calculó usando la Ec 1 y se expresa como el porcentaje de solubilidad en agua.

Ec. 1

Propiedades ópticas. Se usó un espectrofotómetro UV-Visible (GBC), La transparencia se determinó a 600 nm (T_{600}) y la opacidad de los films se calculó en base al método descrito por Gontard y Guilbert (1994).
Capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC-DPPH). La capacidad antioxidante se evaluó siguiendo el método TEAC-DPPH Brand-Williams y col., (1995); Fukumoto y Mazza (2000). La absorbancia se midió a 517 nm frente a un blanco de metanol usando un espectrofotómetro UV visible.
Caracterización morfológica. Los films se acondicionaron en una atmosfera controlada con P_2O_6, posteriormente se recortaron pequeñas tiras a las cuales se les aplicaron tres cubiertas de oro a 100 Angstroms mediante un nebulizador de oro (Dentonvacuum) y se analizaron en un microscopio electrónico de barrido SEM (JEOLJFM-59LV) a 10kV.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

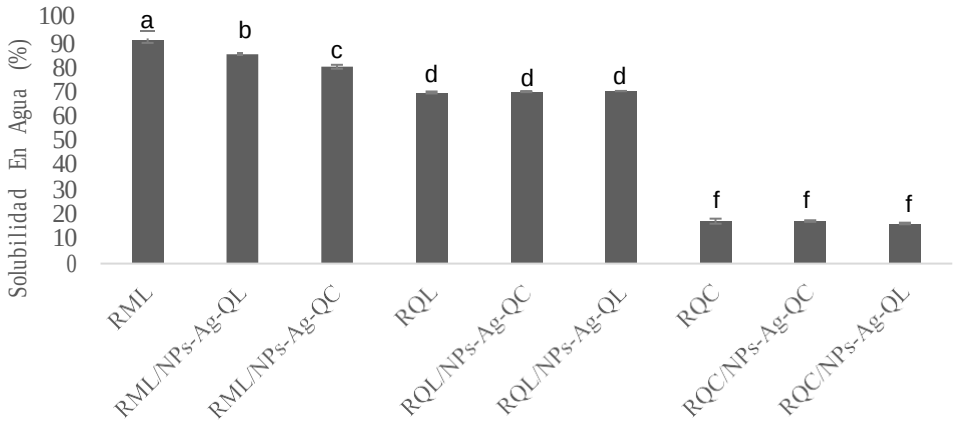
Caracterización fisicoquímica de los recubrimientos.
Posterior a la integración de NPs-Ag-QC y NPs-Ag-QL a los recubrimientos RML, RQC y RQL se determinan los valores de pH y % de sólidos totales, para garantizar que exista una solubilidad alta del compuesto quitosano. Como se puedes observar en la **"Tabla I"** los tratamientos presentan diferencias significativas entre ellos. Los resultados anteriores son consistentes con lo esperado puesto que el pH al que se disuelven las muestras para garantizar su solubilidad es de 4.2, esto debido a que el pKa del quitosano es 6 y se requiere de un medio acido para disolverlo Chenite y col. (2000). En tanto para la prueba % de Solidos Totales las muestras de RQL presentan mayor porcentaje (3.1%), en comparación con RML/NPs-Ag-QC con 1.4%, presentando diferencias significativas a un nivel de confianza del 95%.

Tabla I: Caracterización fisicoquímica de Recubrimientos

Tratamientos	pH	Solidos Totales (%)
RQC	4.200 ± 0^{d}	2.400 ± 0^{b}
RQC/Nps-Ag-QC	$4.966\ \pm0.05^{a}$	2.333 ± 0.04^{b}
RQC/Nps-Ag-QL	$4.933\ \pm0.05^{a}$	2.333 ± 0.04^{b}
RML	4.933 ± 0.05^{a}	1.633 ± 0.04^{c}
RML/Nps-Ag-QL	4.700 ± 0^{b}	1.500 ± 0^{d}
RML/Nps-Ag-QC	4.700 ± 0^{b}	1.466 ± 0.04^{d}
RQL	4.200 ± 0^{d}	3.100 ± 0.08^{a}
RQL/Nps-Ag-QL	4.233 ± 0.05^{d}	3.066 ± 0.04^{a}
RQL/Nps-Ag-QC	4.433 ± 0.05^{c}	3.066 ± 0.04^{a}

