

# PROPIEDADES FISICOQUIMICAS Y ANTIBACTERIALES DE MEZCLAS PLA-QUITOSANO OBTENIDAS POR CASTING CON POTENCIAL USO COMO ACOLCHADOS AGRÍCOLAS

## PHYSICOCHEMICAL AND ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF PLA-CHITOSAN BLENDS OBTAINED BY CASTING WITH POTENTIAL USE AS AGRICULTURAL MULCH FILMS

**Danila Merino<sup>1</sup>, Yamila Mansilla<sup>2</sup>, Claudia Casalougué<sup>2</sup>, Vera Alvarez<sup>1</sup>**

(1) Grupo de Materiales Compuestos de Matriz Polimérica, INTEMA, Solís 7575,  
(7600), Mar del Plata, Buenos Aires - Argentina

(2) Grupo de Fisiología del Estrés en Plantas, IIB, Funes 3250, 4to nivel,  
(7600), Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina  
(e-mail: danila.merino@fi.mdp.edu.ar)

Recibido: 28/11/2015 - Evaluado: 28/12/2015 - Aceptado: 12/01/2016

### RESUMEN

Se obtuvieron films PLA-Quitosano compatibilizados con diisocianato de hexametileno (HDI) por el método de casting y posterior prensado. Los films fueron preparados con diferentes contenidos de quitosano (CS) y a continuación se estudiaron sus propiedades fisicoquímicas, mediante espectroscopia infrarroja de Transformada de Fourier (FTIR), análisis termogravimétrico (TGA), calorimetría diferencial de barrido (DSC), microscopia óptica (MO) y difracción de rayos X (DRX). Se encontró que el agente compatibilizante reacciona completamente y que el quitosano afecta las propiedades térmicas de los films disminuyendo sus temperaturas de descomposición, transición vítrea ( $T_g$ ) y de fusión ( $T_f$ ) e incrementando su cristalinidad. Desde el punto de vista funcional, se estudiaron las propiedades antimicrobianas de cada uno de los films frente a la bacteria patógena *Pseudomonas syringae pv tomato* DC-3000. El aumento en el contenido de quitosano fue proporcional al efecto antimicrobiano permitiendo proyectar su potencial de aplicación en el campo agronómico.

### ABSTRACT

PLA-Chitosan films compatibilized with hexamethylenediisocyanate (HDI) were obtained by casting and subsequent hot pressing. The films were prepared with different contents of chitosan (CS) and then its physicochemical properties were studied by Fourier Transform infrared spectroscopy (FTIR), thermogravimetric analysis (TGA), differential scanning calorimetry (DSC), optical microscopy (OM) and X-ray diffraction (XRD). It was found that the compatibilizing agent reacts completely and that chitosan affects the thermal properties of the films decreasing their decomposition temperatures, glass transition temperature ( $T_g$ ) and melting ( $T_m$ ) and increase its crystallinity. From the functional standpoint, antimicrobial properties of each blend were tested against *Pseudomonas syringae pv tomato* DC-3000. The increase in chitosan content was proportional to the antimicrobial effect allowing project its potential application in the agronomic field.

Palabras clave: Films biodegradables, mezclas poliméricas, casting, acolchados  
Keywords: Biodegradable films, polymer blends, casting, mulch

## INTRODUCCIÓN

El uso de plásticos en la agricultura ha crecido gradualmente desde hace más de 60 años (Touchaleaume *et al.*, 2016). El uso de los mismos en invernaderos, túneles, mantas flotantes y acolchados, entre otros, constituyen las principales aplicaciones (Carluccio *et al.*, 2002). En todos los casos, su utilización produce una serie de ventajas: aumento en los rendimientos, menor cantidad en el uso de herbicidas y pesticidas, utilización más eficiente del agua y además, permiten el cultivo intensivo de suelos pobres, ofreciendo mayor eficiencia y competitividad para el productor agrícola (Carluccio *et al.*, 2002; Briassoulis, 2007).

Actualmente, el término acolchado (o *mulch*, en inglés) se refiere a una película delgada de plástico que se coloca directamente sobre el suelo o las plantas en sus primeras etapas de crecimiento. El efecto aislante de la película presenta una serie de beneficios ya que ayuda a mantener la temperatura, la humedad y la estructura del suelo, evitando así la erosión y mejorando la gestión del agua, un tema importante en zonas con recursos hídricos limitados (Briassoulis, 2007).

