

Formación de microestructuras de quitina en CO₂ supercrítico

Salinas Hernández, R.^[a], Ortiz Estrada, C. H.^{[a]*}, Luna Bárcenas, G.^[b]

^[a] Departamento de Ingeniería y Ciencias Químicas, Universidad Iberoamericana, Prolongación Paseo de la Reforma No. 880, Lomas de Santa Fe, C. P. 01219, México, D. F.

^[b] Laboratorio de Investigación en Materiales, CINVESTAV Unidad Querétaro, Querétaro 76230, México
e-mail. ciro.ortiz@uia.mx

1. Resumen

El valor comercial de la quitina (QTN), biomaterial abundante en la naturaleza, se ha incrementado debido a propiedades atractivas de sus derivados solubles que son potencialmente utilizados en la química, biotecnología, agricultura, alimentos, cosméticos y medicina. Hoy en día, se hace necesario producir biomateriales para las aplicaciones antes mencionadas, éstos son requeridos en forma de partículas para incrementar su desempeño, su procesamiento por tecnología supercrítica es una opción que tiene gran relevancia debido a sus ventajas ambientales y a la formación de productos con morfologías únicas, tales como microesferas y fibras libres de solvente.

En este trabajo se estudió la formación de partículas de quitina utilizando el método de RESS (Rapid Expansion of Supercritical Solutions), utilizando dióxido de carbono supercrítico. Se determinó la morfología y estructura del biopolímero a partir de la expansión de una solución homogénea de QTN en Hexafluoroisopropanol (HFIP) y CO₂, utilizando boquillas de 100-500 µm, 40-60°C, 105-205 bar y concentraciones de 1-8 mg/ml, obteniendo partículas esféricas con tamaños de 1-5 µm que depende fuertemente de la concentración y diámetro de boquilla, sin observarse un efecto significativo de la temperatura y presión.

2. Introducción

Los procesos de formación de microestructuras con fluidos supercríticos (FSC) tiene una gran ventaja sobre las técnicas convencionales, las cuales no pueden producir distribuciones de tamaño muy estrechas y controladas de partícula además pueden causar degradación térmica. Las técnicas de micronización con FSC pueden tomar ventajas en propiedades específicas de gases a condiciones supercríticas, como la modulación del poder de solubilización, mayores difusividades, menos solvente o reducción de solvente orgánico en la operación y la posibilidad de controlar el tamaño y distribución de las partículas [1].

Es por ello que el diseño o formación de partículas es presentado como el mayor desarrollo de las aplicaciones de FSC [2], principalmente en la industria farmacéutica, alimenticia, cosmética y química, por medio de la manufactura de partículas, microesferas, microencapsulados u otros materiales dispersos (generalmente microfibras) [3].

Una aplicación potencial del bióxido de carbono supercrítico (CO₂SC) es el procesamiento de biomateriales, y como principal interés en este grupo se encuentra la quitina compuesto biodegradable que debido a su abundancia y grandes ventajas ha emergido como un biopolímero opcional debido a sus potenciales usos en numerosas áreas industriales [4]. La quitina segundo polisacárido más abundante en la Tierra es un homopolímero largo compuesto de unidades ligadas de β (1, 4) N – Acetil glucosamina y posee una combinación de propiedades que hacen atractivas sus aplicaciones [5–9] además se encuentra presente en el exoesqueleto de crustáceos e insectos, también en algunos hongos, las principales fuentes de materia prima es la cutícula de varios crustáceos, principalmente cangrejos y camarones, con producciones anuales aproximadas de 100 mil millones de toneladas. Además de ser bien conocida por sus excelentes características como un polímero de barrera, tiene excelentes propiedades biológicas: biocompatibilidad, biodegradabilidad, no tóxico y propiedades de sorción [10–17].

Las técnicas basadas en los FSC que se han propuesto para la producción de microestructuras de este biopolímero se encuentran fundamentadas de acuerdo a la manera en que los fluidos son empleados, ya que los FSC puede actuar como un *solvente* o *antisolvente*. Las técnicas son: la expansión rápida de soluciones supercríticas (Rapid Expansion of Supercritical Solutions, RESS), y la precipitación de solvente supercrítico (Supercritical Anti – Solvent, SAS) [1, 18].

