

# Desarrollo de películas bioactivas de quitosano a partir de la atomización de formulaciones líquidas

## Development of bioactive chitosan films from sprayed liquid formulations

Presentación: 26 y 27 de octubre de 2022

### **Matías Alejandro Raspo**

Universidad Tecnológica Nacional – Facultad Regional San Francisco  
Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas  
Universidad Nacional de Villa María – Instituto Académico Pedagógico de Ciencias Básicas y Aplicadas  
mraspo@sanfrancisco.utn.edu.ar

### **Melina del Valle Berteza**

Universidad Tecnológica Nacional – Facultad Regional San Francisco  
melinaberteza@gmail.com

### **Camila María Sicardi**

Universidad Tecnológica Nacional – Facultad Regional San Francisco  
camisicardi@gmail.com

### **Cesar Gerardo Gomez**

Universidad Nacional de Córdoba – Facultad de Ciencias Químicas – Departamento de Química Orgánica  
Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) – Instituto de Investigación y Desarrollo en Ingeniería de Procesos y Química Aplicada (IPQA)  
cesar.gomez@unc.edu.ar

### **Alfonsina Ester Andreatta**

Universidad Tecnológica Nacional – Facultad Regional San Francisco  
Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)  
aandreatta@sanfrancisco.utn.edu.ar

### **Resumen**

El presente trabajo establece el estudio de las condiciones de atomización de una formulación de quitosano-ácido gálico-sorbitol sobre superficies de papel, teniendo en cuenta la distancia de atomizado, el diámetro del pico de atomizador y la concentración de la formulación. Los resultados observados revelaron que la distribución de partículas atomizadas de la formulación se hace más uniforme a medida que la distancia aumenta. En este sentido, las diluciones en el rango de 7:3 a 4:6 evidencian el mejor desempeño de atomización en términos del grado de homogenización del recubrimiento. La capacidad antioxidante de las superficies atomizadas decrece con la concentración de la formulación, mostrando un valor aceptable de inhibición de DPPH cercano al 80%, hasta la dilución 4:6.

**Palabras clave:** atomizado, quitosano, ácido gálico, conservación.

## Abstract

The present work establishes the conditions for atomization of chitosan-gallic acid-sorbitol formulations on paper surfaces, considering the distance of atomization, the opening of the atomization peak, and the dilution of the formulation. The results revealed that the distribution of atomized particles of the formulation becomes more uniform as the distance increases. On the other hand, a similar trend was achieved by increasing the opening of the atomizer, covering as much of the surface as possible in a single application. Regarding the dilution results, it is evident that the 0.4 and 0.5 dilutions presented the best values in terms of coverage percentage. Finally, the antioxidant capacity of the atomized surfaces was analyzed by means of the DPPH radical assay, to determine the % inhibition compared to a pristine paper surface, obtaining a % inhibition of between 15-20% for the least diluted mixtures.