Sin embargo, los plásticos utilizados usualmente son a base de polietileno, un polímero no biodegradable, derivado del petróleo (Finkenstadt & Tisserat, 2010). Por lo tanto, el actual uso de plásticos en el área agrícola también tiene sus desventajas, asociadas a la acumulación de los mismos en el ambiente (Scarascia-Mugnozza *et al.*, 2006). La vida útil de los acolchados es variable dependiendo de las condiciones ambientales y una vez terminado el ciclo de cultivo permanecen en el suelo (Finkenstadt & Tisserat, 2010). En general, se han reportado diferentes tratamientos asociados a su eliminación como su incineración, quemado, reciclado y compostaje, pero todas ellas conllevan a numerosas desventajas económicas y ambientales (Li *et al.*, 2014; Scarascia-Mugnozza *et al.*, 2006).

Por lo tanto, el uso de acolchados plásticos biodegradables representa una solución prometedora. Un acolchado biodegradable puede ser dejado en el suelo luego de la temporada de cultivo y gracias a la acción de microorganismos puede ser transformado en un tiempo razonable en dióxido de carbono, agua y biomasa (Li *et al.*, 2014; Scarascia-Mugnozza *et al.*, 2006; Costa *et al.*, 2014).

Con este objetivo se han estudiado las propiedades de diferentes formulaciones de materiales poliméricos degradables a base de poli-vinil alcohol (Lahalih *et al.*, 1987) alginato (Liling *et al.*, 2016), poli(butileno adipato-co-tereftalato) (Touchaleaume *et al.*, 2016), almidón (Otey *et al.*, 1974) y ácido poli(láctico) (Finkenstadt & Tisserat, 2010), entre otros.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar films plásticos biodegradables que representen una buena alternativa a los actuales films de polietileno. Entre los candidatos más prometedores para su reemplazo se encuentra el ácido poli(láctico) (PLA). Éste es un material polimérico sintético cuyos monómeros de ácido láctico son obtenidos a partir de la fermentación de diferentes azúcares y luego son polimerizados por diferentes vías. Entre las características favorables que posee en relación a esta potencial aplicación, se encuentran su biocompatibilidad, fácil procesamiento por las vías estándar utilizadas en el procesamiento de los polímeros tradicionales y fundamentalmente su biodegradabilidad ya que bajo condiciones normales del suelo o en condiciones de compostaje se descompone en agua, dióxido de carbono y humus (Finkenstadt & Tisserat, 2010; Lim *et al.*, 2008).

El quitosano es un polisacárido catiónico, compuesto principalmente de unidades de 2-desoxi-2-amino-D-glucopiranososa con enlaces  $\beta$ -(1-4) (Han *et al.*, 2010; Choi *et al.*, 2016). Es un derivado de la quitina, el segundo polímero más abundante que se encuentra en la naturaleza después de la celulosa, y se obtiene por desacetilación de la misma en presencia de álcali (Xie *et al.*, 2013; Bonilla *et al.*, 2013). Este material presenta como ventajas su bajo costo, baja toxicidad, biodegradabilidad y biocompatibilidad (Han *et al.*, 2010). Además, posee propiedades antimicrobianas contra hongos, algas y bacterias e incluso podría proteger a las plantas mediante la inducción de sus mecanismos de defensa innata (Rabea *et al.*, 2003; Choi *et al.*, 2016).

En este trabajo se reporta la reacción química entre las cadenas de ambos polímeros utilizando diisocianato de hexametileno (HDI) como agente enlazante. Se caracterizaron las mezclas PLA con diferentes contenidos de CS (0, 10, 20 y 30% en peso) compatibilizadas utilizando HDI al 3% en peso, desde el punto de vista estructural y funcional.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización de este trabajo se utilizó PLA (PLA2003D) provisto por NatureWorks y quitosano de bajo peso molecular, adquirido en Sigma-Aldrich, USA (CAS 9012-76-4). El diisocianato de hexametileno (HDI), la acetona y el ácido acético fueron proporcionados por Sigma-Aldrich, Química DEM y Biopack, respectivamente.