Se formaron biomateriales microestructurados de quitina utilizando la tecnología supercrítica basada en el método de expansión rápida, RESS, donde una solución de un solvente supercrítico y un soluto es rápidamente expandida a través de un dispositivo de estrangulación, a lo largo de la expansión la densidad del solvente desciende drásticamente causando que el soluto precipite, con esta técnica se estudiaron y determinaron los parámetros termodinámicos necesarios para el conocimiento del fenómeno, el efecto de las variables experimentales que influyen en la morfología y estructura del biomaterial así como su caracterización [19].

3. Condiciones experimentales

Hexafluoroisopropanol (HFIP), adquirido de Sigma Aldrich (> 99% de pureza, México). Bióxido de carbono (CO₂) adquirido de Air Products (99.9 de pureza, grado 3, México) y Quitina de cáscara de cangrejo adquirida de Sigma (Grado práctico) con un grado de acetilación de 96% como se reporta por el proveedor.

La quitina fue mezclada en HFIP para obtener soluciones a diferentes concentraciones y agitada durante 120 h. Después de este periodo casi toda la quitina fue disuelta, excepto una pequeña cantidad, la cual fue filtrada antes de ser usada en el proceso RESS.

Para establecer las condiciones de micronización del biopolímero, primero se determinaron datos de equilibrio para el sistema QTN/HFIP/CO₂SC, preparando soluciones en un rango de concentración de 1 a 6 mg/mL de QTN en HFIP y con un rango en las variables de proceso, para el caso de la temperatura de 313.15 a 333.15 K y presión de 10,339.3 a 20,678.6 kPa. Los datos de equilibrio se obtuvieron mediante la medición de la presión del punto de nube. En la Figura 3.1 se muestra un diagrama esquemático.

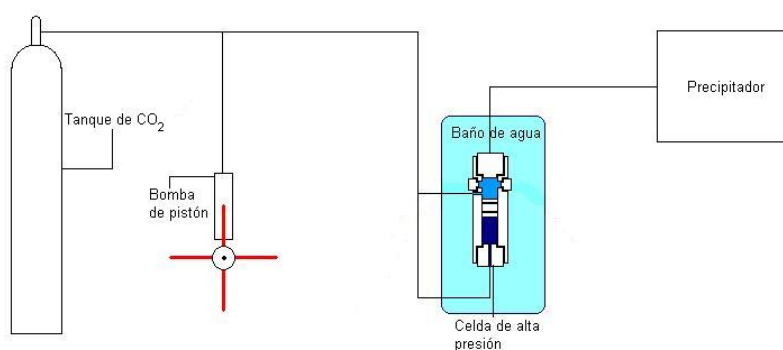


Figura 3.1. Diagrama esquemático para la producción de microestructuras de quitina con la técnica RESS.

El equipo consiste de una celda de alta presión la cual actúa como sistema de solubilización donde se carga la solución de QTN/HFIP a la concentración dada y posteriormente es añadido el CO₂ líquido; un control semiautomático de temperatura que consiste de un contenedor de acrílico, en el cual se encuentra sumergida la celda de alta presión en el sistema refrigerante (agua) y un termo-circulador (Cole-Parmer, mod. 12112-01) provisto con un termostato; un control manual de presión mediante un pistón generador de alta presión (HIP, modelo 62-6-10), y un transductor (Sensotec, mod. TJF/7039-03) los cuales son necesarios para el ajuste de las condiciones de preexpansión, a esas condiciones de P y T dadas se mantiene la solución de QTN/HFIP/CO₂SC homogénea durante todo el proceso de solubilización y finalmente un sistema de recolección de partículas o precipitador, en la cual la solución atraviesa de la celda al precipitador por medio de una válvula que contiene un dispositivo de estrangulamiento.

Las condiciones estudiadas son: 313.15–333.15 K, 10,339.3–20,678.6 kPa, 1–6 mg/mL de la solución de QTN/HFIP y 0.1–0.5 mm de diámetro de boquilla de expansión.

4. Resultados y discusión

Los resultados experimentales se resumen en la tabla 4.1. Las características y las estructuras de las partículas están influenciadas por diferentes factores.

Tabla 4.1. Resultados de pruebas de la técnica RESS para QTN.

