

# Bionanocompuestos de quitosano-óxido de grafeno: una alternativa novedosa para la conservación de alimentos

## Bionanocomposites: a novel alternative for food preservation

Recibido: 28- 12 - 2015 Aceptado: 30-05-2016

Carlos David Grande T.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Colombiano, Programa de Ingeniería Agroindustrial, Universidad de San Buenaventura, Cali, Colombia. Correo electrónico: cdgrantovar@usbcali.edu.co

### Resumen

Los bionanocompuestos son una alternativa emergente de una nueva era de materiales con excelentes propiedades mecánicas, térmicas, de permeabilidad a gases y a la humedad, pero sobre todo, biodegradables y biocompatibles. En la presente investigación se estudió la síntesis de empaques a partir de nanocompuestos de óxido de grafeno-quitosano (CF-GO) y su potencial aplicación en la industria de empaques de alimentos. Los nanocompuestos se prepararon por una reacción térmica de entrecruzamiento entre el quitosano y el óxido de grafeno a 120°C. Las propiedades mecánicas de las láminas obtenidas se estudiaron, de donde se pudo observar que la resistencia mecánica se incrementó desde  $22,7 \pm 1,2$  hasta  $6471,6 \pm 1775,5$  MPa cuando se adicionó 0.1% de GO a las láminas. De igual forma, el incremento en la estabilidad de los empaques se evidenció con el aumento en la estabilidad térmica, evidenciada en el aumento gradual de la temperatura de transición vítrea (T<sub>g</sub>) con el aumento de GO. Por último, las propiedades antimicrobianas de las láminas fueron evaluadas contra *E. coli* K-12 MG 1655 (Gram-negativa) y *B. subtilis* 102 (Gram-positiva). La lámina CF-GO con 0,6% presentó la mayor inhibición contra *E. coli* y *B. subtilis*, con 22,86% y 54,93% de inhibición, respectivamente. De esta manera, la incorporación de GO dentro de las láminas aumentó significativamente la estabilidad térmica y mecánica y adicionó propiedades antimicrobianas, lo cual hace que la aplicación de estas láminas en la conservación de alimentos tenga gran proyección en la industria alimentaria.

**Palabras clave:** nanocompuestos, permeabilidad de gases, propiedades antimicrobianas.

## Abstract

The bionanocomposites are an emerging alternative to a new era of materials with excellent mechanical properties, thermal, gas permeability and moisture, but above all, biodegradable and bio compatible. In this research, packaging synthesis was studied from graphene chitosan (CF-GO) oxide nanocomposites and its potential application in the food packaging industry. Nanocomposites were prepared by a thermal cross linking reaction between chitosan and graphene oxide at 120 ° C. The mechanical properties of the films obtained were studied, where it was observed that the mechanical strength increased from 1.2 to  $22.7 \pm 6471.6 \pm 1775.5$  MPa when 0.1% of GO was added to the films. Similarly, the increased stability of the packaging was evidenced by the increase in thermal stability, as evidenced in the gradual increase in glass transition temperature (Tg) with increasing the GO. Finally, the antimicrobial properties of the films were evaluated against *E. coli* K-12 MG 1655 (Gram-negative) and *B. subtilis* 102 (Gram-positive). The CF-GO sheet with 0.6% had the highest inhibition against *E. coli* and *B. subtilis*, with 22.86% and 54.93% inhibition, respectively. Thus, the addition of GO within the films significantly increased the thermal and mechanical stability and added antimicrobial properties, which makes the use of these films in food preservation industry have a great prospect.