Para la obtención de los films se preparó una solución de PLA 1%p/v en acetona y una solución de quitosano 1%p/v en ácido acético 1% v/v. Para ello se pesaron las cantidades especificadas en la Tabla 1 y se agitaron con sus respectivos disolventes durante 2 h. A continuación se añadió el agente compatibilizante, HDI, al 3% p/p de la masa de polímero total a la solución de PLA.

Tabla 1: Cantidades empleadas en la preparación de los films

Muestra	Quitosano (g)	HAc 1%v/v (ml)	PLA (g)	Acetona (ml)
PLA	-	-	2.00	200
PLA90CS10	0.19	19.4	1.75	175
PLA80CS20	0.39	38.8	1.55	155
PLA70CS30	0.58	58.2	1.36	136

La solución se mantuvo bajo agitación durante 30 minutos a 60 °C en baño María. Luego, se agregó gota a gota sobre la solución de quitosano. La mezcla resultante se agitó durante 30 minutos a 60 °C y luego se mantuvo la agitación durante 1 h más a temperatura ambiente. A continuación, se vertió sobre un cristizador de 15 cm de diámetro cubierto con papel teflón y se secó en estufa a 70 °C. Finalmente, las diferentes mezclas fueron prensadas a 175 °C durante 5 minutos a una presión de 80 kg/cm<sup>2</sup> utilizando una prensa hidráulica. Se obtuvieron films de 0.1 mm de espesor.

Las propiedades térmicas de las mezclas PLA-CS fueron estudiadas mediante análisis termogravimétrico (TGA) y calorimetría diferencial de barrido (DSC). Los TGA fueron realizados en un equipo TGA Q500 Hi-Res TA. Las muestras (de entre 5-10 mgr) fueron calentadas desde 30 °C hasta 700 °C a una velocidad de calentamiento de 10 °C/min bajo una atmósfera de nitrógeno. Este análisis fue realizado con el fin de determinar las temperaturas de degradación de la mezcla. Los ensayos de DSC se realizaron en un calorímetro Shimadzu en atmósfera de N<sub>2</sub> a 10 °/min desde 25 grados a 250 °C, con la finalidad de determinar la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ), temperatura de cristalización ( $T_c$ ), temperatura de fusión ( $T_f$ ), entalpía de fusión ( $\Delta H_f$ ) y porcentaje de cristalinidad ( $X_c$ ). El grado de cristalinidad se calculó utilizando la ec. 1 considerando la entalpía de fusión del PLA 100 % cristalino como 93 J/g (Bonilla *et al.*, 2013) y la fracción en peso del PLA en la mezcla ( $w_{PLA}$ ).

$$X_c (\%) = \frac{\Delta H_f}{w_{PLA} \Delta H_{f_{100\%}}} * 100\% \quad (1)$$

La compatibilidad química entre las moléculas de polímero se estudió mediante espectroscopia infrarroja de Transformada de Fourier (FTIR) mientras que por microscopía óptica (MO) y difracción de rayos X (DRX) se obtuvo información adicional a acerca de su morfología y cristalinidad. Los espectros infrarrojos fueron obtenidos en un equipo modelo Nicolet 6700 ThermoScientific, en el rango de 400 a 4000 cm<sup>-1</sup> con 32 escaneos y 4 cm<sup>-1</sup> de resolución. El microscopio utilizado fue un microscopio óptico de reflexión Leica, modelo DMI 3000M. Las imágenes se tomaron con un aumento de 10X. Los ensayos de difracción de rayos X se realizaron en un difractómetro X-Pert Pro, operando a 40 kV y 40 mA, con radiación CuK $\alpha$  (=1.54 Å), a una velocidad de escaneo de 5 °/min.