**Keywords:** spray, chitosan, gallic acid, conservation.

## Introducción

En la actualidad existen numerosos factores claves que impulsan el crecimiento y el avance en el desarrollo de materiales que se utilizan para el envasado de alimentos (Han, 2014). Uno de estos elementos está relacionado con el impacto ambiental y la contribución de los materiales de envasado a la corriente de residuos reciclables. En este sentido, los residuos de alimentos y bebidas son frecuentemente mucho mayores que las debidas al propio envase, cuando se tiene en cuenta los residuos aportados y las emisiones que participan a lo largo del ciclo de vida del producto alimenticio (Deng et al., 2022). Otro aspecto a considerar es el deseo de extender la vida útil de los alimentos asegurando su buena calidad, el cual cobra aún mayor importancia si tenemos en cuenta el hecho de que la globalización de la industria alimentaria genera desafíos en cuanto a la calidad y el ajuste a su marco regulatorio para la distribución y exportación de alimentos. Teniendo en cuenta este escenario, existe una gran motivación para desarrollar nuevos materiales que permitan extender la vida útil del producto alimenticio y reducir además el impacto ambiental del envase descartado. Para este último punto, los biopolímeros se destacan como un sustrato con características adecuada para su empleo en la industria del embalaje. Se entiende por biopolímeros tanto aquellos que se obtienen de materiales renovables, como aquellos que sean biodegradables y compostables, independientemente de su origen, siendo de particular interés, todos aquellos que cumplan con ambas especificaciones (Murtaja et al., 2022). En este sentido, el polisacárido de quitosano cumple con ambas características y resulta atractivo para el desarrollo de materiales para envasado. Este biopolímero tiene la capacidad de formar películas con propiedades singulares de material barrera, que lo hace apropiado para la producción de recubrimientos de comestibles y para recubrir polímeros con pobres propiedades de barrera (André et al., 2013). Otra propiedad atractiva de este biopolímero para el envasado de alimentos es su actividad antimicrobiana intrínseca (Nguyen et al., 2020). Particularmente, existe una tendencia a comenzar a trabajar con la atomización de formulaciones líquidas poliméricas que permitan obtener películas de recubrimiento de manera directa sobre la superficie del producto alimenticio, generando mejoras su conservación y simplificando los proceso de envasado tradicionales (Jiang et al., 2020; Ma et al., 2022). Considerando lo expresado ut supra este trabajo se enfoca en la determinación de las condiciones operacionales de la atomización de una formulación de quitosano-ácido gálico-sorbitol que permitan la generación de películas sobre la superficie de productos comestibles para su conservación.

## Desarrollo

La mezcla activa utilizada en este estudio presenta capacidad antioxidante y propiedades mecánicas adecuada, y conjuntamente con sus diluciones fueron las formulaciones evaluadas en este trabajo. La misma es resultado de un trabajo previo (Raspo et al., 2018), y se constituye de 1% p/p de ácido gálico (0,1 mL) como principio bioactivo, 3,62

% p/p de sorbitol (0,362 mL) como plastificante y al 1% p/p de solución de quitosano (9,538 mL) como matriz polimérica soporte.

Para determinar las condiciones operacionales del atomizado se realizaron ensayos de atomización sobre superficies de papel de 155,9 cm<sup>2</sup> y 180 g/m<sup>2</sup> de gramaje, evaluando el diámetro del pico del atomizador, la distancia de atomización y la concentración de la formulación. En relación con el diámetro del pico utilizado se estudiaron tres medidas, el de apertura chica, mediana y grande. La distancia de atomización evaluada, definida a partir de la separación entre el pico del atomizador y la superficie del papel, sobre la cual se realizaron las determinaciones fueron 15, 20 y 30 cm.

El ensayo de inhibición de DDPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) con algunas modificaciones fue utilizado para evaluar la actividad de eliminación de radicales libres por parte del papel atomizado con la formulación (Muratore et al., 2018). Muestras de papel atomizado y papel prístino (155,92 cm<sup>2</sup>) se colocaron en viales junto con ¿? mL de solución metanólica de DPPH (0,050 g/L), y se las dejó reaccionar protegidas de la luz a temperatura ambiente durante 30 min, 60 min y 120 min. Posteriormente, se determinó la absorbancia del sobrenadante a 517nm mediante el uso de un espectrofotómetro UV/visible. La actividad antioxidante del papel con la formulación se expresó como inhibición de DPPH (% I), calculado a partir de la siguiente ecuación:

$$\%I = \frac{A_{control} - A_{muestra}}{A_{control}} \times 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

donde A<sub>control</sub> y A<sub>muestra</sub> son los valores de absorbancia a 517 nm de la solución control sin estar en contacto con el papel y la del sobrenadante después de un tiempo de contacto con el papel atomizado, respectivamente. Además, se determinó el área de atomizado a partir de la utilización del software ImageJ 1.53q.

