

PROPIEDADES REOLÓGICAS, DE BARRERA Y MECÁNICAS DE PELÍCULAS COMPUESTAS DE GELATINA Y QUITOSANO

Rivero S, García MA, Pinotti, A

CIDCA. CCT-CONICET. Facultad Ciencias Exactas, Facultad de Ingeniería UNLP. 47 y 116 La Plata.e-mail: sgrive@cidca.org.ar /Fax 0221-4254853

Resumen

La utilización de subproductos industriales es una alternativa económicamente viable para la obtención de películas biodegradables. El quitosano es un polímero derivado de la quitina obtenido como subproducto de la industria pesquera; es biodegradable y posee capacidad filmogénica. La gelatina que se obtiene a partir del colágeno; es un hidrocoloide ampliamente usado para el desarrollo de envases biodegradables. Ambos hidrocoloides producen mezclas miscibles ya que los polímeros que interactúan a nivel molecular, y a partir de estas es posible obtener películas biodegradables cuya caracterización es necesaria para seleccionar sus potenciales aplicaciones. Los objetivos del presente trabajo fueron: desarrollar mezclas compuestas a partir de gelatina y quitosano, determinar el comportamiento reológico de las soluciones, caracterizar las películas desarrolladas a través del estudio de su microestructura, sus propiedades mecánicas y de barrera al vapor de agua. Para la formulación de las películas compuestas se prepararon soluciones de gelatina de origen bovino al 5, 7,5 y 10 % (p/v), se adicionó quitosano (Q) con o sin glicerol como plastificante (P).

La caracterización de las propiedades reológicas de las soluciones filmogénicas se realizó en un reómetro rotacional Haake RheoStress 600. Las soluciones mostraron distintos tipos de comportamiento: pseudoplástico para las compuestas por quitosano, y reopéctico para las de gelatina. El modelo de la ley de Ostwald de Waele ajustó satisfactoriamente los datos experimentales.

La permeabilidad al vapor de agua (WVP) se determinó de acuerdo con la norma ASTM E96. Los valores de WVP fueron: $6.34 \times 10^{-11} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ para quitosano y $3.0 \times 10^{-10} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ para las de gelatina, las películas compuestas presentaron valores intermedios. Las propiedades mecánicas, se determinaron en un texturómetro TA.XT2i – *Stable Micro Systems* mediante ensayos de tracción. Las películas de un sólo componente fueron rígidas y quebradizas, el agregado de quitosano no modificó sus propiedades mecánicas. La adición de glicerol provocó un aumento significativo de la deformación y una disminución de la resistencia tanto de las películas compuestas como de las control, independientemente de la concentración de proteína utilizada. La microestructura de las películas se caracterizó con un microscopio electrónico de barrido, JEOL JSMP 100, observándose en todos los casos superficies suaves, homogéneas y secciones transversales compactas, aún en las películas compuestas, lo que demostró la miscibilidad de los polímeros.

En conclusión, es factible obtener películas biodegradables a partir de subproductos industriales con aplicaciones prometedoras en el sector agroalimentario.

Palabras claves: subproductos industriales, películas biodegradables, comportamiento reológico, microestructura, propiedades mecánicas y de barrera.

1- Introducción

El aprovechamiento de recursos naturales renovables para la obtención de películas biodegradables representa una alternativa económicamente viable para el desarrollo de envases y la preservación del medio ambiente. La gelatina se obtiene por desnaturalización parcial del colágeno a través de diferentes tratamientos que involucran una hidrólisis ácida o alcalina (Eastoe y Leach, 1977; Johnston-Banks, 1990).

El quitosano es un polímero derivado de la quitina, subproducto de la industria pesquera; es un hidrocoloide cuyas propiedades físicas y químicas dependen fuertemente del grado de deacetilación. Es un polisacárido catiónico y su importancia reside en sus aplicaciones dado las propiedades antimicrobianas y formadores de películas que posee (Muzzarelli, 1996; Zhang y col., 2006; No y col., 2007).

Las películas de gelatina así como la mayoría de las proteínas no presentan buenas propiedades de barrera al vapor de agua, por ello el agregado de quitosano modifica la matriz polimérica mejorando la funcionalidad de las proteínas en el desarrollo de envases biodegradables. (Arvanitoyannis y col., 1998)

La gelatina y el quitosano producen mezclas miscibles ya que ambos polímeros son compatibles e interactúan a nivel molecular permitiendo el desarrollo de películas compuestas. Las propiedades de estos biomateriales dependen de la estructura química de los polímeros y aditivos utilizados en la formulación así como del método de obtención de las mismas; su desarrollo y caracterización tienen gran potencial de aplicación en el área farmacológica, cosmética, médica y en el sector agroalimentario (Arvanitoyannis y col., 1998).

