

Productos naturales

Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana

Parámetros quimicofísicos de la carboximetilquitosana

Patricia Pérez Ramos,¹ Sol A. Fernández Monaganas,¹ Ofelia Bilbao Revoredo,² Déborah Fajardo Ledea¹ y Lilliana Mateo López³

Resumen

La caracterización de la carboximetilquitosana sintetizada a partir de quitina obtenida de carapachos de langosta, debe verse desde un punto de vista integral. Los resultados obtenidos mediante diversas técnicas y la realización de ensayos como la determinación de humedad y cenizas, análisis térmico y determinación del porcentaje de grupo amino y carboxilo, así como la difracción de rayos X, permiten realizar una valoración general del producto obtenido, reportes que a su vez enriquecen las bases de datos necesarias para la evolución y desarrollo de las investigaciones científicas a escala mundial. En este trabajo se demuestra que la estabilidad térmica de la carboximetilquitosana sintetizada se extiende hasta los 250 °C aproximadamente, que el compuesto es amorfo, con porcentajes de grupos aminos presentes del $60,1 \pm 3 \%$ y el pKa de 5,9, mientras que para los grupos carboxilos se reporta el $48 \pm 4 \%$ y el pKa de 3,2. La rotación óptica específica presenta un valor de $0,735 \pm 0,007$. Por otra parte, los resultados de la humedad y los residuos de ignición se corresponden con los reportados por la literatura.

Palabras clave: Carboximetilquitosana, análisis térmico, valoración potenciométrica, rotación óptica específica.

La valoración potenciométrica es ampliamente utilizada para caracterizar a los derivados de quitina, debido a la sencillez y reproducibilidad del método.¹⁻⁴ Mediante este método es posible cuantificar los grupos aminos y carboxilos en estas moléculas, información de gran valor desde el punto de vista de la caracterización estructural. *Domard* y otros¹ determinaron el contenido de grupos acetilo de la quitosana con el empleo de esta técnica analítica, mientras que *Tokura* y otros,³ el grado de sustitución de la O-carboximetilquitina por análisis elemental y valoraciones potenciométricas, y encontraron valores entre 0,6 y 0,8 %. Algunos derivados carboximetilados de la quitina y la quitosana obtenidos a partir de materias primas nacionales han sido estudiados con el empleo de las valoraciones potenciométricas. Se determinaron los porcentajes de grupos amino y carboxilo, así como el pK_a y el punto isoeléctrico.

La caracterización de un compuesto debe verse desde un punto de vista integral. Los resultados

obtenidos a través de las diversas técnicas y la realización de ensayos como el análisis termogravimétrico, la pérdida por desecación, los residuos de ignición y la determinación polarimétrica de la rotación óptica específica, permiten realizar una valoración general del producto sintetizado, reportes que a su vez enriquecen las bases de datos necesarias para la evolución y desarrollo de las investigaciones científicas a escala mundial. El método de difracción de rayos X es un método rápido y relativamente simple, además de no destructivo, que permite establecer, entre muchas posibilidades, si el material presenta cristalinidad suficiente como para realizar un análisis estructural o, por el contrario, demostrar su carácter amorfo o vítreo.

Métodos

Para la realización del trabajo se utilizó quitina procedente de carapachos de langosta (*Panulirus argus*), suministrada por la Empresa Laboratorios “Mario Muñoz” de la Industria Química Médico-Farmacéutica (QUIMEFA); disolución de hidróxido de sodio al 50 % (m/m) y ácido monocloroacético (puro para análisis). Los solventes empleados fueron agua y solución de NaCl 0,1 mol/L.

En la determinación del porcentaje de grupos carboxilo y grupos amino, se empleó la técnica de valoración potenciométrica. Para ello, se tomaron 0,5 g de muestra, los cuales se disuelven en 50 mL de HCl 0,1 mol/L (también 0,1 mol/L en NaCl) y se valoran con NaOH 1 mol/L (0,1 mol/L en NaCl), mediante un medidor de pH Metrohm E 510. La temperatura media de trabajo fue de 30 °C.

Cada valoración fue realizada 3 veces y los resultados que se reportan son el promedio de estas.

A través de las curvas de $\Delta\text{pH}/\Delta V$ vs volumen de NaOH, se determinaron los puntos de equivalencia que se corresponden con los puntos de inflexión de las curvas de pH vs volumen de NaOH.⁵

Los valores de pKa se calcularon mediante la ecuación de Henderson-Hasselbach:

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log \text{Cs/Ca}$$

donde:

Cs: concentración de la forma ionizada

Ca: concentración de la forma no ionizada

ya que cuando Cs= Ca, pH= pKa.