En primera instancia, se evaluaron dos distancias de atomización (15 y 20 cm) de la formulación sin diluir utilizando los tres picos. La Figura 1 muestra que la atomización de la formulación resultó mejor a una distancia de 20 cm, para los tres picos utilizados, obteniendo una mayor dispersión de gotas sobre el papel, evitando la concentración de estas en un punto como multicapas. Este aspecto resulta central en términos de la homogeneización de la distribución de mono gotas con un diámetro uniforme sobre la superficie del papel con el objeto de alcanzar el grado de recubrimiento (Φ) mínimo necesario para obtener una superficie activa, lo cual resulta de interés puesto que se pretende alcanzar un desempeño de atomización que sea el más apropiado posible en relación con el grado de recubrimiento y a su procesabilidad.

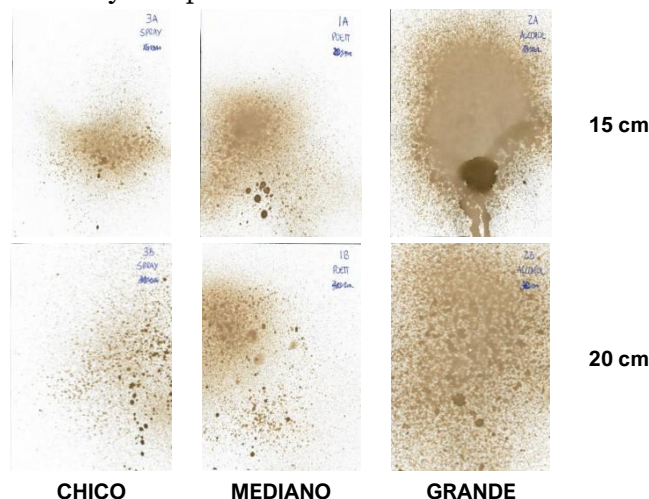


Figura 1. Análisis de la utilización de diferentes diámetros de pico (columnas) y distancias (filas) de atomización para la formulación inicial.

Posteriormente, se evaluó la disminución de viscosidad del sistema al diluir la mezcla activa inicial (Tabla 1) y su efecto en la dispersión de las gotas.

Tabla 1. Composición de diluciones de atomizado.

Relación	Mezcla de reacción (g)	Agua (g)
10:0	10	0
9:1	9	1
8:2	8	2
7:3	7	3
6:4	6	4
5:5	5	5
4:6	4	6
3:7	3	7
2:8	2	8
1:9	1	9

La Figura 2 muestra el grado de atomización alcanzado por las formulaciones a distancias de 20 y 30 cm, cuando se utilizó el pico del atomizador con mayor diámetro.

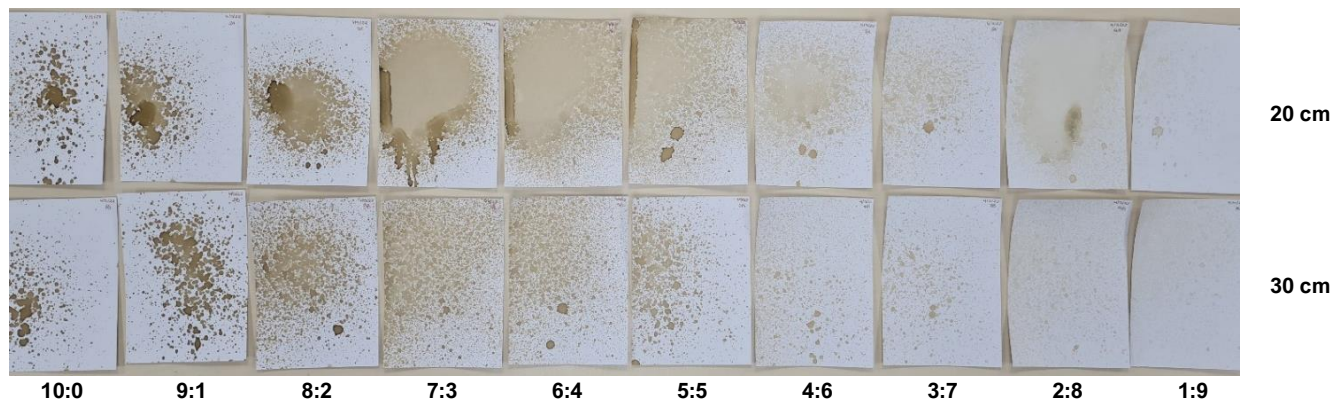


Figura 2. Análisis de la utilización de diferentes diluciones (columnas) y distancias (filas) de atomizado.