Los objetivos del presente trabajo fueron: desarrollar mezclas compuestas a partir de gelatina y quitosano, determinar el comportamiento reológico de las soluciones, caracterizar las películas desarrolladas a partir de dichos hidrocoloides a través del estudio de su microestructura, sus propiedades mecánicas y de barrera al vapor de agua.

2- Materiales y métodos

2.1- Soluciones de hidrocoloides

Para la formulación de las películas se utilizaron soluciones de: gelatina de origen bovino (G), preparada por solubilización en agua destilada a 60 °C. Las concentraciones ensayadas fueron: 5, 7.5 y 10 g de proteína / 100 ml de solución. La solución de quitosano (SIGMA, USA) al 1 % (p/p) se preparó según García y col. (2004) por solubilización en ácido acético al 1 % (v/v), y posterior filtrado para eliminar los insolubles.

Se utilizó glicerol como plastificante (P) en una concentración 1.5 % (p/p). A partir de las soluciones mencionadas se prepararon películas de gelatina pura (control, G) y con plastificante (GP) y películas compuestas con gelatina y quitosano en una relación 1:1 con y sin agregado de glicerol (GQP y GQ).

2.1- Ensayos reológicos

Para estudiar las propiedades reológicas de las soluciones se utilizó un reómetro Haake RheoStress 600 (Alemania) utilizando un sistema sensor plato-plato con superficies rugosas, con una distancia entre platos de 1mm.

Los ensayos dinámicos se realizaron para caracterizar el comportamiento viscoelástico. Para determinar el rango de viscoelasticidad lineal de las soluciones, se realizó un barrido de esfuerzo desde 0 hasta 20 Pa, a una frecuencia de 1 Hz. Luego se realizó un barrido de frecuencia a un esfuerzo constante de 1 Pa. De los ensayos se obtuvieron los espectros mecánicos: módulo de almacenamiento y de pérdida (G' y G'') en función de la frecuencia (ω). A partir de los ensayos rotacionales se obtuvieron las curvas de flujo, esfuerzo de corte (τ) en función de la velocidad de corte ($\dot{\gamma}$) y los valores de viscosidad correspondientes.

2.2- Preparación y propiedades físico-químicas de las películas

Las películas se obtuvieron por moldeo de las soluciones en placas de acrílico. El secado se realizó en estufa a 37°C durante cuatro horas, posteriormente las películas fueron acondicionadas a una humedad relativa (RH) del 65 % y a 20°C. El espesor de las películas se determinó utilizando un medidor electrónico de espesores Elcometer A 300 FNP 23 (Inglaterra) para materiales no conductores y sustratos no ferrosos. Los valores informados corresponden al promedio de al menos 15 medidas.

2.3- Caracterización de la microestructura

Las películas se caracterizaron por microscopía electrónica de barrido (SEM) con un microscopio electrónico JEOL JSMP 100 (Japón), colocándolas previamente sobre portamuestras de bronce y recubriéndolas con una capa de oro de 50nm.

2.4- Permeabilidad al vapor de agua (WVP)

Se determinó según una modificación del método de la ASTM E96 (Rivero y col., 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 una balanza analítica y ésta se graficó en función del tiempo (hs). Los datos se regresionaron linealmente y, considerando el espesor, se calculó la permeabilidad al vapor de agua (WVP) en $\text{g Pa}^{-1} \text{s}^{-1} \text{m}^{-1}$ a 20 °C.

2.5- Propiedades mecánicas

La resistencia a la tracción (MPa) y la elongación porcentual (%) se determinaron en un texturómetro TA.XT2i – *Stable Micro Systems* (Inglaterra) mediante ensayos de tracción con un sistema de pinzas de tensión A/TG según la norma ASTM D882-91 (1996). Para los ensayos se utilizaron probetas de 6 cm de longitud y 0.7 cm de ancho obtenidas de las películas. Las curvas de fuerza (N) en función de la deformación (mm) fueron registradas por el software Texture Expert Exceed.

2.6- Análisis estadístico

Se empleó el test de comparación de medias de Fisher (LSD) y de análisis de varianza (ANOVA), utilizando el paquete estadístico Systat (versión 10, USA). El nivel de significación usado fue 0.05.

