

## Efecto de las radiaciones en la cinética de degradación de películas de quitosano y *mimosa tenuiflora*

S.A. Martel-Estrada<sup>1,\*</sup>, L. Acosta-Torres<sup>2</sup>, P. Urquizo-Monrreal<sup>2</sup>, R. García-Contreras<sup>2</sup>, I. Olivas-Armendáriz<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Diseño, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez/Instituto de Arquitectura, Diseño y Arte, Ciudad Juárez, Chih, México

<sup>2</sup>Escuela Nacional de Estudios Superiores, UNAM, León, Gto., México

<sup>3</sup>Departamento de Física y Matemáticas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez/Instituto de Ingeniería y Tecnología Ciudad Juárez, Chih, México

\* adriana.martel@uacj.mx

**Resumen**— El quitosano es uno de los polímeros más utilizados en el área de ciencias de materiales. Las películas de quitosana pueden ser mejoradas añadiendo *Mimosa Tenuiflora* como ingrediente activo para potenciar el efecto regenerativo y antimicrobiano del biomaterial. Para la evaluación y uso de estos materiales en modelos *in vitro* e *in vivo* se requiere de su esterilización previa y una de las más utilizadas es la radiación UV. No obstante, se ha demostrado que estas sustancias están sujetas a rompimiento de sus cadenas poliméricas cuando se someten a diferentes tipos de radiación. Durante esta investigación se analizaron los efectos de la radiación UV en la cinética de degradación del material, utilizando microscopía óptica, FTIR y DRX, así como la pérdida de masa. Se concluye que la pérdida de masa está relacionada con el porcentaje de *Mimosa Tenuiflora* en la muestra, mientras que aumentando el tiempo de tratamiento por radiación UV tiende a estabilizar dicha pérdida de masa.

**Palabras clave**—Quitosano, Películas, *Mimosa Tenuiflora*, biodegradación, radiación UV.

### I. INTRODUCCIÓN

El quitosano es un polisacárido [ $\alpha$  (1-4)2-amino 2-desoxi  $\beta$ -D glucano] que se obtiene por desacetilación de la quitina [(1-4)2-acetamido 2-desoxi  $\beta$ -D glucano]. Es un producto de desechos de mariscos de la industria (conchas de los crustáceos, la cutícula y pared celular de insectos de los hongos), que se ha estudiado ampliamente como un biomaterial y como excipiente farmacéutico en formulaciones de fármacos [1]

La *Mimosa tenuiflora* (Willd). Poret, es conocida tradicionalmente como “tepezcohuite”, y es un arbusto que pertenece a la familia Mimosaceae. Ha sido ampliamente utilizada en la medicina tradicional como tratamiento en lresiones de la piel, efecto que es atribuido a los altos contenidos de saponinas y taninos en el material de la corteza [2].

Se ha demostrado previamente, que un soporte para ingeniería tisular de hueso 3D de quitosano con *Mimosa Tenuiflora*, puede activar la proliferación de osteoblastos [3]. No obstante, no se ha reportado los efectos de radiación UV sobre las propiedades de la cinética de degradación de este tipo de materiales configurados en películas.

De acuerdo a todo lo anterior, es posible considerar que es necesario evaluar los efectos del método de esterilización por radiación UV sobre la cinética de degradación de películas de quitosana/*mimosa tenuiflora*.

### II. METODOLOGÍA

Las películas de quitosano/*Mimosa Tenuiflora* fueron preparadas al 1% p/v en una solución al 1% v/v de ácido acético, con un 1 ml de glicerol. Los porcentajes utilizados fueron 90-10%, 80-20% y 70-30% de quitosano y *Mimosa* respectivamente.

