

CARACTERIZACIÓN DE QUITOSANO PARA LA INDUSTRIA ALIMENTARIA POR RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE PROTÓN

Fabián Vigliocco, Sergio Rillo, Julieta Heba, Miguel Della Vecchia y Marta Calatayud.

INTI Química, Instituto Nacional de Tecnología Industria (INTI). Av. General Paz 5445, San Martín (B1650WAB), Buenos Aires fabianv@inti.gob.ar, martac@inti.gob.ar

ABSTRAC

Se desarrolló una metodología simple para la caracterización y conocimiento del biomaterial denominado quitosano, a través de la determinación del grado de acetilación (DA) por Resonancia Magnética Nuclear de Protón ($^1\text{H-RMN}$) sobre soluciones acuosas de quitosanos.

El quitosano, derivado parcialmente desacetilado de la quitina, proviene en este caso de quitina de exoesqueletos de langostinos (cáscaras o peladuras), que constituyen un desecho de la industria pesquera.

Este trabajo presenta los resultados de la caracterización por $^1\text{H-RMN}$ de quitosanos en solución de ácido fórmico al 5 % en agua deuterada, sistema solvente que permite obtener señales $^1\text{H-RMN}$ no interferidas en la zona de medición y que hasta el momento no había sido utilizado en este tipo de determinación.

INTRODUCCIÓN

Entre los materiales naturales con mayor potencial de uso se encuentra la quitina y el quitosano, este último por su infinidad de aplicaciones tales como protección de semillas, liberación controlada de fertilizantes, funguicidas, cremas cicatrizantes, aditivos bactericidas, piel artificial, floculantes, coagulantes, quelantes, terapia genética, biosensores, nanopartículas, etc. En este caso el estudio de quitosanos, dadas sus propiedades antimicrobianas y biocompatibles, se relaciona con su aplicación en la industria alimentaria.

La quitina es el segundo polímero natural más abundante, solo superado por la celulosa (materia base del papel), por eso constituye un importante recurso renovable ampliamente distribuido en la naturaleza tanto en el reino animal como en el vegetal. Sus principales fuentes son los exoesqueletos de invertebrados como crustáceos, alas de insectos, paredes celulares de hongos, algas, etc.

El quitosano es el derivado parcialmente desacetilado de la quitina. Consiste en unidades repetitivas de N-acetil-D-glucosamina y D-glucosamina distribuidas de manera aleatoria a lo largo de la cadena. Así, la quitina y el quitosano son poliglucosaminas que se pueden distinguir solamente por el grado de acetilación de los grupos amino. Las quitinas típicas tienen generalmente grado de acetilación entre 70-95% mientras que los quitosanos tienen un grado de acetilación entre 15-25%. El grado de acetilación es probablemente el parámetro más importante de estos polisacáridos determinando en gran medida sus características funcionales y fisiológicas.

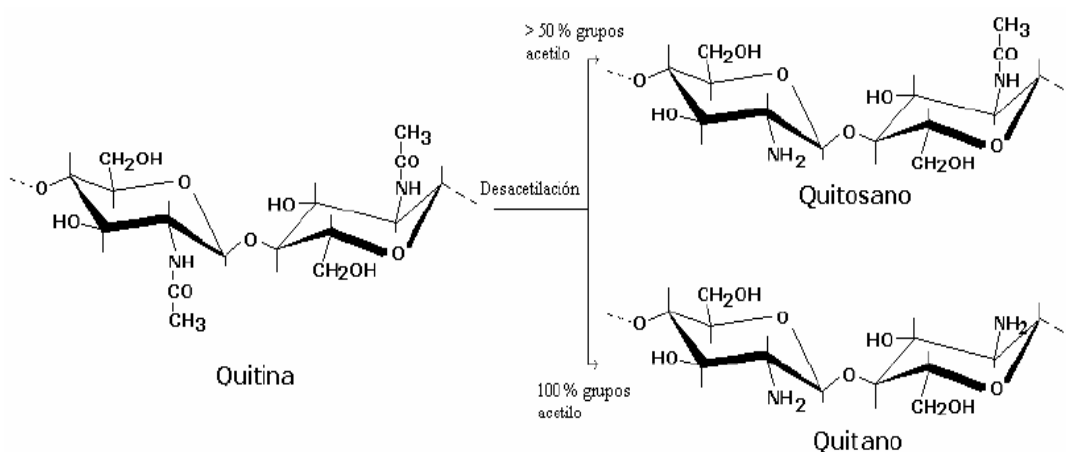


Figura 1: Relación estructural entre la quitina, el quitosano y el quitano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron cerca de 50 muestras de quitosanos provenientes de diferentes procesos de desacetilación de quitina. De acuerdo a las características de cada muestra se ensayó la solubilidad en diferentes sistemas: ácido clorhídrico/agua, ácido acético/agua y ácido fórmico/agua, usando concentraciones de ácido desde 2% hasta 50% en agua.