**Keywords:** nanocomposites, gas permeability, antimicrobial properties.

## Introducción

Actualmente, muchos materiales empleados para la industria de empaques de alimentos no son biodegradables, lo cual genera una gran cantidad de contaminación por su acumulación en el planeta, afectando así la vida de muchos organismos. Por esa razón, se han empleado biopolímeros que buscan mitigar el problema de la contaminación ambiental y la preservación de los alimentos al mismo tiempo. Sin embargo, los biopolímeros son bien conocidos por sus pobres propiedades mecánicas, de barrera a la humedad y estabilidad térmica, encareciendo los costos de producción y procesamiento (Bharadwaj, 2001; Koh et al., 2008; Pandey et al., 2005; Scott, 2000; Sorrentino, Tortora, & Vittoria, 2006), lo cual se ha intentado resolver utilizando rellenos para generar materiales compuestos. Actualmente, el uso de nanorellenos es un tema de alto interés, pues al reducir las dimensiones del relleno, se maximiza la posibilidad de interacción con la matriz polimérica, mejorando notablemente las propiedades

del material producto de una mayor interacción entre las dos fases (Weiss, Takhistov, & McClements, 2006). Adicionalmente, los nanorellenos pueden proveer propiedades adicionales que no estaban presentes en el material previamente, como propiedades antioxidantes, antimicrobianas, protección a la degradación por parte de la luz ultravioleta, inmovilizadores de enzimas, sensores de degradación, etc., haciéndolos muy atractivos para la industria de los alimentos (Azeredo, 2009; Rhim, Park, & Ha, 2013; Sorrentino et al., 2006; Sorrentino, Gorrasi, & Vittoria, 2007). Dentro de los bionanocompuestos más estudiados para empaques de alimentos se encuentran los derivados de almidón y celulosa, el ácido poliláctico, el polisuccinato de butileno y el polihidroxibutirato. Por otra parte, los nanorellenos más empleados han sido nanoarcillas de sílica tales como la montmorillonita y la kaolinita (Suprakas Sinha Ray & Bousmina, 2005). Un gran reto que permanece aún presente es lograr una excelente dispersión y compatibilidad de los nanorellenos dentro de la fase continua polimérica (Rhim et al., 2013). Los nanocompuestos son mezclas de polímeros con aditivos orgánicos e inorgánicos que tiene al menos una dimensión en la escala nanométrica, con diferentes geometrías (esferas, fibras, partículas), que generan un incremento en el rendimiento de las propiedades mecánicas, de barrera frente a diversos gases y solventes, además de disminuir la densidad, mejorar la transparencia, flujo y la posibilidad de ser reutilizados, brindando grandes ventajas frente a los materiales compuestos o a los polímeros puros (Alexandre & Dubois, 2000; Santos et al., 2012; Giannelis, 1996; S. Sinha Ray & Okamoto, 2003). Por otra parte, las excelentes propiedades físicas, mecánicas, y ópticas de los nanomateriales derivados del grafeno, como el óxido de grafeno, los hace muy atractivos para ser empleados como nanorellenos en nanocompuestos con biopolímeros como el quitosano, para incrementar las propiedades mecánicas, térmicas y de barrera. Adicionalmente, los nanomateriales derivados del grafeno, han demostrado que tienen excelentes propiedades antimicrobianas que serán adicionadas en el nanocompuesto en el que sea introducido (Stankovich et al., 2006).

## Metodología

Todos los reactivos fueron adquiridos de Aldrich, a menos que se diga lo contrario. El óxido de grafeno fue preparado por un método modificado de Hummers como se reportó previamente (Santos et al., 2012). Las películas de quitosano se prepararon de acuerdo con el método reportado por Shao et al. (2013), modificando la temperatura de entrecruzamiento de 100 a 120°C

**Tabla 1.** Propiedades superficiales y mecánicas de las películas de los nanocompuestos

Muestra (% OG)	Ángulo de contacto (°)	Espesor (µm)	Resistencia a la rotura (Mpa)	Elongación (%)	Módulo de Young (Mpa)
0	88,53 ± 2,38 a	48 ± 4,2 b	32,4 ± 6,2 c	8,4 ± 1,2 a	22,7 ± 1,2 b
0,1	91,28 ± 3,39 a	52 ± 6,9 b	52,0 ± 22,4 b	0,9 ± 0,8 b	6471,6 ± 1775,5 a
0,25	89,58 ± 2,24 a	54 ± 4,8 a,b	69,6 ± 15,9 a	1,5 ± 1,9 b	6879,0 ± 2011,7 a
0,4	91,84 ± 3,97 a	59 ± 4,9 a	62,7 ± 21,2 a	3,0 ± 2,2 b	5936,3 ± 1112,8 a
0,6	93,43 ± 1,94 a	65 ± 9,4 a	43,2 ± 14,8 a	0,9 ± 0,3 b	5843,7 ± 1485,0 a

Fuente. los autores.