Para la elaboración de las películas, se usaron cajas petri de 10 cm de diámetro, que fueron lavadas con abundante agua y desengrasadas con acetona. A cada caja se le fueron depositados 25 mL de las soluciones de quitosano/*Mimosa Tenuiflora* con glicerina al 1%. Luego se dejaron a temperatura ambiente en una campana de extracción y por evaporación del solvente se formaron las películas. Las películas fueron neutralizadas sumergiéndolas en alcohol etílico durante 10 min y se les dejó secar. Posteriormente, fueron sometidas a 30 min y 60 min de radiación UV para finalmente someterlas a un proceso de biodegradación en una solución buffer fosfatada 1.0X (PBS). Para este fin, las películas se cortaron en cuadros de aproximadamente 1 cm x 1cm y se secaron al vacío durante 3 días. Posteriormente fueron pesadas para registrar el peso inicial. La degradación hidrolítica *in vitro* se desarrolló en tubos para centrifuga estériles de 20 ml, con 5 ml de solución amortiguadora de fosfatos a un pH de 7.4; Las películas fueron incubadas a

37°C a 30, 60, 120 y 180 min. Después de cada periodo de tiempo, las muestras se dejaron secar durante 5 días en desecador y la degradación fue evaluada con la pérdida de peso de la muestra.

### III. RESULTADOS

Para el estudio de los efectos de la radiación en la morfología de las muestras se utilizó microscopía óptica lo que permitió analizar la distribución de la corteza de Mimoso Tenuiflora en la superficie de la película, así como cambios en la rugosidad de la misma debido al proceso de radiación de la película y la degradación a la que fue sometida.

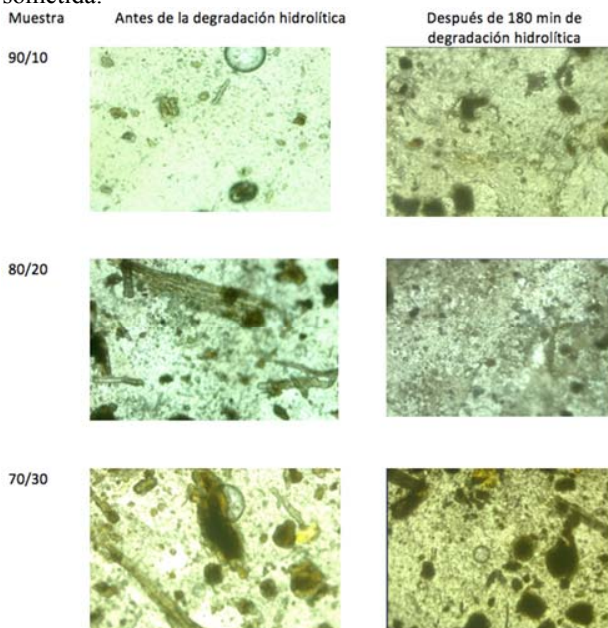


Fig 1. Morfología de las muestras sometidas a radiación por 30 min, antes y después de un proceso de degradación hidrolítica por 180 min a 5X de magnificación.

Como puede ser apreciado en las imágenes de microscopía de la Fig. 1, la distribución de la corteza de Mimoso Tenuiflora no es homogénea, mostrando fragmentos de alrededor de 20  $\mu\text{m}$  de largo del polvo. No obstante, después de que las películas fueron sometidas a un proceso de biodegradación, los grandes fragmentos del polvo de la corteza tienden a desaparecer de la película, mostrando partículas menores a 1  $\mu\text{m}$  de espesor en todas las composiciones analizadas. Esto sugiere que la distribución de la Mimoso Tenuiflora fue afectada en las películas,

fragmentándola físicamente. En general, la quitosana no mostró modificaciones evidentes.

En el espectro de la Fig. 2 se observan las bandas de los grupos funcionales característicos de las partículas de polvo de corteza de M. Tenuiflora. Se puede apreciar en la figura, la banda del grupo amina primaria (vibración de flexión en tijera) a 1649  $\text{cm}^{-1}$ , y una amina secundaria (vibración de flexión) a 1512  $\text{cm}^{-1}$ . Esta presente, la banda del grupo  $\text{CH}_2$  de los carbohidratos (vibración de flexión) a 1390  $\text{cm}^{-1}$ .