Conc. (mg/mL)	Temp. (°C)	Presión (Psi)	Ø _{Boquilla} (mm)	Tamaño aproximado y morfología
1	40	3,000	100	0.5–2.0 µm, cuasiesféricas
	40	3,000	100	0.9–3.0 µm, cuasiesféricas
2	40	1,500	175	1.0–4.0 µm, semiesféricas y cuasiesféricas
	60	1,500	175	1.0–4.0 µm, semiesféricas y cuasiesféricas
	40	3,000	175	1.0–4.0 µm, semiesféricas y cuasiesféricas
	60	3,000	175	1.0–4.0 µm, semiesféricas y cuasiesféricas
	40	1,500	500	1.0–6.0 µm, semiesféricas
	60	1,500	500	1.0–6.0 µm, semiesféricas
	40	1,500	100	1.0–8.0 µm, semiesféricas
	40	1,500	175	1.0–13.0 µm, semiesféricas y aglomerados semiesféricos
4	60	1,500	175	1.0–9.0 µm, semiesféricas y aglomerados semiesféricos
	40	3,000	175	2.0–7.0 µm, semiesféricas
	60	3,000	175	1.0–7.0 µm, semiesféricas y aglomerados semiesféricos
	40	1,500	500	1.5–10.0 µm, semiesféricas
	60	1,500	500	2.0–10.0 µm, semiesféricas
	60	1,500	500	2.0–10.0 µm, semiesféricas
6	40	3,000	100	1.5–12.5 µm, semiesféricas

De la tabla anterior y de la Figura 4.1, se observan la formación de partículas semiesféricas con diferentes tamaños que depende principalmente de la concentración de QTN y el diámetro de boquilla con un efecto despreciable por las condiciones de presión y temperatura. A concentraciones bajas y diámetros son obtenidos menores los tamaños de partícula y morfologías definidas (Figura 4.1a y c). Concentraciones y diámetros de boquilla mayores, la distribución del tamaño de partícula y tamaño de partícula es amplia con respecto a concentraciones menores (Figura 4.1b y d). Estos resultados mantienen una tendencia congruente con trabajos donde se muestra que el cambio en las condiciones de preexpansión no muestran un significativo efecto en el tamaño y morfología de la partícula. Al trabajar a altas concentraciones las partículas obtenidas son mayores respecto a concentraciones menores. Además hay que considerar que el tamaño y la forma de las partículas dependen del tipo de boquilla empleada obteniéndose partículas con morfologías irregulares cuando se tiene un diámetro de boquilla mayor con respecto a uno de menor diámetro [19–23].