Para las carboximetilquitosanas se calculó el pH del punto isoeléctrico como:

$$\text{pKa}_1 + \text{pKa}_2$$

donde:

$pK_{a1} = pK_a$ para el grupo carboxilo

$pK_{a2} = pK_a$ para el grupo amino

El análisis termogravimétrico para determinar la estabilidad térmica de la muestra, fue realizado en un equipo Mettler TA 3000. Se utilizó una termobalanza TG 50 Mettler, acoplada a un integrador TC10 A, con un portamuestras de alúmina de 80 μL , incrementándose la temperatura desde 35 hasta 450 $^{\circ}\text{C}$, con una velocidad de calentamiento de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$. La atmósfera empleada fue aire.

El ensayo de pérdida por desecación se efectuó como se reporta en la literatura:⁶ en un pesafiltros previamente secado por 30 min y pesado, bajo las mismas condiciones en que se efectúa la determinación, se coloca la muestra, se tapa y se pesa. Se agita para distribuir el contenido lo más uniformemente posible y se coloca en la estufa u horno de desecación a 105 $^{\circ}\text{C}$ durante 1 h. Posteriormente se tapa y se pasa a una desecadora hasta que alcance la temperatura ambiente, antes de ser pesado. Para determinar el contenido de humedad de la muestra, se utiliza la expresión siguiente:

$$\% \text{ humedad} = \frac{m(\text{húmeda}) - m(\text{seca})}{m(\text{húmeda})} \times 100$$

Para determinar los residuos de ignición, se transfiere en un crisol tarado, aproximadamente una cantidad exactamente pesada, de la sustancia en estudio. Se calcina el crisol con la muestra sin tapar, y posteriormente se tapa cuando se alcanza la temperatura adecuada. El proceso fue repetido en períodos sucesivos de 1 h hasta que al concluir cada calcinación se obtenga peso constante, previo enfriamiento hasta temperatura ambiente en una desecadora.⁶

El porcentaje de residuos se calculó, según la expresión siguiente:

$$\# \% = \frac{\text{Peso(Total)} - \text{Peso(final)}}{\text{peso(muestra)}} \times 100$$

$100 - \# \% = \% \text{ cenizas}$

La rotación óptica específica se midió en un equipo Laserpol 101M, con cubetas 0,5 dm, a una temperatura de 23 $^{\circ}\text{C}$ y longitud de onda de 632,8 nm. La concentración de carboximetilquitosana empleada fue de 0,03 g/mL.

Para calcular el ángulo de rotación específica se utilizó la ecuación de Biot:⁶

$$[\alpha]_{\lambda}^T = \frac{\alpha \times 100}{L \times C}$$

donde:

$[\alpha]_{\lambda}^T$: rotación óptica específica a una temperatura y longitud de onda dada

α : rotación angular de la muestra medida en el polarímetro

L: longitud del paso óptico (dm)

C: concentración (g/L)

La difracción de rayos X se efectuó mediante radiación $K\alpha$ del Co ($1,79026 \text{ \AA}$) filtrada con Fe, en un goniómetro HZG4 equipado con un generador ENRAF NONIUS DIFFRACTIS 582.

Resultados

En la figura 1 (a) se muestra la gráfica de la variación de pH en función del volumen de agente valorante y en la 1 (b) los resultados de la primera derivada.

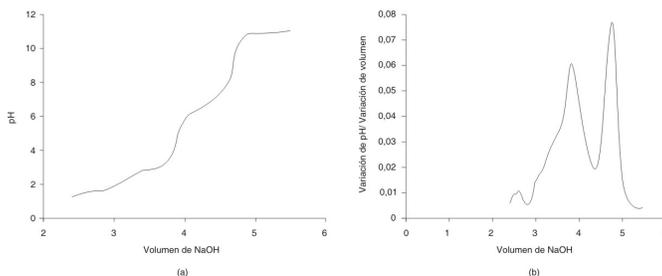


FIG. 1. Resultados de la valoración potenciométrica.

El porcentaje de grupos aminos presentes se estableció a partir de las gráficas de pH contra volumen presentadas anteriormente; el valor obtenido es de $60,1 \pm 3 \%$. Para la determinación del porcentaje de grupos carboxilos se procedió según la misma metodología y el valor obtenido fue de $48 \pm 4 \%$.