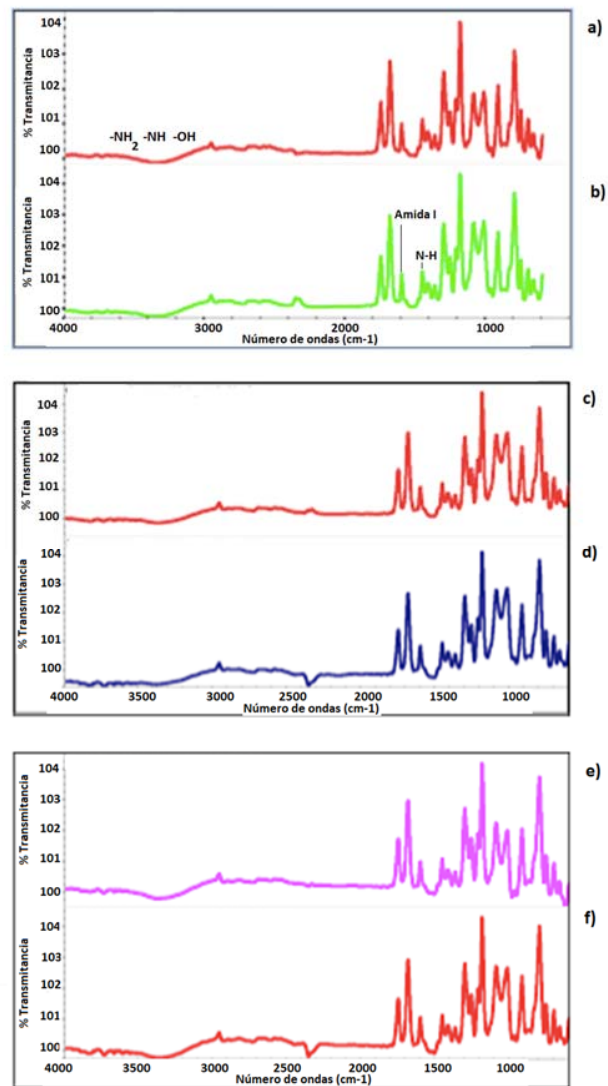


Fig 2. Espectros de infrarrojo por transformada de Fourier para los compositos a) 90-10 con 60 min de radiación UV, b) 90-10 con 30 min de radiación UV, c) 80-20 con 60 min de radiación UV, d) 80-20 con 30 min de radiación UV, e) 70-30 con 30 min de radiación UV y f) 90-10 con 60 min de radiación UV.

En los espectros mostrados en la Fig. 2 se observan también las bandas de los grupos funcionales característicos de la molécula de quitosano. En los espectros se puede ver, que el pico de la amina primaria de la quitosana se traslapa con el correspondiente de la *Mimosa Tenuiflora*. De igual manera, se aprecia la banda del grupo amina primaria -NH<sub>2</sub> (vibración de flexión en tijera). La amina secundaria de N-acetilglucosamina se observa a 893 cm<sup>-1</sup> (vibración de flexión, sin ningún desplazamiento debido a la degradación). Se pudo observar una banda ancha del grupo OH primario (tensión H-enlazado) a 3365 cm<sup>-1</sup> y a 1149 cm<sup>-1</sup>. En general, se puede apreciar que a los tiempos de degradación observados, la integridad de los grupos funcionales de la quitosana permanecen intactos, lo que sugiere que durante el tiempo de degradación considerado, no hay rompimiento de los enlaces que integran al material compuesto.

En los materiales que recibieron un tratamiento de radiación UV por 30 min previos al estudio de biodegradación, pudo observar que el material compuesto es más susceptible a la degradación en la medida en que se aumenta la cantidad de *Mimosa Tenuiflora* en el mismo, tal y como lo muestra la Fig. 3. No obstante, esta diferencia entre los materiales compuestos no mostró ser significativa cuando el estudio de biodegradación fue realizado con materiales radiados por 60 min, en donde la pérdida de peso al final del estudio fue similar para los materiales compuestos independientemente de la cantidad de corteza que contenían.