La actividad antibacteriana de las distintas mezclas PLA-CS sobre la bacteria *Pseudomonas syringae* pv *tomato* DC3000 (*P. syringae*), la cual es el agente causal de la mancha del tomate, se evaluó mediante la técnica de difusión en agar según Oya *et al.* (1991). Las bacterias se crecieron en medio King B agar suplementado con 50 µg/ml de kanamicina y 50 µg/ml de rifampicina, tal como describe Cecchini *et al.* (2011). Se sembró un inóculo bacteriano de aproximadamente  $5 \times 10^6$  bacterias/ml en la superficie del medio de cultivo sólido (Medio King B - Agar 0.7 % suplementado con los antibióticos correspondientes). Una vez solidificado el agar, se colocaron los films sobre la superficie y las placas se incubaron a 30 °C durante 1 día, ya que las bacterias tienen una tasa de multiplicación y crecimiento muy rápida, de entre 16 y 24 h (Oya *et al.*, 1991; Li *et al.*, 2012). La actividad antibacteriana se evidenció por la formación del halo de inhibición de crecimiento bacteriano alrededor de los materiales testeados.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las mezclas PLA/CS compatibilizadas con HDI fueron caracterizadas por FTIR con el fin de investigar la estructura química de los materiales puros y las señales características de las mezclas luego del procesamiento ya que este método permite detectar la formación de enlaces amida entre los grupos diisocianato del agente compatibilizante y el grupo carboxilo terminal del PLA y los grupos uretano obtenidos por la reacción del diisocianato con los hidroxilos del PLA y el CS (Figura 1).

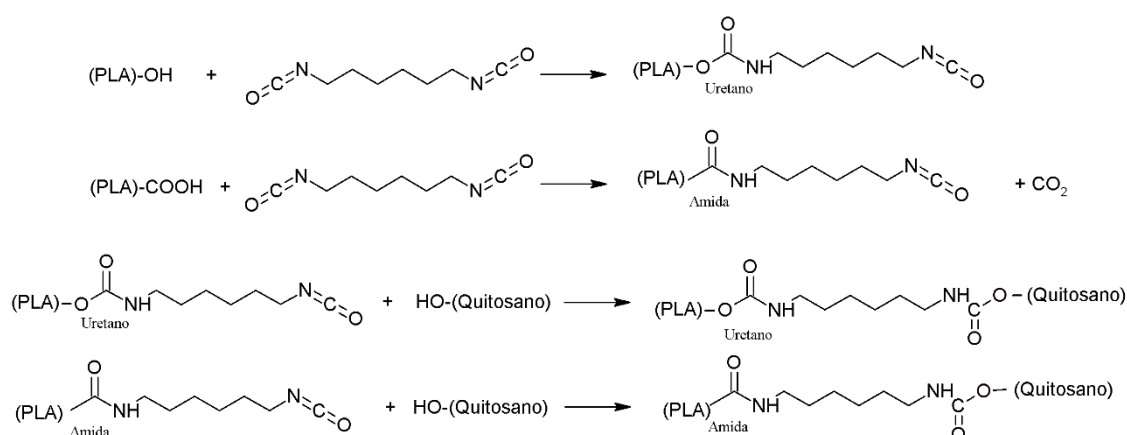


Fig. 1: Reacciones de compatibilización de PLA y CS con HDI.

En la Figura 2 se presentan los espectros obtenidos para los componentes individuales (PLA y CS) y sus mezclas.

En el espectro de se PLA observaron sus picos característicos: bandas a 2994.9, 2942.8, y 2923.6 cm<sup>-1</sup> correspondientes a los modos de vibración de estiramiento de CH<sub>3</sub> (asimétrico), CH<sub>3</sub> (simétrico), y CH, una banda intensa a 1747 cm<sup>-1</sup> de vibración de estiramiento de C=O y otra a 1265 cm<sup>-1</sup> correspondiente a su flexión, mientras que el estiramiento C-O de los grupos éster se encontró a 1180 cm<sup>-1</sup> (Chen *et al.*, 2012).

Las mezclas PLA80/CS20 y PLA70/CS30 presentaron los picos esperados relacionados a la absorción de los grupos amida (3350 cm<sup>-1</sup>, estiramiento N-H; 1550 y 1648 cm<sup>-1</sup>, flexión y estiramiento N-H de amida primaria, respectivamente), lo cual estaría indicando un cierto grado de compatibilización. En cuanto a la mezcla PLA90/CS10 las bandas no pudieron ser identificadas, debido posiblemente a la baja concentración de CS (Chen *et al.*, 2012; Torres-Huerta *et al.*, 2014). Es importante destacar que en los espectros no se observa la banda a 2266 cm<sup>-1</sup> de la frecuencia de vibración de estiramiento de N=C=O, lo cual indica su ausencia y esto podría asociarse a una completa reacción del agente compatibilizante, lo que se encuentra de acuerdo con la aparición de las bandas de grupos amida (Chen *et al.*, 2012).