únicamente, y adicionando la cantidad necesaria de óxido de grafeno para completar concentraciones de 0,1, 0,25, 0,4 y 0,6% (p/p) respecto al quitosano. La caracterización se llevó a cabo por espectroscopía de infrarrojo (datos sin publicar) (espectrómetro Agilent Cary 680 FTIR) y se determinaron las propiedades mecánicas con un analizador mecánico (Shimadzu EZ-LX, Japan), bajo la norma ASTM D882-12. Finalmente, las propiedades antimicrobianas fueron determinadas con ayuda de un microscopio de fluorescencia, mediante el método de conteo de células vivas y muertas (Santos et al., 2012). El espesor de las películas fue determinado usando un micrómetro digital Mitutoyo Digimatic. Las propiedades superficiales fueron determinadas por medio de la técnica de ángulo de contacto acuoso estático (KSV CAM 200 instrument, KSV Ltd.).

**Tabla 2.** Porcentaje de inactivación de *E.coli* y *B. subtilis* con películas del nanocompuesto de CF-GO

Muestra(% GO)	Porcentaje de inactivación (%)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
0	1,04 ± 1,61 d	1,25 ± 1,42 d
0,1	3,09 ± 2,98 d	N.D.
0,25	7,09 ± 2,73 c	7,51 ± 2,54 c
0,4	12,21 ± 4,6 b	22,69 ± 7,93 b
0,6	22,83 ± 4,48 a	54,93 ± 13,35 a

Fuente. los autores.

ve en el aumento de la resistencia a la rotura de 32,4 ± 6,2 a 52,0 ± 22,4 MPa entre el quitosano sin GO y el quitosano con 0.1% de GO, aunque también se observa una disminución considerable en la elongación del material.

Los datos presentados son el promedio de seis análisis con su respectiva desviación estándar. Los promedios de los análisis fueron comparados por medio de un Test de Duncan. Los valores con distintas letras en una misma columna son significativamente diferentes ( $\alpha$ : 0,05).

La actividad antimicrobiana de las películas de quitosano/óxido de grafeno se determina con el análisis de imágenes de células vivas y muertas con microscopio de fluorescencia frente a cepas de bacterias de *E. coli* y *B. subtilis*. Como se observa en la Tabla 2, se obtuvieron porcentajes de inactivación más altos a medida que se incrementó la cantidad de óxido de grafeno en las películas del nanocompuesto CF-GO (0,4 y 0,6%). Las inactivaciones más altas se obtuvieron con CF-GO (0,6%) *E. coli* (22,83%) y *B. subtilis* (54,93%).

Los datos presentados son el promedio de dieciocho análisis con su respectiva desviación estándar. Los promedios de los análisis fueron comparados por medio de un Test de Duncan. Los valores con distintas letras en una misma columna son significativamente diferentes ( $\alpha$ : 0,05).

## Resultados

La efectiva dispersión del nanorelleno en la matriz polimérica y la homogeneidad del material se pueden evidenciar en los resultados de las pruebas mecánicas realizadas, el espesor y el ángulo de contacto, pues se observa que la matriz sigue conservando su carácter hidrofóbico a pesar de la presencia del GO, lo cual se explica por los enlaces covalentes hidrofóbicos que se forman entre los grupos epóxido del GO y los grupos amino libre del quitosano, los cuales, además, refuerzan el material como se

## Conclusiones

En este trabajo se prepararon efectivamente películas del nanocompuesto de quitosano/óxido de grafeno, cuyas propiedades mecánicas y estabilidad térmica fueron mucho más elevadas que el quitosano sin nanorelleno. Los resultados del análisis de la resistencia a la rotura muestran un incremento elevado con la introducción de GO, aunque con un sacrificio en la elasticidad del material, lo cual es un reflejo de una excelente dispersión e interacción del

nanorelleno con la matriz polimérica en el nanocompuesto. Por otra parte, los análisis antimicrobianos del material demuestran que posee excelente capacidad de inhibición frente a cepas de *E. coli* y *B. subtilis*, siendo esta inhibición dependiente de la cantidad de óxido de grafeno presente en la película. En trabajos futuros se explorará el mecanismo de inhibición microbiana del material y sus propiedades de barrera, con el fin de confirmar su aplicabilidad en la industria de empaques de alimentos.