Los valores de pH determinados de los puntos de inflexión de la curva son 6,1 y 10,5, los cuales pueden ser atribuidos a la valoración de los grupos carboxilos y aminos, respectivamente. Los valores calculados de pKa para el grupo amino fue de 5,9 y el del grupo carboxilo de 3,2. El punto isoeléctrico calculado fue de cuatro.⁷

En la figura 2 se muestra el resultado del análisis termogravimético, registrado entre la temperatura ambiente y $450 \text{ }^\circ\text{C}$ a varias velocidades de calentamiento. Esta curva demuestra que la estabilidad térmica de la carboximetilquitosana sintetizada se extiende hasta los $250 \text{ }^\circ\text{C}$ aproximadamente.

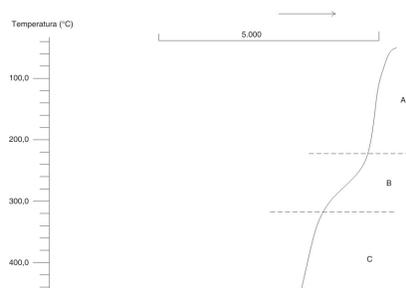


FIG. 2. Resultados del ATD para la carboximetilquitosana.

La pérdida de peso registrada en el sector del termograma de más pronunciada caída (sector b) indica que el material comienza a perder masa y que la pérdida total durante el calentamiento hasta la temperatura máxima del programa predeterminado consistió en 77,5 %.

Los valores del residuo de ignición y la pérdida por desecación obtenidos en este trabajo, no exceden del 0,5 y el 10 % respectivamente. La rotación óptica específica promedio de este análisis para la carboximetilquitosana fue de $0,735 \pm 0,007$. El difractograma en el análisis de la carboximetilquitosana sintetizada, se muestra en la figura 3, y del cual se puede concluir que el compuesto es amorfo.

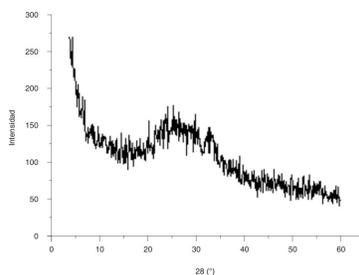


FIG. 3. Diagrama de la carboximetilquitosana.

Discusión

A partir de la figura 1, se puede realizar una comparación de las carboximetilquitosanas obtenidas en este trabajo con las sintetizadas por *Muzzarelli*, quien se basó en el método de *Park* y otros, 1986.⁷ Se observa un comportamiento similar en cuanto a los porcentajes de grupos aminos y carboxilos presentes en esta molécula, así como para el valor del punto isoeléctrico reportado por este investigador, el cual fue de 4,9. Sin embargo, los valores de pKa fueron ligeramente inferiores con respecto a los obtenidos por *Muzzarelli*, de 7,0 para el grupo amino y de 3,8 para el carboxilo, donde este último presenta un valor mucho menor que el calculado para el ácido glicólico y cuya diferencia se atribuye a la atracción electrostática intramolecular entre los grupos carboxilatos y amonio (Nieto O. M. Quitina: su estudio y utilización como fármaco acelerador de la cicatrización. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Farmacéuticas. Universidad de la Habana. 1993).

A partir de la f.igura 2, que representa la curva termogravimétrica de la carboximetilquitosana estudiada, se puede concluir que no hubo pérdidas de humedad o salida de solventes a diferencia de otros trabajos

reportados (Nieto OM. Obra citada).

Este resultado pudiera estar relacionado con el hecho de que el producto fue liofilizado, aspecto novedoso en la técnica empleada.

Al analizar la caída en el sector b, pudiese decirse que estos datos resultan de interés para enfrentar los cálculos de cualquier tecnología que involucre a este material si se sintetiza por las vías recomendadas en el presente trabajo, en particular, se debe tener en cuenta la ausencia de humedad.

Considerando estos resultados, se puede concluir que la carboximetilquitosana obtenida es un compuesto bastante estable térmicamente, ya que su descomposición comienza a 250 °C, aunque resulta menos estable que la quitina (Nieto OM. Obra citada.), pues en el proceso de obtención del derivado son debilitados los enlaces de hidrógeno intercatenarios e intracatenarios, causantes de la alta estabilidad e insolubilidad de la quitina.