Los espectros RMN de protón (^1H -RMN) de las fracciones solubles de cada una de las muestras en solución de ácido fórmico al 5% en agua deuterada se registraron en un equipo Bruker Avance DPX 400. Los cálculos se realizaron en base a las áreas de las señales ^1H -RMN de interés.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El mejor de los sistemas de disolución resultó ser ácido fórmico al 5% en agua deuterada (pH 4) a 40 °C, sonicando 30 minutos. Los espectros ^1H -RMN de todas las muestras presentan la señal correspondiente al protón del carbono 2 de la unidad monomérica del quitosano desacetilado (3,00 ppm). En las muestras se confirma la presencia de quitosanos con diferentes grados de acetilación en su estructura.

Muestra	Índice de acetilación (DA)
"A"	17,3%
"B"	15,3%
"C"	14,7%
"D"	11,7%
"E"	28,7%

Tabla 1: Índice de acetilación para cinco muestras provenientes de diferentes tratamientos de desacetilación.

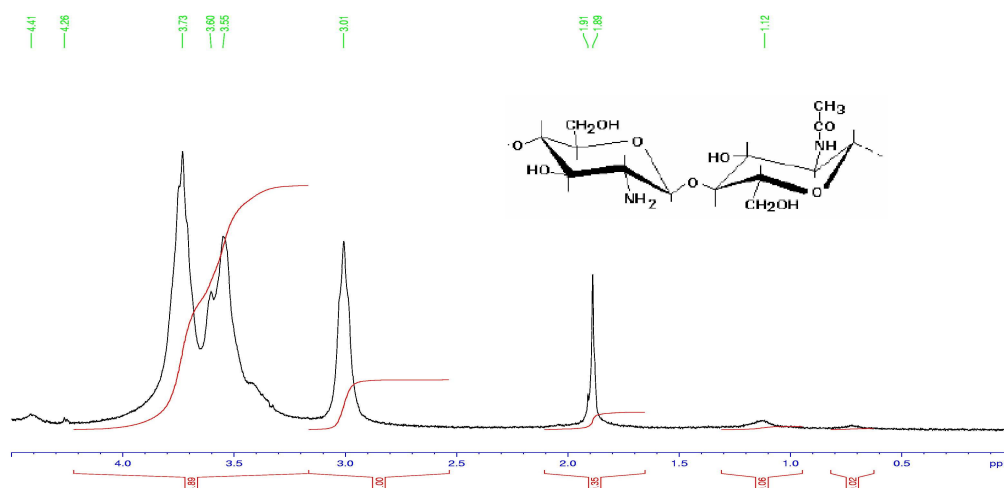


Figura 2: ¹H-RMN de una muestra de quitosano.

El cálculo del grado de acetilación (DA) se realizó según:

$$DA = [(1/3 H_{Ac}) / H_2] \times 100$$

Donde:

DA: grado de acetilación, en porcentaje.

H_{Ac}: área del pico a 1,88-1,91 ppm asignada a los 3 protones del grupo metilo del acetilo. Se divide por este número de protones para normalizar.

H₂: área del pico a 3,00 ppm asignada al protón unido al carbono 2 correspondiente a la unidad monomérica del quitosano desacetilado.

CONCLUSIONES

El método ¹H-RMN resultó adecuado para el seguimiento de los procedimientos de desacetilación y su relación con las propiedades de los quitosanos. Tanto la composición de estos polímeros como sus dimensiones suelen variar dependiendo del material de partida y de la rigurosidad del método de obtención, por lo que la determinación del grado de acetilación y su masa molecular son dos parámetros de obligatorio conocimiento para caracterizar estos polisacáridos, ya que ambos tienen una gran incidencia en sus propiedades.

Los quitosanos estudiados fueron obtenidos en INTI-Mar del Plata utilizando caparazones del langostino *Pleoticus muelleri*. El producto fue caracterizado mediante la metodología ¹H-RMN desarrollada de manera de determinar su grado de acetilación. Es de gran importancia conocer este dato junto con otros parámetros, como el peso molecular y la pureza, ya que de ellos va a depender la aplicación del quitosano. Actualmente dichos análisis se llevan a cabo por el grupo de trabajo, compuesto por personal del Laboratorio de Físico Química y de Tecnología de INTI-Mar del Plata y del Laboratorio de Productos Industriales Sintéticos de INTI-Química.

REFERENCIAS

“A validated $^1\text{H-NMR}$ method for the determination of the degree of deacetylation of chitosan”. M. Lavertu et al., *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 32, 1149-1158 (2003)

“Fragmentation of chitosan by microfluidization process”. Mohammad R. Kasaai et al., *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 4, 403-413 (2003)

“Determination of degree of deacetylation of chitosan by $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy”. Asako Hirai, Hisashi Odani, and Akio Nakajima, *Polymer Bulletin*, 26, 87-94 (1991)

“Medidas de la rigidez del quitosano en solución a través de la viscosidad intrínseca”. Gartner y López. *Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia*, 53, 20-29 (2010)