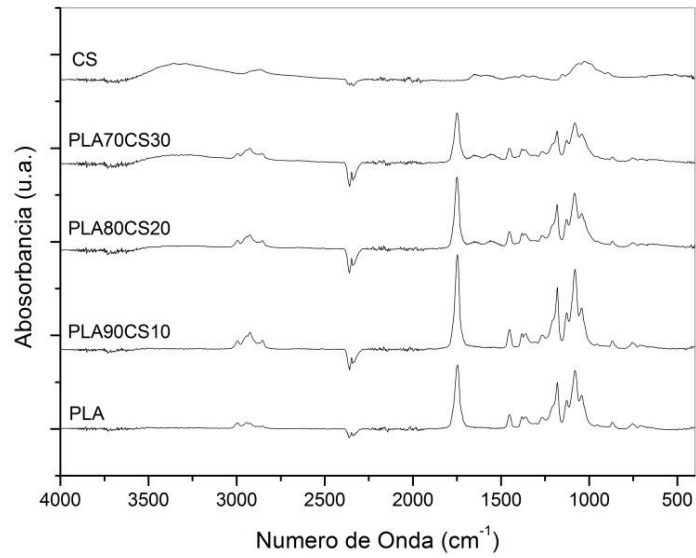


Fig. 2: Espectros de absorción infrarroja para el CS puro, las mezclas PLA70/CS30, PLA80/CS20, PLA90/CS10 y el PLA puro.

Las micrografías de PLA, PLA90CS10, PLA80CS20 y PLA70CS30 obtenidas de la superficie de los films se muestran en la Figura 3.

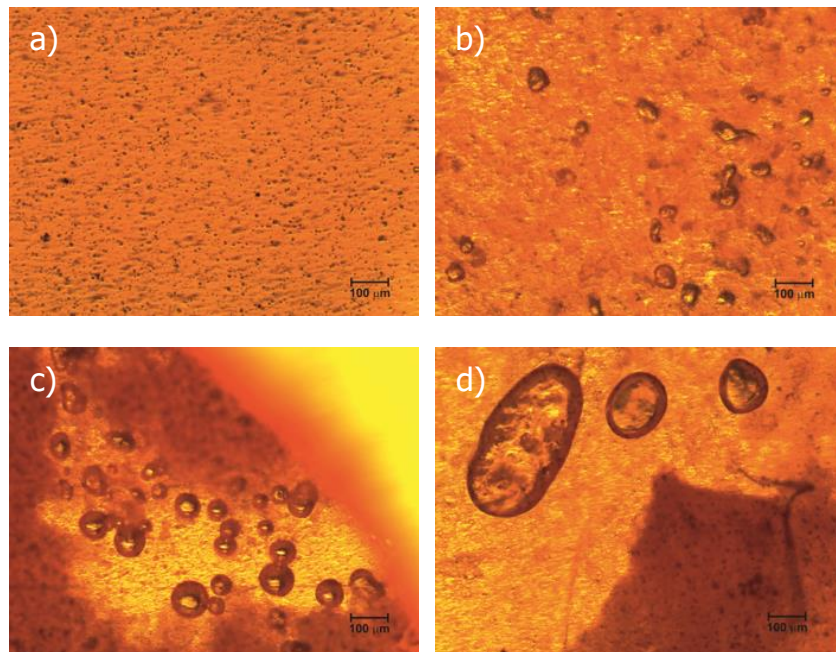


Fig. 3: Micrografías de a) PLA b) PLA90CS10 c) PLA80CS20 y d) PLA70CS30.

En la misma se puede apreciar que la morfología de los materiales obtenidos es heterogénea y que los mismos muestran una distribución tipo core-shell, principalmente en las mezclas con mayor contenido de quitosano. Se observó que a medida que el contenido de CS en la mezcla fue mayor, el tamaño de estas formaciones aumenta como así también la cantidad de dominios de cada material individual, indicando que la separación de fases es

mayor (menor compatibilización). Resultados similares han sido reportados en la literatura para mezclas de diferentes poliésteres y CS (Torres-Huerta *et al.*, 2014; Correlo *et al.*, 2005) para las cuales se ha encontrado que los polímeros se habían integrado uniformemente aunque el CS se encontrara disperso en la fase continua del poliéster, lo cual es de esperarse, ya que las partículas de CS no funden (Martel-Estrada *et al.*, 2010). Adicionalmente, estos autores reportaron que la fase del CS poseía forma semi esférica y que su tamaño variaba con el contenido del mismo. En relación a la reacción de compatibilización, es posible que una parte haya reaccionado, tal como se apreció por FTIR, pero ésta no haya sido suficiente para evitar la separación de los componentes.