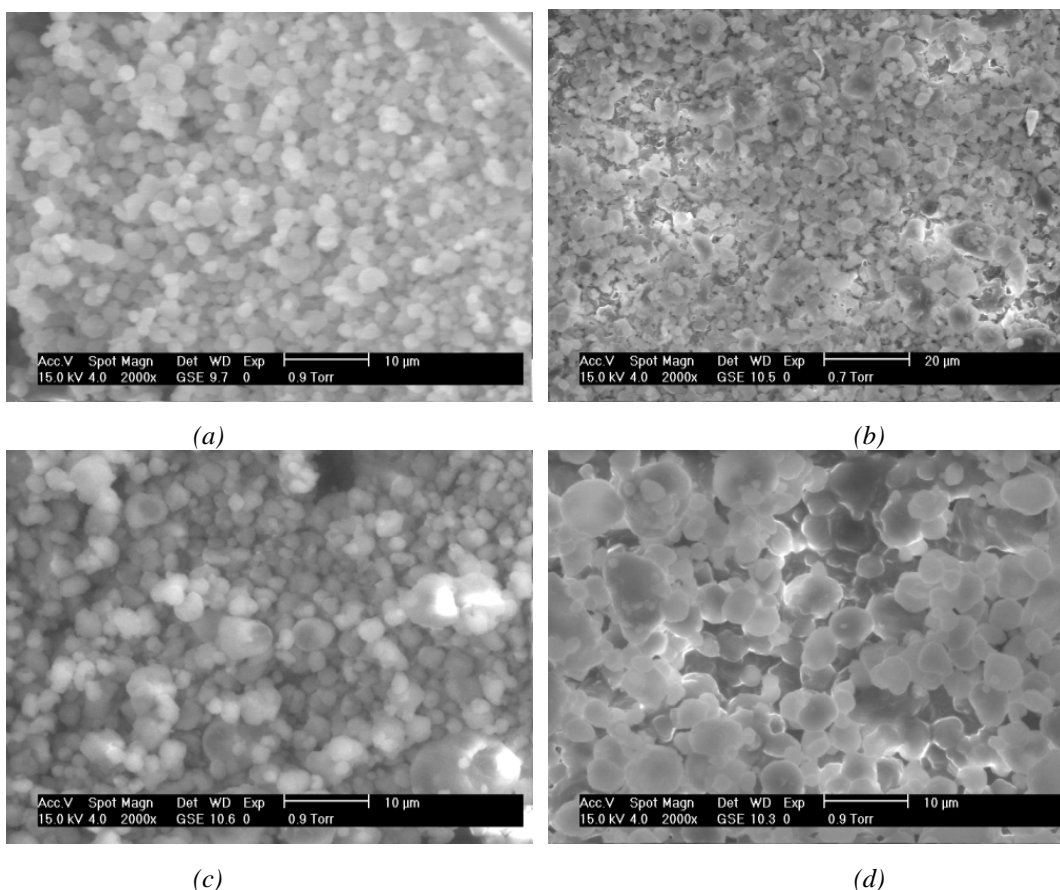


Figura 4.1. Micrografías SEM @ $T=40\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $P=20,678.6\text{ kPa}$: (a) $\text{Conc.}=1\text{ mg/mL}$ y $\phi_{\text{Boquilla}}=100\text{ }\mu\text{m}$, (b) $\text{Conc}=2\text{ mg/mL}$ y $\phi_{\text{Boquilla}}=500\text{ }\mu\text{m}$, (c) $\text{Conc}=4\text{ mg/mL}$ y $\phi_{\text{Boquilla}}=175\text{ }\mu\text{m}$ y (d) $\text{Conc}=4\text{ mg/mL}$ y $\phi_{\text{Boquilla}}=500\text{ }\mu\text{m}$.

5. Conclusiones

Existen diferentes métodos de obtención de microestructuras que involucran fluidos supercríticos, la elección de la técnica depende principalmente de la naturaleza del soluto y/o el solvente, e indirectamente del tipo de aplicación. La técnica RESS con CO_2SC , ha demostrado ser una técnica atractiva para la obtención de partículas poliméricas, para el caso especial de microestructuras de Quitina, tiene una gran ventaja el uso del CO_2 supercrítico pues se obtienen de partículas libres de solvente, además la cantidad de solvente orgánico utilizado es mínima tomando en cuenta las normatividades ambientales que son cada día más exigentes. El tamaño de las partículas depende de varios factores como son las condiciones de preexpansión (temperatura, presión, concentración de la solución) y de expansión (tamaño de boquilla). Sin embargo, la concentración de la solución, el grado de saturación y el tamaño de la boquilla pueden influir de manera directa en el tamaño de partícula. Eligiendo las condiciones adecuadas se pueden mejorar las propiedades para aplicaciones deseadas.