3- Resultados y discusión

3.1- Ensayos reológicos

El conocimiento de las propiedades reológicas de las soluciones filmogénicas permite optimizar las condiciones de procesamiento para la obtención de películas. La Fig. 1 muestra las curvas de esfuerzo (τ) en función de la velocidad de corte ($\dot{\gamma}$) obtenidas a partir de los ensayos rotacionales. Las soluciones de gelatina presentaron un comportamiento reopéctico. Las soluciones compuestas (GQ) mostraron un comportamiento pseudoplástico, independientemente de la concentración de gelatina y del agregado de plastificante. (Fig. 1b). El modelo de Ostwald de Waele ajustó satisfactoriamente los datos experimentales.

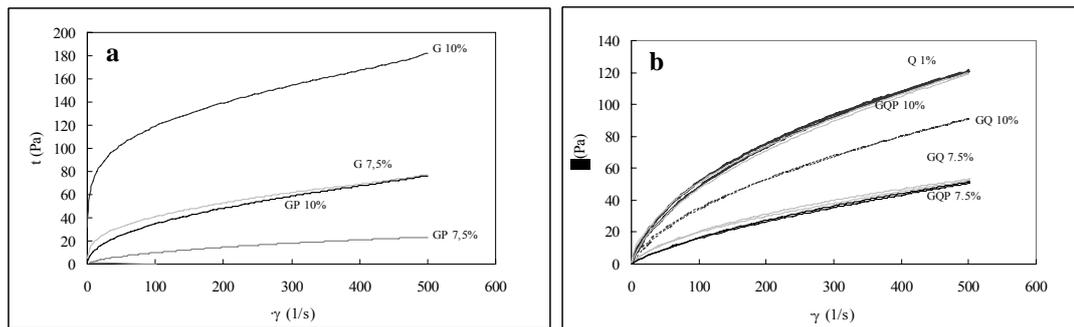


Fig. 1. Comportamiento reológico rotacional de soluciones preparadas a partir de: **a)** gelatina con o sin plastificante; **b)** gelatina, quitosano con o sin glicerol.

El módulo elástico G' fue significativamente mayor que el módulo viscoso G'' ($p < 0.05$), esta tendencia se mantuvo constante en el rango de frecuencias ensayado, tanto para las soluciones de gelatina al 7.5% como al 10%, indicando una estructura elástica. Las soluciones de quitosano mostraron una respuesta típica de un fluido viscoso (G'' mayor que G') aproximándose ambos a altas frecuencias (Fig. 2a). La Fig. 2b muestra los espectros mecánicos de las soluciones de gelatina al 10% con agregado de quitosano o plastificante. La adición de plastificante disminuyó la respuesta elástica de las soluciones de gelatina, mientras que las soluciones con agregado de quitosano tuvieron una respuesta predominantemente viscosa, en el rango de frecuencias estudiado, similar al de la solución de quitosano (Fig. 2b).

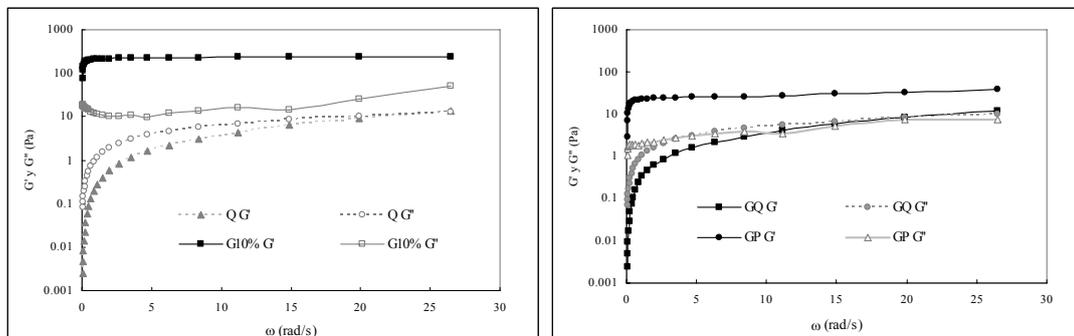


Fig. 2: Espectro mecánico de soluciones preparadas a partir de: **a)** gelatina (G), quitosano (Q) y **b)** soluciones de gelatina con quitosano (GQ) y su mezcla con glicerol (GQP).

3.2 Caracterización fisicoquímica y microestructural

En todos los casos se obtuvieron películas transparentes, flexibles y homogéneas que fueron fácilmente removidas de las placas. El espesor medio de las películas fue de $70 \pm 10 \mu\text{m}$.