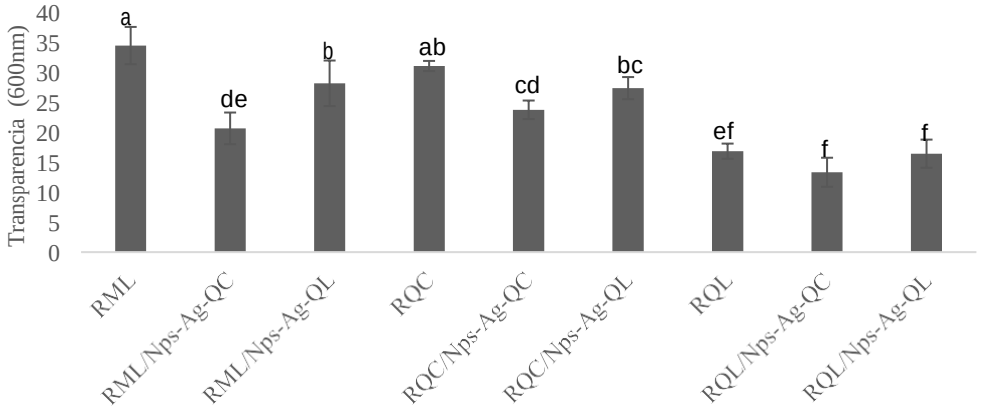
^{abcd}literales diferentes presentan diferencias significativas con un intervalo de confianza del 95%

Caracterización fisicoquímica de los films
Formación de films. Todos los recubrimientos comestibles formaron films continuos, lisos, transparentes y homogéneos con superficie lisa y brillosa, sin presencia de partículas no solubles.
Solubilidad en agua. De los valores de solubilidad dependerá la aplicación de los films en un alimento con mayor o menor porcentaje de humedad o si son expuestos a atmósferas de distinta humedad relativa Miramont y col. (2012). Podemos observar en la **"Figura 1"** que los films con mayor solubilidad fueron las elaboradas con base en RML con un % de entre 91.27 a 80.52%, siendo más solubles en agua aquellos a las que no se les incorporo nanocompositos, mientras que las films elaboradas con base en RQC presentan porcentajes menores de solubilidad de entre 17.3 y 16.4 % lo cual nos indica que estas films podrían utilizarse en productos con alto contenido de húmedas.
Propiedades ópticas. Hutchings (1999) indica que las propiedades ópticas de mayor relevancia a la hora de evaluar el impacto directo sobre la apreciación del color y aspecto de un producto recubierto son la transparencia y opacidad, en la **"Figura 2"**, se observan los resultados obtenidos de las propiedades ópticas de los films. La transparencia se cuantifica como transmitancia; porcentaje de intensidad lumínica que atraviesa la muestra, o sea que un material presenta transparencia cuando la transmitancia es alta ya que deja pasar fácilmente la luz Miramont y col. (2012), en este estudio la transparencia de los films de RML fue alta, sin embargo existen diferencias significativas entre las films a las que se les incorporaron las nanocompositos, siendo más transparentes las que no contienen los nanocompositos con un valor de 34.51± 3.1, las diferencias entre las mismas es por el color marrón característico que tienen los nanocompositos, sin embargo los films de RML/NPs-AgQC tienen un color más obscuro es por ello que la transparencia de las films con nanocompositos es menor, el mismo comportamiento fue observado en las films con de RQL entre los cuales no existen diferencias significativas ($P>0.05$), sin embargo para estas muestras los valores de transparencia son menores a comparación de los de RML, esto debido a la pureza del quitosano.



[abcdf]literales diferentes presentan diferencias significativas con un intervalo de confianza del 95%