En la Figura 4 se presentan los termogramas del PLA, CS y las mezclas obtenidas de la combinación de estos componentes en las proporciones previamente especificadas.

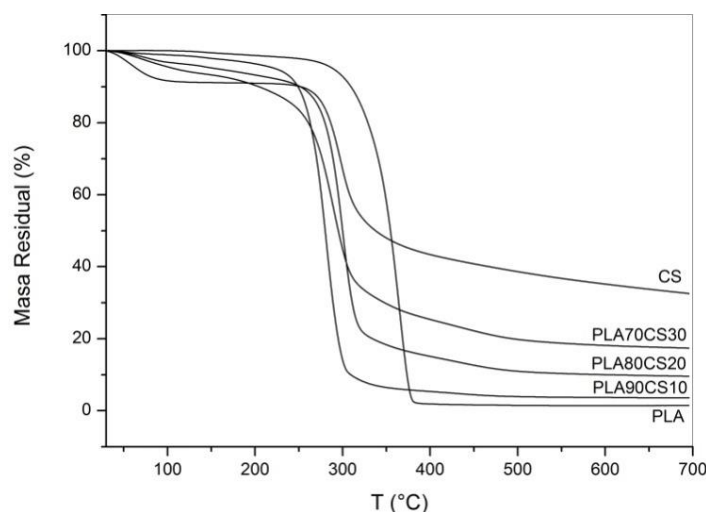


Fig. 4: Termogramas de CS puro, mezclas PLA70/CS30, PLA80/CS20, PLA90/CS10 y PLA puro.

Las temperaturas de degradación se muestran en la Tabla 2. Las mismas fueron obtenidas a partir de un gráfico de dTGA. Se observó que para el PLA puro solo hay un pico de degradación a 363.9 °C, mientras que para el CS puro se observaron dos eventos de degradación, lo cual se encuentra en acuerdo con lo reportado por otros autores (Lewandowska, 2009; Bonilla *et al.*, 2013). El primer evento se observó a 57.8 °C, y se lo asocia con la evaporación de agua y residuos de ácido acético absorbidos y el segundo, a 298.3 °C, se atribuye a la degradación de la estructura del polímero, incluyendo la deshidratación de los anillos sacáridos y la descomposición de las unidades acetiladas y desacetiladas (Bonilla *et al.*, 2013). Por su parte, las mezclas PLA/CS presentaron dos eventos de degradación. El mismo comportamiento fue reportado para mezclas CS-ácido poli-(láctico-co-glicólico) (Martel-Estrada *et al.*, 2014). El primer evento, en todos los casos inferior a los 100 °C, puede ser asociado a la evaporación de agua y demás volátiles. La temperatura de degradación posterior representa la degradación solapada de ambos componentes y se encuentra, en todas las mezclas, cercana a la temperatura de degradación del CS puro.

Adicionalmente, en la Tabla 2 se presentan las pérdidas de masa de cada muestra analizada en su intervalo de temperatura. Se observó un contenido de 8.9% de agua en el quitosano empleado y cantidades inferiores a ésta en las mezclas PLA-CS: 0.7% para PLA90CS10, 3.1% para PLA80CS20 y 5.9% para PLA70CS30. Estos incrementos en el contenido de agua están de acuerdo con el aumento en el contenido de quitosano en las muestras, ya que se trata de un biopolímero sensible a la humedad (Martinez-Camacho *et al.*, 2010; Choi *et al.*, 2016). En cuanto a las mezclas, se observó un decrecimiento en la pérdida de masa involucrada en el segundo

evento de degradación resultando en una masa residual mayor cuanto mayor es el contenido de CS presente, tal como es esperado debido al alto porcentaje de residuo de CS a 700 °C (Tabla 2).