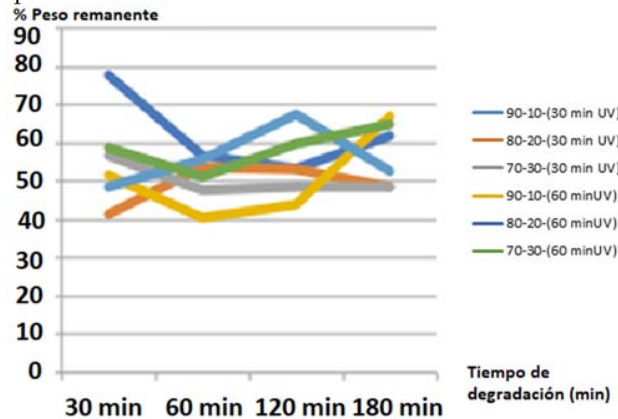


Fig 3. Degradación de los materiales compuestos radiados con UV por 30 y 60 minutos (*Quitosana-Mimosa Tenuiflora*)

Finalmente, las Fig 4 y 5 muestran los patrones de difracción por rayos X de los materiales compuestos expuestos a 30 min y 180 min de biodegradación, respectivamente. Las figuras permiten ver las características amorfas de la quitosana con un pico alrededor de  $2\theta=21.70^\circ$ .

Se puede ver, que la cristalinidad de las muestras no fue afectada ni por el tratamiento de UV, ni por el tiempo de degradación hidrolítica.

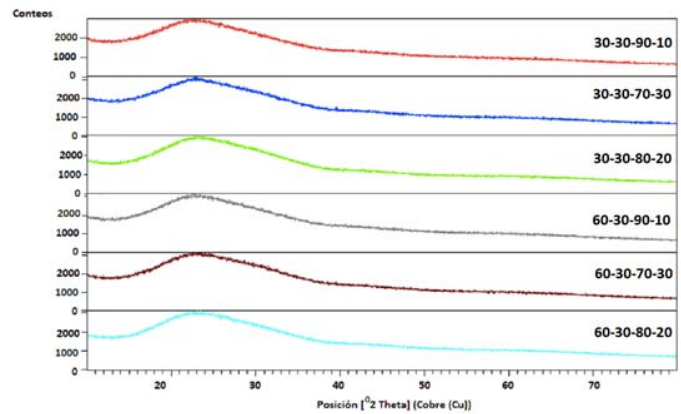


Fig 4. Cristalinidad de las muestras posteriores a una biodegradación de 30 minutos, con diferentes tiempos de radiación UV (60 y 30 min de radiación).

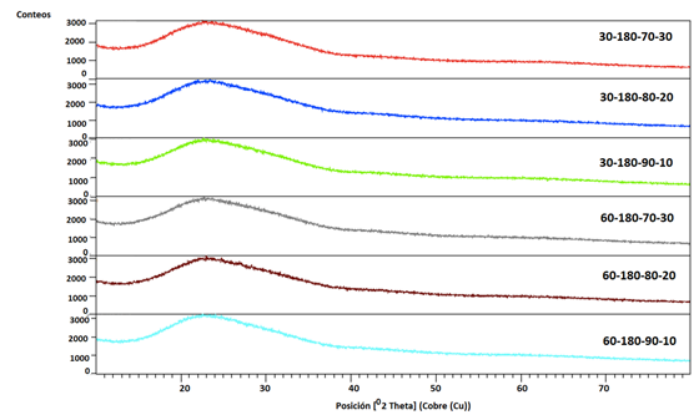


Fig 5. Cristalinidad de las muestras posteriores a una biodegradación de 180 minutos, con diferentes tiempos de radiación UV (60 y 30 min de radiación)