Se puede observar que la dispersión de las gotas sobre el papel aumenta con la dilución de la mezcla activa inicial, así como de la distancia de atomizado. Las formulaciones más concentradas generan gotas grandes que se superponen en la superficie del papel (multicapa), mientras que las más diluidas producen gotas muy pequeñas y con un espaciado exagerado con un bajo grado de recubrimiento. En base a este escenario, las diluciones 7:3 y 6:4 atomizadas a una distancia de 30 cm son las formulaciones que presentan una distribución más homogénea y con un recubrimiento adecuado.

Por último, se realizaron ensayos de bioactividad a los papeles previamente atomizados a una distancia de 30 cm para determinar en este caso la capacidad antioxidante de los mismos a partir del ensayo de reducción del radical DPPH.

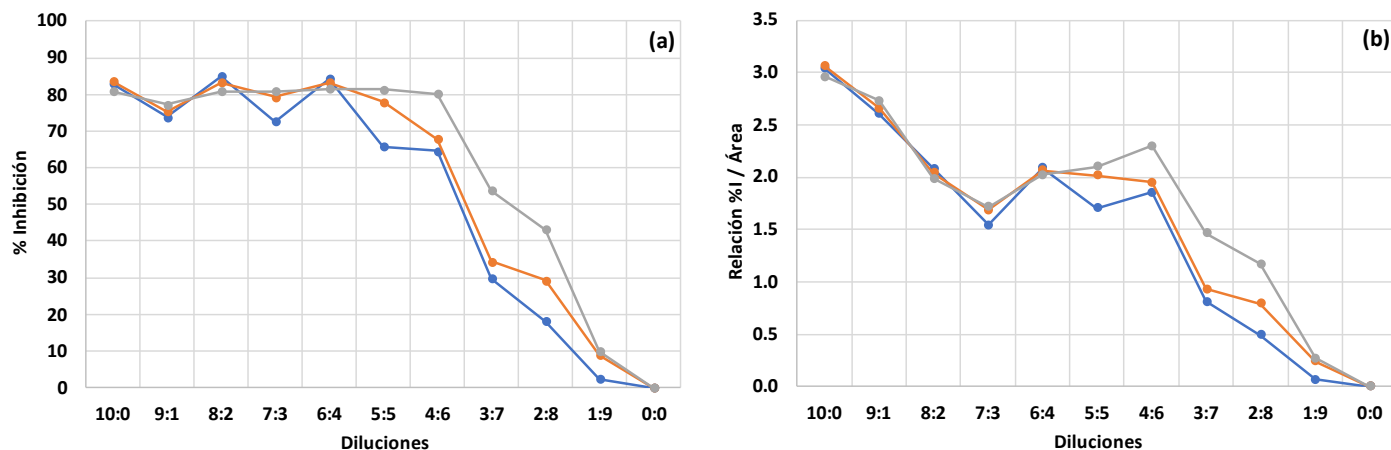


Figura 3. (a) Influencia de la dilución sobre % de Inhibición del radical DPPH y (b) Influencia de la dilución sobre % de Inhibición del radical DPPH por unidad de Área de adsorción, según medición de absorbancia del ensayo DPPH a los 30 min (●), 60 min (●), y 120 min (●).

La Figura 3.a muestra que la inhibición de DPPH se encuentra en el orden del 80 % desde la formulación inicial hasta la dilución 4:6, a partir de la cual este parámetro disminuye con la concentración de las formulaciones hasta no contar con inhibición como se observa para el caso del papel prístino (0:0). Además, se evidencia que las determinaciones espectrofotométricas a 120 minutos revelaron un perfil de curva de inhibición suavizada respecto a los otros tiempos de contacto, lo cual sugiere que es el tiempo mínimo necesario para que se consuma el total de polifenoles. Al analizar la relación entre la inhibición de DPPH y el área de atomizado se observar que el valor máximo se encuentra para la formulación sin diluir y decrece junto con el grado de dilución (Figura 3.b). Esta tendencia es consistente con el hecho de que la cantidad de compuesto bioactivo va disminuyendo a partir del aumento de la dilución.