Tabla 2: Temperaturas de degradación, intervalos de temperatura y pérdidas de masa observadas para CS, PLA y sus mezclas.

Muestra	T <sub>dico1</sub> (°C)	T <sub>dico2</sub> (°C)	ΔT <sub>dico1</sub> (°C)	Δm <sub>dico1</sub> (%)	ΔT <sub>dico2</sub> (°C)	Δm <sub>dico2</sub> (%)	T <sub>-10%</sub> (°C)	Mres. (%)
CS	57.8	298.3	118.9	8.9	546.6	58.6	251.9	32.6
PLA	-	363.9	-	-	269.9	98.1	309.5	1.5
PLA90CS10	53.4	281.3	32.1	0.7	439.1	95.4	259.0	3.5
PLA80CS20	71.7	300.0	67.3	3.1	595.2	87.3	251.6	9.6
PLA70CS30	71.1	290.1	95.5	5.9	601.5	76.7	204.2	17.4

Finalmente, la Tabla 2 muestra las temperaturas a las cuales la pérdida de masa es del 10% (T<sub>-10%</sub>). Se observa que un aumento en el contenido de CS resulta en una disminución de la estabilidad térmica de la mezcla (259, 251.6 y 204.2 °C para PLA90CS10, PLA80CS20 y PLA70CS30, respectivamente) en comparación a la temperatura de degradación de PLA puro (309.5 °C). Sin embargo, otros autores reportaron que para mezclas PLA-CS, donde la cantidad máxima de CS empleada en la mezcla fue del 10% no encontraron cambios significativos en el comportamiento del PLA, resultado que atribuyen a la pequeña cantidad de CS empleada (Bonilla *et al.*, 2013).

Utilizando los porcentajes de masa residual para cada mezcla se puede estimar el contenido porcentual de CS y PLA en cada caso. Para ello se tienen en cuenta las ec 2 y 3.

$$M_{res} = w_{PLA} \cdot m_{r\ PL A} + w_{CS} \cdot m_{r\ CS} \quad (2)$$

$$w_{PLA} = 1 - w_{CS} \quad (3)$$

Donde  $M_{res}$  representa la masa residual de la mezcla;  $w_{PLA}$  es la fracción másica de PLA en la mezcla,  $m_{r\ PL A}$  la masa residual del PLA,  $w_{CS}$  es la fracción en peso de CS en la mezcla y  $m_{r\ CS}$  es la masa residual de quitosano.

A partir de las mismas se determinó el contenido porcentual de CS en las mezclas, encontrándose contenidos del 6.7% para PLA90CS10, 26% PLA80CS20 y 51% en peso para PLA70CS30. Como se puede apreciar, para el caso de PLA90CS10 el contenido de CS es inferior al esperado y ocurre lo opuesto en los otros casos. Esto estaría relacionado a los diferentes grados de compatibilización de los materiales tal como se observó por MO. Evidentemente, las mezclas PLA80CS20 y PLA70CS30 presentaron una separación de fases mayor lo cual se relaciona con una mayor concentración de cada componente en las diferentes zonas y en consecuencia se observa un porcentaje mayor al esperado en CS.

A partir de las curvas de DSC (Fig. 5) se obtuvieron la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ), temperatura de cristalización ( $T_c$ ), temperatura de fusión ( $T_f$ ) entalpía de fusión ( $\Delta H_f$ ) y porcentaje de cristalinidad ( $X_c$ ) (Tabla 3).

Uno de los métodos más comunes utilizados para estudiar la compatibilidad entre polímeros es determinar la  $T_g$  de la mezcla y compararla con los valores de  $T_g$  de los componentes poliméricos (Torres-Huerta *et al.*, 2014; Meng *et al.*, 2015; Sakurai *et al.*, 2000). En general, la presencia de una sola  $T_g$  en una mezcla (con su valor comprendido entre el de la  $T_g$  de cada polímero constituyente) es considerada una evidencia de miscibilidad. Con respecto a la  $T_g$  del CS los datos encontrados en la bibliografía están en discrepancia (Lewandowska, 2009; Martel-Estrada *et al.*, 2010; Suyatma *et al.*, 2004). Más aún, es ampliamente conocido el hecho de que los valores de  $T_g$  y  $T_f$  del CS son difíciles de determinar por DSC ya que éste absorbe humedad y posee una cadena polimérica muy rígida

constituida de unidades de 2-amino-2-desoxi-D-glucopiranososa por lo que el cambio en la capacidad calorífica correspondiente a la variación de volumen específico en la  $T_g$  es muy pequeño y difícil de observar (Sakurai *et al.*, 2000; Minfeng *et al.*, 2008; Martel-Estrada *et al.*, 2010; Bonilla *et al.*, 2013).

