

CARACTERIZACIÓN DE QUITOSANOS POR RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE PROTÓN

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

INTI Química

martac@inti.gov.ar

OBJETIVO

Desarrollar 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 (RMN ^1H) sobre soluciones acuosas de quitosanos.

DESCRIPCIÓN

Este trabajo presenta los resultados de la caracterización por RMN ^1H de quitosanos en solución de ácido fórmico al 5 % en agua deuterada, sistema solvente que permite obtener señales RMN ^1H no interferidas en la zona de medición y que hasta el momento no había sido utilizado en este tipo de determinaciones^{1,3,4}.

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, fungicidas, cicatrizantes, bactericidas, envases, piel artificial, 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, 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 de N-acetil-D-glucosamina y D-glucosamina distribuidas de manera aleatoria a lo largo de la cadena polimérica.

La quitina y el quitosano son poliglucosaminas que se pueden distinguir solamente por el grado de acetilación de los grupos amino. Como se aprecia en la figura 1, las quitinas típicas tienen generalmente grado de acetilación entre 70-95% mientras que los quitosanos tienen un grado de acetilación entre 15-25%.

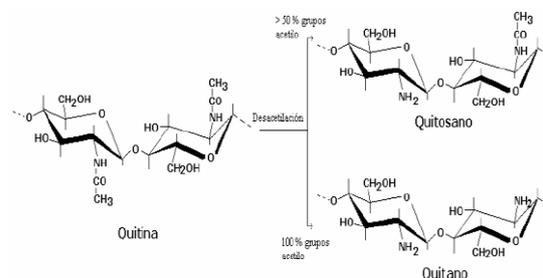


Figura 1: Relación estructural entre la quitina, el quitosano y el quitano.

El grado de acetilación es uno de los parámetros más importantes de estos polisacáridos pues determinan sus características funcionales y fisiológicas.

Se estudiaron cerca de 50 muestras de quitosanos obtenidos por diferentes procesos de desacetilación de quitina proveniente de las cáscaras y peladuras de langostinos, que constituyen un desecho de la industria pesquera. Los quitosanos fueron preparados en INTI Mar del Plata a partir de caparazones del langostino *Pleoticus muelleri*.

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.

Se registraron los espectros RMN ^1H de las fracciones solubles de cada una de las muestras en solución de ácido fórmico al 5% en agua deuterada en un equipo Bruker Avance DPX 400 con sonda multinuclear de gradiente. Los cálculos se realizaron en base a las áreas de las señales RMN ^1H de interés.

RESULTADOS

El mejor de los sistemas de disolución resultó ácido fórmico al 5% (pH 4) en agua deuterada a 40 °C, sonicando 30 minutos. Los espectros RMN ^1H de todas las muestras presentan la señal correspondientes⁴ 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. En la tabla 1 se muestran los resultados obtenidos para cinco muestras.

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.

El cálculo del grado de acetilación^{1,4} (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. A modo de ejemplo, en la figura 2, se indican las áreas utilizadas en el cálculo del DA.

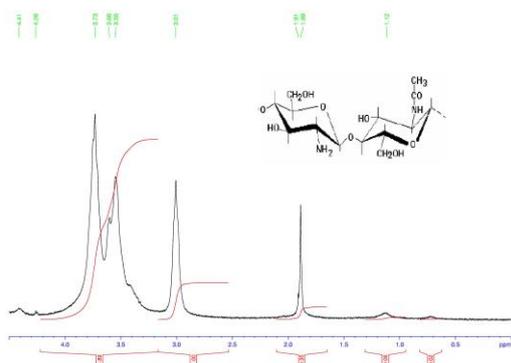


Figura 2: RMN 1H de una muestra de quitosano.

CONCLUSIONES

El método RMN ¹H 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 tanto la determinación del grado de acetilación junto con otros parámetros como la masa molecular y la pureza, son parámetros de conocimiento obligatorio para caracterizar las propiedades de este biomaterial².

Actualmente el estudio de estos parámetros se lleva a cabo en los Laboratorios de Físico-Química y de Tecnología de INTI-Mar del Plata,

y el Laboratorio de Productos Industriales Sintéticos de INTI-Química.

BIBLIOGRAFÍA

[1] Asako Hirai, Hisashi Odani, and Akio Nakajima. (1991) Determination of degree of deacetylation of chitosan by ¹H-NMR spectroscopy. *Polymer Bulletin*, 26, 87-94.

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

[3] Lavertu M. et al. (2003). A validated ¹H-NMR method for the determination of the degree of deacetylation of chitosan. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 32, 1149-1158.

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