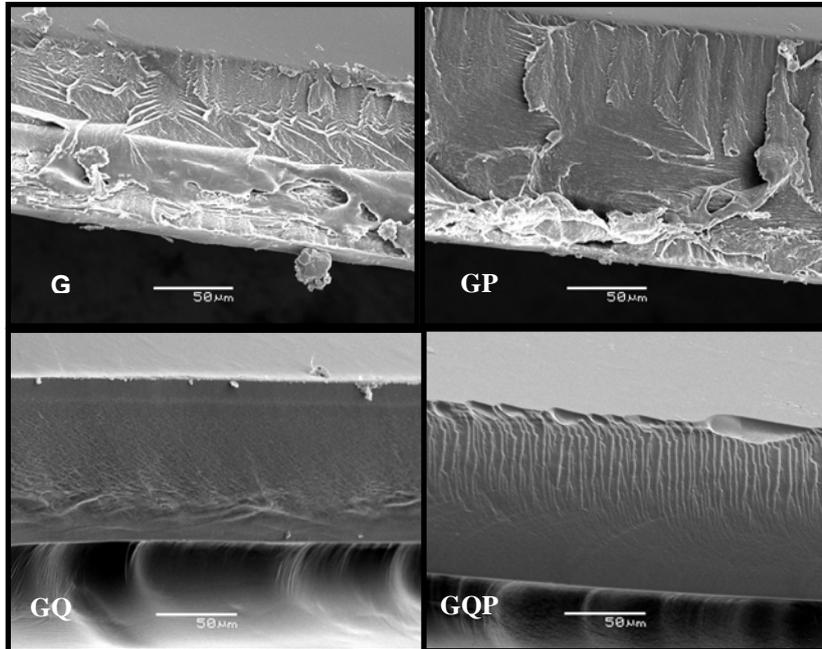


Fig.3. Microscopía electrónica de barrido de cortes transversales de películas de gelatina al 7.5% (G) plastificadas con (GP), compuestas con quitosano (GQ) y compuestas plastificadas (GQP). Escala: $50 \mu\text{m}$

La observación del corte transversal de la película de gelatina (G) indica que ésta presenta un aspecto multi-laminar (Fig. 3). El agregado de quitosano (GQ) permitió una estructura más compacta y homogénea (Fig. 3). Similar efecto fue observado cuando se adicionó de glicerol (P) a la mezcla de gelatina y quitosano. Las superficies de las películas se caracterizaron por su homogeneidad (Fig. 3).

3.4 Permeabilidad al vapor de agua

Los valores de permeabilidad al vapor de agua para las películas de gelatina sin plastificar no mostraron diferencias significativas con la concentración de gelatina. ($p > 0.05$). Las películas de quitosano presentaron buenas propiedades de barrera ($WVP 6.34 \times 10^{-11}$). El agregado de quitosano disminuyó significativamente la WVP de las películas compuestas ($p < 0.05$), mientras que la adición de glicerol mejoró las propiedades de barrera de las formulaciones ensayadas excepto para la concentración del 10% de gelatina (Fig.4).

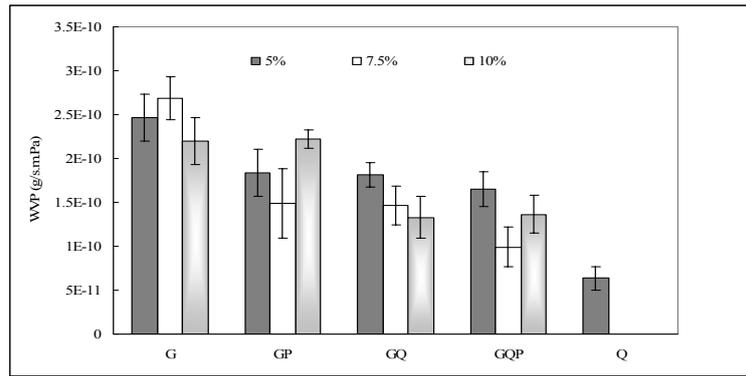


Fig. 4. Permeabilidad al vapor de agua (WVP) de películas obtenidas a partir de soluciones puras y mezclas con gelatina al 5 y 10%.

La gelatina y sus mezclas presentaron valores de WVP menores que otras películas biodegradables como: gluten plastificado con glicerol ($7.00 \times 10^{-10} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$) y amilosa ($3.80 \times 10^{-10} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$) (Gennadios y col., 1994).

3.5 Propiedades mecánicas

Con respecto a las propiedades mecánicas, las películas control de un sólo componente presentaron un patrón de resistencia a la tracción correspondiente a una matriz rígida y quebradiza, vinculado a la tenacidad del material siendo este comportamiento más marcado cuanto mayor es la concentración de proteína en la película.