Los residuos de ignición y la pérdida por desecación, no exceden lo establecido por la literatura.

Según reportes de la literatura la quitina y la quitosana presentan estructura con cierta cristalinidad,⁴ incluso se plantea que el grado de cristalinidad puede variar en función del tratamiento químico, físico y mecánico que se le realice a las muestras. Sin embargo, se plantea también que las diferencias que se observan en las propiedades físico-químicas en general en estos derivados pueden estar relacionadas con la ruptura de las cadenas, la hidrólisis de los grupos acetamido, los cambios de cristalinidad y conformación y otros factores.¹ Otros reportes plantean que algunos derivados carboxilados de la quitosana presentan comportamiento amorfo, como es el caso de la N-carboxibutilquitosana.

El resultado experimental mostró la baja cristalinidad de la carboximetilquitosana obtenida y el "máximo" de difracción que se observa muy confusamente a 26 ° (2 theta) solo se puede relacionar con la distancia de enlace más frecuentemente presente en el producto, como corresponde al análisis de los materiales amorfos y a los líquidos.

Desde el punto de vista farmacéutico, este resultado implica un incremento de su solubilidad en agua, con una mayor inestabilidad en relación con su grado de orden, que permite su utilización en estado sólido o en preparaciones líquidas homogéneas, las cuales poseen una elevada estabilidad termodinámica.

En conclusión, se realizó la determinación del porcentaje de grupos aminos y carboxilos de este biopolímero mediante métodos potenciométricos; se determinó el polimorfismo del compuesto el cual resultó amorfo; se demostró mediante un estudio termogravimétrico su considerable estabilidad térmica, aunque inferior a la quitina; y se determinaron otros parámetros químico-físicos de interés como la pérdida por desecación, la rotación óptica específica y los residuos de ignición, los cuales contribuyeron a la caracterización analítica del compuesto.

Summary

Chemophysical parameters of carboxymethylchitosan

The characterization of carboxymethylchitosan synthesized starting from chitin obtained from lobster shells, should be seen from an integral view. The results obtained by using different techniques and the making of tests, such as the determination of humidity and ashes, thermal analysis and the determination of the percentage of amino and carboxyl group, as well as the diffraction of X-rays, allow to have a general assessment of the obtained product. These reports improve the databases necessary for the evolution and development of scientific research at the world level. It is proved in this paper that the thermal stability of carboxymethylchitosan synthesized extends to approximately 250°C, that the compound is amorphous, with percentages of present amino groups of $60.1 \pm 3 \%$ and pKa of 5.9, whereas for the carboxyl groups $48 \pm 4 \%$ and pKa of 3.2, are reported. The specific optical rotation has an approximate value of $0,735 \pm 0,007$. . On the other side, the results of humidity and the ignition residuals correspond to the reported in literature.

Key words: Carboxymethylchitosan, thermal analysis, potentiometric assessment, specific optical rotation.

Referencias Bibliográficas

1. Domard A, Gadille A. Preparation and characterization of N-acetylglucosamine oligomers by hydrofluoric acid hydrolysis conformational studies. Chitin in Nature and Technology. New York: Plenum Press; 1986. p. 295-7.
2. Muzzarelli RAA . The production of chitosan of superior quality. J Appl Biochem. 1981;3:316-21.
3. Tocura S. Carboxymethylated chitin and chitosans. Carbohydr Polimers. 1988;8:1-21.
4. Lang G. Chitosan derivatives: water soluble products by reaction with epoxides. New York: Plenum Press; 1986. p. 303-6.
5. Hayes ER. Characterization of chitosan II. En: Muzzarelli RAA, Pariser ER (eds). The determination of the degree of acetylation of chitosan and chitin. Proc. of the First Int. Conf. on Chitin/Chitosan. New York: Plenum Press; 1978. p. 406-20.
6. Pharmacopeia of the United States of América, USP-27. Versión Electrónica. Acápite 281, 731.
7. Muzzarelli RAA. Carboxymethylated Chitins and Chitosans. Carbohydr Polymers. 1988;8:1-21.

Recibido: 11 de febrero de 2005. Aprobado: 14 de marzo de 2005.

MC. *Patricia Pérez Ramos*. Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana. San Lázaro y L, El Vedado, municipio Plaza de la Revolución, Ciudad de La Habana, Cuba.

¹ **Master en Ciencias.**

² **Doctora.**

³Licenciada.