Figura 1: Propiedades de Solubilidad

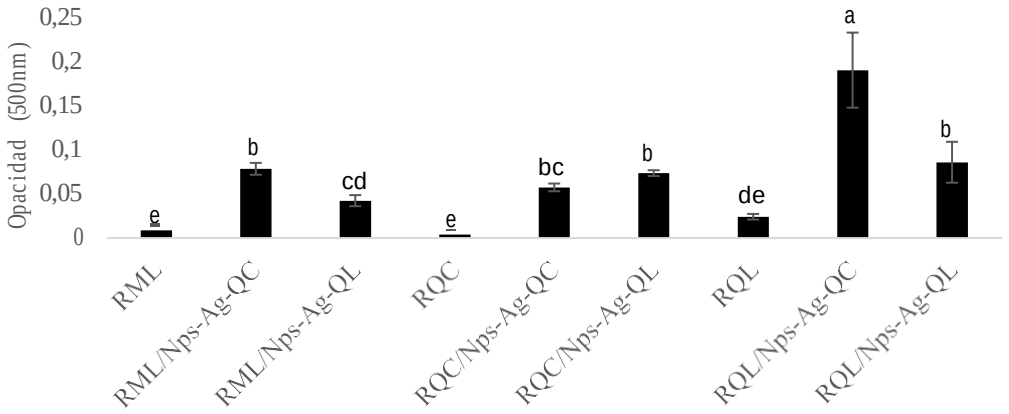


[abcdf]literales diferentes presentan diferencias significativas con un intervalo de confianza del 95%

Figura 2: Propiedades Ópticas de Transparencia

La opacidad es la condición en la cual una materia impide parcial o totalmente el paso del haz de luz, los resultados obtenidos de la determinación de la opacidad de films se pueden observar en la **"Figura 3"**, donde podemos observar que existen diferencias significativas (P>0.05) entre los films que contienen nanocompositos y los que no, lo cual era de esperase por el color marrón característico de los nanocompositos elaborados con quitosano comercial y de langostino. Una manera de contrarrestar este efecto podría ser la cantidad de glicerol aplicada al film ya que Sobral y col., (2004), indican que aumentando la cantidad de glicerol se disminuye la opacidad.

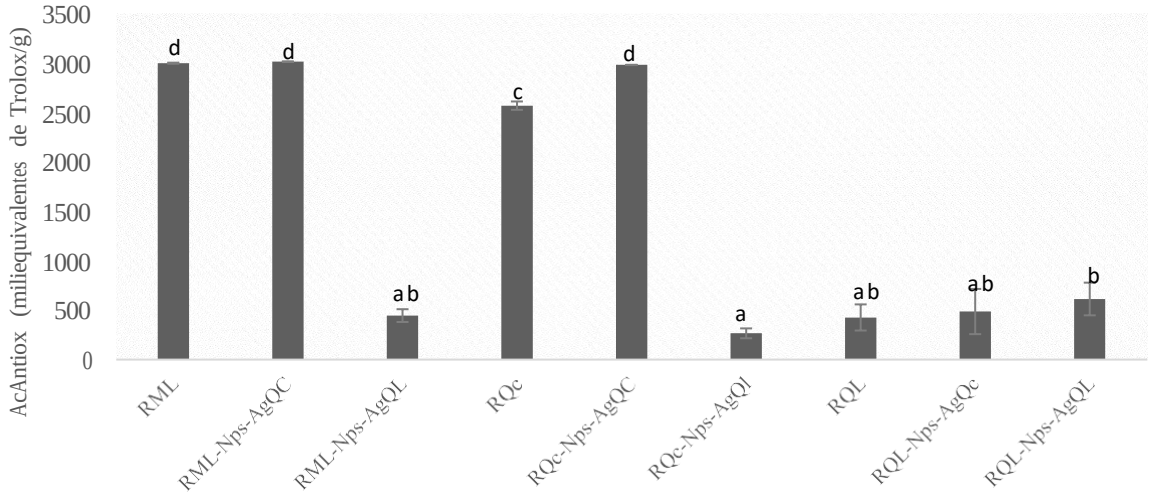
El caracterizar las propiedades ópticas, transparencia u opacidad de las films, es de suma importancia principalmente si se pretenderá utilizar dicha película como una capa de protección o de apoyo a un alimento o producto con el fin de mejorar sus características sensoriales.



[abcd]literales diferentes presentan diferencias significativas con un intervalo de confianza del 95%

Figura 3: Propiedades Ópticas de Opacidad

Capacidad antioxidante (AntOx) equivalente a Trolox (TEAC). En la "**Figura 4**" se muestra la actividad antioxidante que presentan los films (miliequivalentes de Trolox / g de muestra). Los films de RML y RQC tienen una alta actividad antioxidante (3000 y 2550nm de ET/g, respectivamente) comparada con las films QL que registro una AntOx significativamente menor (420nm ET/g). También se observa un decrecimiento importante en la AntOx de RML y RQC al incluirse NPs/Ag-QL, este decrecimiento puede deberse al peso molecular de los quitosanasa que se utilizó para obtener el quitosano, el estudio de López (2012) de la AntiOx en quitosanos demostró que los quito-oligosacáridos obtenidos con quitosanasa de bajo peso molecular presentaban mayor actividad antioxidante.