La Fig. 5 a y b muestran la resistencia a la tracción y los valores de elongación para películas con una concentración de 7.5 % de proteína. El agregado de quitosano (GQ) no modificó las propiedades mecánicas de las películas de gelatina. La adición de glicerol provocó un aumento significativo de la deformación y una disminución de la resistencia tanto de las películas compuestas como de las control, independientemente de la concentración de proteína utilizada. La inclusión de plastificante interfiere en las interacciones entre cadenas favoreciendo su movilidad permitiendo aumentar la elongación de las películas y mejorando así su flexibilidad. Las películas preparadas con gelatina, quitosano y glicerol (GQP) presentaron valores de elongación elevados, incluso mayores que los correspondientes al polietileno de baja densidad (LDPE), y al celofán (Cunningham y col., 2000).

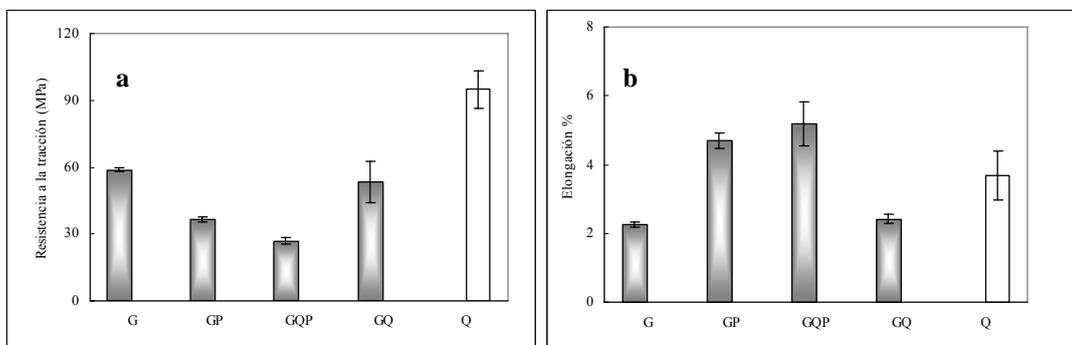


Fig. 5. Resistencia a la tracción (a) y elongación (b) para películas de gelatina al 7.5 %

4. Conclusiones

El comportamiento pseudoplástico del quitosano afectó las características viscoelásticas de las mezclas sin plastificante y provocó una disminución de la permeabilidad al vapor de agua de las películas control y las plastificadas con glicerol.

El agregado de glicerol a las formulaciones permitió obtener soluciones con mayor viscosidad aparente y respuesta elástica, matrices con mayor flexibilidad, con valores de deformación mayores a los del LDPE. Puede concluirse que la gelatina y el quitosano poseen capacidad de formar películas biodegradables transparentes con buenas propiedades mecánicas y de barrera con aplicaciones prometedoras, en el área farmacológica, cosmética y en el sector agroalimentario.

Referencias

- ASTM 1996 Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting, D882 - 91. *Annual book of ASTM*. Philadelphia, PA : American Society for Testing and Materials.
- Cunningham, P., Ogale, A., Dawson P. & Acton, J. 2000 Tensile Properties of Soy Protein Isolate Films Produced by a Thermal Compaction Technique. *J. Food Sci.*, 65, 4, 668-671.
- Eastoe JE & Leach AA. 1977. *Chemical and Constitution of Gelatin*. In: Ward AG and Courts A. The Science and Technology of Gelatin. New York: Academic Press. 73-107.
- García, M.A., Pinotti, A., Martino, M.N. & Zaritzky, N.E. 2004 Characterization of composite hydrocolloid films. *Carbohydrate Polymers* 56 (3), 339-345.
- Gennadios, A., Weller, C.L. & Gooding, C.H. 1994. Measurement errors in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. *J. Food Eng.* 21, 395-409.
- Johnston-Banks, F. A. 1990. Gelatin. In P. Harris (Ed.). *Food Gels* (pp. 233–289). London: Elsevier.
- Muzzarelli, R. A. 1996. Chitosan-based dietary foods. *Carbohydrate Polymer*, 29, 309-316.
- No, H. K., Meyers, S. P., Prinyawiwatkui W., & Xu, Z. 2007. Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: a review. *Journal of Food Science*, 72, 87-100.
- Rivero S, García MA, Pinotti A. 2009 Composite and bi-layer films based on gelatin and chitosan. *J. Food. Eng.* 90, 531-539
- Zhang, Y., Xue, Ch., Li, Z., Zhang, Y., & Fu, X. 2006. Preparation of half-deacetylated chitosan by forced penetration and its properties. *Carbohydrate Polymers*, 65, 229–234