## Referencias bibliográficas

- Alexandre, Michael, & Dubois, Philippe. (2000). Polymer-layered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 28(1-2), 1-63.
- Azeredo, Henriette M. C. de. (2009). Nanocomposites for food packaging applications. *Food Research International*, 42(9), 1240-1253.
- Bharadwaj, R. K. (2001). Modeling the barrier properties of polymer-layered silicate nanocomposites. *Macromolecules*, 34(26), 9189-9192.
- Giannelis, E. P. (1996). Polymer layered silicate nanocomposites. *Advanced Materials*, 8(1), 29-35.
- Koh, H. C., Park, J. S., Jeong, M. A., Hwang, H. Y., Hong, Y. T., Ha, S. Y., & Nam, S. Y. (2008). Preparation and gas permeation properties of biodegradable polymer/layered silicate nanocomposite membranes. *Desalination*, 233(1-3), 201-209.
- Pandey, J., Kumar, P., Misra, M., Mohanty, A., Drzal, L., & Pal Singh, R. (2005). Recent Advances in Biodegradable Nanocomposites. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 5(4), 497-526.
- Rhim, Jong-Wan, Park, Hwan-Man, & Ha, Chang-Sik. (2013). Bio-nanocomposites for food packaging applications. *Progress in Polymer Science*, 38(10-11), 1629-1652.
- Santos, C., Mangadlao, J., Ahmed, F., Leon, A., Advincula, R., & Rodrigues, D. (2012). Graphene nanocomposite for biomedical applications: fabrication, antimicrobial and cytotoxic investigations. *Nanotechnology*, 23(39), 395101.
- Scott, G. (2000). 'Green' polymers. *Polymer Degradation and Stability*, 68(1), 1-7.
- Shao, Lu, Chang, Xiaojing, Zhang, Yongling, Huang, Yifeng, Yao, Yuhuan, & Guo, Zhanhu. (2013). Graphene oxide cross-linked chitosan nanocomposite membrane. *Applied Surface Science*, 280, 989-992.
- Sinha Ray, S., & Okamoto, M. (2003). Polymer/layered silicate nanocomposites: A review from preparation to processing. *Progress in Polymer Science (Oxford)*, 28(11), 1539-1641.
- Sinha Ray, S., & Bousmina, M. (2005). Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: In greening the 21st century materials world. *Progress in Materials Science*, 50(8), 962-1079.
- Sorrentino, A., Tortora, M., & Vittoria, V. (2006). Diffusion behavior in polymer-clay nanocomposites. *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics*, 44(2), 265-274.
- Sorrentino, A., Gorrasi, G., & Vittoria, V., (2007). Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. *Trends in Food Science & Technology*, 18(2), 84-95.
- Stankovich, S., Dikin, D. A., Dommett, G. H. B., Kohlhaas, K. M., Zimney, Eric J., Stach, Eric A., . . . Ruoff, R. S. (2006). Graphene-based composite materials. *Nature*, 442(7100), 282-286.
- Weiss, J., Takhistov, P., & McClements, D. Julian. (2006). Functional Materials in Food Nanotechnology. *Journal of Food Science*, 71(9), R107-R116.
- Zuo, Ping-Ping, Feng, Hua-Feng, Xu, Zhi-Zhen, Zhang, Ling-Fan, Zhang, Yu-Long, Xia, Wei, & Zhang, Wen-Qing. (2013). Fabrication of biocompatible and mechanically reinforced graphene oxide-chitosan nanocomposite films. *Chem Cent J*, 7(1), 39-39.