Caracterización morfológica de films. Los nanocompositos se lograron observar mejor a los 25000nm, sin embargo, se realizaron análisis desde los 1000 hasta los 25000x en los films de RML-NPs/Ag-QC, RML-NPs/Ag-QL, RQC-NPs/Ag-QC, RQC-NPs/Ag-QL, RQL-NPs/Ag-QC y RQL-NPs/Ag-QL existe la presencia que se esperaba, en comparación con los films de RML, RQC y RQL. Los NPs/Ag-QC y QL presentan una morfología esférica y tamaños variados de entre 100 a 250 nm y se encuentran dispersos de manera no homogénea tanto en la superficie como inmersos.

BIBLIOGRAFÍA

ASTM D96-88(1998) Standard Test Methods for Water and Sediment in Crude Oil by Centrifuge Method. Field Procedure Withdrawn 2000.

ASTM D882 (1997) "Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting"

Chenite, A., Chaput, C., Wang, D., Combes, C., Buschmann, M., Hoemann, C., Leroux, J., Atkinson, B., Binette, F., Selmani, A., (2000) "Novel injectable neutral solutions of chitosan form biodegradable gels in situ. Biomaterials", 21(21):2155-2161.

Baldwin J.M, McHugh, T.H., Krochta, J.M. (1994d). "Permeability properties of edible films. Technomic Publishing Company", Inc., Lancaster, USA, pp. 139-187.

Brunet L., Lyon D. Y., Hotze E. M., Alvarez P. J. and Wiesner M. R., (2009) "Comparative photoactivity and antibacterial properties of C60 fullerenes and titanium dioxide nanoparticles", Environmental science & technology, 43(12), 4355-4360.

Gontard, N., Guilbert, S., & Cuq, J. L. (1993). "Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water-vapor barrier properties of an edible wheat gluten film". Journal of food science, 58(1), 206-211.

Gontard, N. & Guilbert, S. (1994). "Bio-packaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. Food Packaging and Preservation" (edited by M. Mthlouthi). London: Blackie Academic and Professional. Pp. 159–181.

Guilbert, S. 1986. "Technology and application of edible protective films. Mathlouthi, M. Food Packaging and Preservation". Elsevier Applied Science Publishers, New York, USA, pp. 371-394.

Hernández Lozano C., Pérez Cabrera L. E., Tecante A., Ramírez Gómez M. A. 2011. "Biopolímeros utilizados en recubrimientos y films comestibles": tendencias recientes Capítulo del libro Los alimentos en México y su relación con la salud ISBN: 978-607-402-718-1.

Hutchings, J.B. (1999). "Food and Colour Appearance", Second Edition. Gaithersburg, Maryland: Chapman and Hall Food Science Book, Aspen Publication.

Medina, Ramirez I., Bashir, S., Luo, Z., & Luo, J. (2009). "Green synthesis and characterization of polymer-stabilized silver nanoparticles". Elsevier Applied Science Publishers

Perni S., Piccirillo C., Pratten J., Prokopovich P., Chrzanowski W., Parkin I. and Wilson P. M., (2009) "The antimicrobial properties of light-activated polymers containing methylene blue and gold nanoparticles", Biomaterials, 30(1), 89-93.

Tolaimate A, Debrieres J, Rhazi M, Alagui A, Vincendon M, Vottero P, (2000) "The influence of deacetylation process on the physicochemical characteristics of chitosan from squid chitin". Polimer 41, 2463- 2469.

Savage, N, Thomas, TA y Duncan JS. 2007. "Nanotechnology applications and implications research supported". The US Environmental Protection Agency STAR grants program. J Environ Monit. 9: 1046-1054.

Sondi I. and Salopek-Sondi B., (2004) "Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria" Journal of colloid and interface science, 275(1), 177-182.

Zamarrón, K. F. R. (2014). Efecto de films comestibles a base de quitosano de langostino (Cherax quadricarinatus) aplicadas en fresa y guayaba. Universidad Autónoma de Zacatecas.