6. Referencias

- [1] REVERCHON, Ernesto; Giovanna Della Porta: **Micronization of antibiotics by supercritical assisted atomization**, *J. of Supercritical Fluids*, 26: 243 – 252, 2003.
- [2] MATSUYAMA, Kiyoshi; Kenji Mishima: **Coacervation microencapsulation of talc particles with a fluoropolymer by pressure – induce phase separation of supercritical carbon dioxide solutions**, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 45: 6162 – 6168, 2006.
- [3] JUNG, Jennifer; Michel Perrut: **Particle design using supercritical fluids: Literature and patent survey**, *J Supercritical Fluids*, 20: 179 – 219, 2001.
- [4] LOUVIER, José F.; Gabriel Luna; Ranjit Thakur; Ram B. Gupta: **Formation of chitin nanofibers by supercritical antisolvent**, *J. of Biomedical Nanotechnology*, 1: 109 – 114, 2005.
- [5] SINGLA, A. K.; M. Chawla: **Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects – an update**, *J. of Pharmacy and Pharmacology*, 53: 1047 – 1067, 2001.
- [6] TOFFEY, Ackah; Gamini Samaranayake; Charles E. Frazier; Wolfgang G. Glasser: **Chitin derivatives I Kinetics of the heat – induced conversion of chitosan to chitin**, *J of Applied Polymer Sci.*, 60: 75 – 85, 1996.
- [7] TOFFEY, Ackah; Wolfgang G. Glasser: **Chitin derivatives III Formation of amidized homologs of chitosan**, *Cellulose*, 8: 35 – 47, 2001.
- [8] CHANDUMPAI, Ausa; Narongsak Singhpibulporn; Damrongsak Faroongsarng; Prasart Sornprasit: **Preparation and physico – chemical characterization of chitin and chitosan from the pens of the squid species, Loligo lessoniana and Loligo formosana**, *Carbohydrate Polymers*, 58: 467 – 474, 2004.
- [9] SINGH, Dinesh K.; Alok R. Ray: **Biomedical applications of chitin, chitosan, and their derivatives**, *J Macromolecular Sci.*, 40: 69 – 83, 2000.
- [10] PERCOT, Aline; Christophe Viton; Alain Domard: **Optimization of chitin extraction from shrimp shells**, *Biomacromolecules*, 4: 12 – 18, 2003.
- [11] PERCOT, Aline; Christophe Viton; Alain Domard: **Characterization of shrimp shell deproteinization**, *Biomacromolecules*, 4: 1380 – 1385, 2003.
- [12] CHEN, Biqiong; Kang Sun; Tao Ren: **Mechanical and viscoelastic properties of chitin fibers reinforced poly(ϵ – caprolactone)**, *European Polymer Journal*, 41: 453 – 453, 2005.

- [13] MIN, Byung Moo; Sung Won Lee; Jung Nam Lim; Young You; Taek Seung Lee; Pil Hyun Kang; Won Ho Park: **Chitin and chitosan nanofibers: electrospinning of chitin and deacetylation of chitin nanofibers**, *Polymer*, 45: 7137 – 7142, 2004.
- [14] KAFETZOPOULOS, Dimitris; Aggeliki Martinou; Vassilis Bouriotis: **Bioconversion of chitin to chitosan: Purification and characterization of chitin deacetylase from *Mucor rouxii***, *Applied Biological Sciences*, 90: 2564 – 2568, 1993.
- [15] FALINI, G.; S Weiner; L. Addadi: **Chitin – silk fibroin interactions: Relevance to Calcium Carbonate formation in invertebrates**, *Calcified Tissue International*, 72: 548 – 554, 2003.
- [16] CAUCHIE, Henry Michel: **Chitin production by arthropods in the hydrosphere**, *Hydrobiologia*, 470: 63 – 96, 2002.
- [17] FERNÁNDEZ, M. Cervera; J. Heinämäki; M. Räsänen; S. L. Maunu; M. Karjalainen; O. M. Nieto Acosta; A. Iraizoz Colarte; J. Yliruusi: **Solid – state characterization of chitosans derived from lobster chitin**, *Carbohydrate Polymers*, 58: 401 – 408, 2004.
- [18] REVERCHON, Ernesto; Adami, R.: **Nanomaterials and supercritical fluids**, *J of Supercritical Fluids*, 37: 1 – 22, 2006.
- [19] BLASIG, Andre; Chunmei Shi; Robert M. Enick; Mark C. Thies: **Effect of concentration and degree of saturation on RESS of a CO₂ - soluble fluoropolymer**, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 41: 4976 – 4983, 2002.
- [20] BENEDETTI, Luca; Alberto Bertucco; Paolo Pallado: **Production of micronic particles of biocompatible polymer using supercritical carbon dioxide**, *Biotechnology and bioengineering*, 53: 232 – 237, 1997.
- [21] TANDYA, Andrian; Fariba Dehghani; Neil R. Foster: **Micronization of cyclosporine using dense gas techniques**, *J. of Supercritical Fluids*, 37: 272 – 278, 2006.
- [22] REVERCHON, Ernesto; G. Della Porta; R Taddeo; P. Pallado; A. Stassi: **Solubility and micronization of Griseofulvin in supercritical CHF₃**, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 34: 4087 – 4091, 1995.
- [23] CHAROENCHAITRAKOOL, M.; F. Dehghani; N. R. Foster; H. K. Chan: **Micronization by rapid expansion of supercritical solutions to enhance the dissolution rates of poorly water – soluble pharmaceuticals**, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 39: 4794 – 4802, 2000.