## Conclusiones

La formulación de quitosano, ácido gálico y sorbitol presentó características fisicoquímicas adecuadas para llevar a cabo su atomización sobre la superficie de papel. Se observa que la atomización a una distancia de 30 cm con un pico de atomizador de apertura grande permite obtener una dispersión de gotas con un grado de homogeneidad adecuado utilizando diluciones en el rango de 7:3 a 4:6. A pesar de que la concentración de la formulación decrece, la capacidad antioxidante se mantiene en 80% hasta una dilución 4:6, el cual es un nivel aceptable. A futuro se postula evaluar el atomizado de estas formulaciones sobre cítricos, para analizar el impacto del recubrimiento sobre el tiempo de vida de la fruta.

## Referencias

André, C., Castanheira, I., Cruz, J. M., Paseiro, P., Sanches-Silva, A., Anthierens, T., Ragaert, P., Verbrugghe, S., Ouchchen, A., De Geest, B. G., Nosedá, B., Mertens, J., Beladjal, L., De Cuyper, D., Dierickx, W., Du Prez, F., Devlieghere, F., Apak, R., Gorinstein, S., ... Dutta, P. K. (2013). Application of active zein-based films with controlled release properties to control *Listeria monocytogenes* growth and lipid oxidation in fresh Kashar cheese. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 20(1), 208–214. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.08.004>

Deng, Y., Chen, X., Adam, N. G. T. S., & Xu, J. (2022). A multi-objective optimization approach for clean treatment of food waste from an economic-environmental-social perspective: A case study from



- China. *Journal of Cleaner Production*, 357, 131559. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2022.131559>
- Han, J. H. (2014). Edible Films and Coatings. In *Innovations in Food Packaging*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394601-0.00009-6>
- Jiang, Y., Yu, L., Hu, Y., Zhu, Z., Zhuang, C., Zhao, Y., & Zhong, Y. (2020). The preservation performance of chitosan coating with different molecular weight on strawberry using electrostatic spraying technique. *International Journal of Biological Macromolecules*, 151, 278–285. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2020.02.169>
- Ma, Y., Xu, J., Jiang, S., & Zeng, M. (2022). Effect of chitosan coating on the properties of nanoliposomes loaded with oyster protein hydrolysates: Stability during spray-drying and freeze-drying. *Food Chemistry*, 385, 132603. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2022.132603>
- Muratore, F., Martini, R. E., & Barbosa, S. E. (2018). Bioactive paper by eugenol grafting onto cellulose. Effect of reaction variables. *Food Packaging and Shelf Life*, 15, 159–168. <https://doi.org/10.1016/J.FPSL.2017.12.010>
- Murtaja, Y., Lapčík, L., Lapčíková, B., Gautam, S., Vašina, M., Spanhel, L., & Vlček, J. (2022). Intelligent high-tech coating of natural biopolymer layers. *Advances in Colloid and Interface Science*, 304, 102681. <https://doi.org/10.1016/J.CIS.2022.102681>
- Nguyen, T. T., Thi Dao, U. T., Thi Bui, Q. P., Bach, G. L., Ha Thuc, C. N., & Ha Thuc, H. (2020). Enhanced antimicrobial activities and physiochemical properties of edible film based on chitosan incorporated with *Sonneratia caseolaris* (L.) Engl. leaf extract. *Progress in Organic Coatings*, 140(December 2019), 105487. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2019.105487>
- Raspo, M. A., Gomez, C. G., & Andreatta, A. E. (2018). Optimization of antioxidant, mechanical and chemical physical properties of chitosan-sorbitol-gallic acid films by response surface methodology. *Polymer Testing*, 70. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2018.07.003>