#### IV. DISCUSIÓN

Anteriormente fue mostrado por Martel[4], que cuando estos materiales son sometidos a radiación, la energía actúa sobre las cadenas del material compuesto directamente, rompiendo los enlaces 1,4 glicosídicos del quitosano, formando grupos carbonilos y carboxílicos. No obstante, en este caso, debido a que se utilizó radiación de baja energía los efectos en dichos enlaces no fueron vistos en el FTIR. Del mismo modo, los resultados de difracción por rayos X, mostraron picos que están de acuerdo con otros resultados publicados. La reflexión a 20° corresponde al

lattice cristalino regular de la quitosana (110) [5]. Además, se ha reportado que la disolución de la quitosana en ácido acético causa una disminución en su cristalinidad [6] y quizá ocasiona la poca cristalinidad mostrada. Como se puede ver, la cristalinidad de las muestras no fue afectada ni por el proceso de radiación, ni por la biodegradación a cortos tiempos.

Es importante destacar que el quitosano puede ser degradado por enzimas que hidrolizan la glucosamina-glucosamina, la glucosamina-N-acetil-glucosamina y los enlaces N-acetil-glucosamina-N-acetil-glucosamina. En este sentido, se han reportado ensayos de caracterización química (*in vitro*) de biodegradación utilizando enzimas, encontrando que la degradación era más dependiente del grado de acetilación del quitosano [7].

De acuerdo con los resultados de pérdida de peso, en el caso particular de este trabajo de investigación puede ser observado que a medida que el tiempo de exposición a la radiación UV aumenta, las películas evidencian una mayor estabilidad a la degradación hidrolítica, mientras que entre mayor contenido de *Mimosa Tenuiflora* sea incorporado, mayor será la degradación sufrida por las mismas.

## V. CONCLUSIÓN

En este trabajo se mostró que a medida que el tiempo de exposición a radiación UV aumenta, las películas evidencian una mayor estabilidad a la pérdida de peso durante la degradación hidrolítica, sin que fueran evidentes cambios químicos en los espectros de infrarrojo de los materiales compuestos. Por otro lado, queda evidenciado que entre mayor contenido de *Mimosa Tenuiflora* sea incorporado, mayor será la pérdida de peso sufrida por las películas.

Finalmente, se requiere analizar con instrumentos más sensibles una posible interacción entre los diferentes grupos funcionales de los materiales que integran el compuesto para comprender el mecanismo por medio del cual la biodegradación se estabiliza.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] M. Amidi, Hennink, W., Chitosan-based formulations of drugs, imaging agents and biotherapeutics. Preface., *Advanced drug delivery reviews*, 62 (2010) 1-2.
- [2] J. Zippel, A. Deters, A. Hensel, Arabinogalactans from *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret bark as active principles for wound-healing properties: specific enhancement of dermal fibroblast activity and minor influence on HaCaT keratinocytes, *Journal of ethnopharmacology*, 124 (2009) 391-396.
- [3] S.A. Martel-Estrada, B. Rodríguez-Espinoza, E. Santos-Rodríguez, F. Jiménez-Vega, P.E. García-Casillas, C.A. Martínez-Pérez, I.O. Armendáriz,

Biocompatibility of chitosan/*Mimosa tenuiflora* scaffolds for tissue engineering, *Journal of Alloys and Compounds*, (2015).

[4] S.A. Martel-Estrada, E. Santos-Rodríguez, I. Olivas-Armendáriz, E. Cruz-Zaragoza, C.A. Martínez-Pérez, The effect of radiation on the thermal properties of chitosan/*mimosa tenuiflora* and chitosan/*mimosa tenuiflora*/multiwalled carbon nanotubes (MWCNT) composites for bone tissue engineering, (2014) 55-64.

[5] B. Souza, Cerqueira, M., Martins, J., Casariego, A., Teixeira, J., Vicente, A., Influence of electric fields on the structure of chitosan edible coatings, *Food Hydrocolloids*, 24 (2010) 330-335.

[6] J. Schiffman, Stulga, L., Schauer, C., Chitin and chitosan: Transformations due to the electrospinning process, *Polymer Engineering & Science*, 49 (2009) 1918-1928.

[7] T. Kean, M. Thanou, Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan, *Advanced drug delivery reviews*, 62 (2010) 3-11.