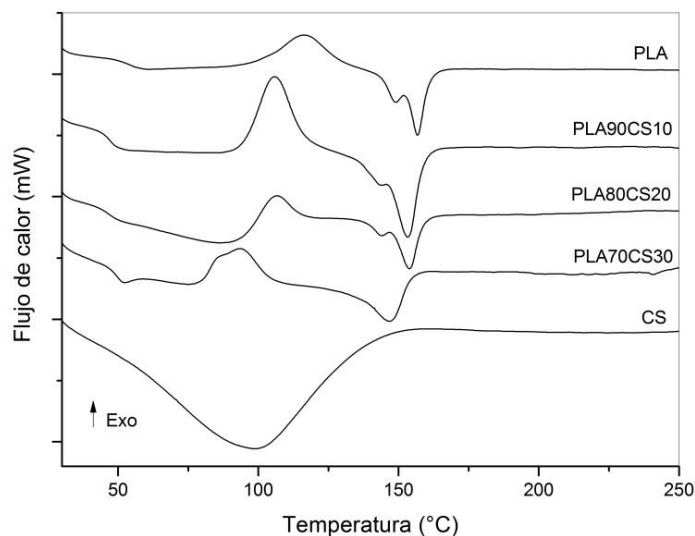


Fig. 5: Gráficos de DSC de PLA y CS puros, y de las mezclas PLA70/CS30, PLA80/CS20 y PLA90/CS10.

El quitosano puro presentó un gran pico endotérmico debido a la evaporación de agua, siendo el termograma muy similar al reportado por Suyatma *et al.* (2011). La disminución de la intensidad de este pico o incluso su desaparición en las mezclas PLA/CS sugiere un decrecimiento en la habilidad del quitosano para absorber agua. Esto puede deberse a que parte de los grupos  $-OH$  han reaccionado con los grupos isocianato del compatibilizante (Suyatma *et al.*, 2010).

Para el PLA puro, se encontró una temperatura de transición vítrea de 51.5 °C mientras que para las mezclas este valor disminuyó en torno a los 47.5 °C. Esto puede deberse a la degradación térmica del PLA y en consecuencia una disminución en su peso molecular (Correlo *et al.*, 2005), aunque también puede considerarse el efecto plastificante de las moléculas de solvente (Sakurai *et al.*, 2000). Otros autores encontraron que la  $T_g$  en mezclas CS-ácido poli(láctico-co-glicólico) se trasladó a un valor más bajo a medida que el porcentaje de CS aumentaba, interpretando esto como evidencia de una miscibilidad parcial entre los componentes (Martel-Estrada *et al.*, 2010). Por otra parte, no pudo determinarse la  $T_g$  del CS ya que ésta no aparece de forma clara en el DSC, tal como se ha explicado anteriormente. Sin embargo, los valores reportados en literatura, 202 °C (Suyatma *et al.*, 2011) y 194 °C (Suyatma *et al.*, 2004) son muy superiores al de la  $T_g$  del PLA.

Tabla 3: Propiedades térmicas de PLA, CS y sus mezclas. Temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ), temperatura de cristalización ( $T_c$ ), temperatura de fusión ( $T_f$ ) entalpía de fusión ( $\Delta H_f$ ) y porcentaje de cristalinidad ( $X_c$ ).

Muestra	$T_g$ (°C)	$T_c$ (°C)	$T_f$ (°C)		$\Delta H_f$ (J/g)	$X_c$ (%)
PLA	51.5	116.2	149.1	157.1	30.71	33
PLA90CS10	47.7	105.8	143.9	153.3	29.88	34
PLA80CS20	47.5	106.5	144.0	153.8	20.81	30
PLA70CS30	47.6	93.5	146.5		25.40	55



Adicionalmente, se observó una disminución en la temperatura de cristalización de las mezclas en comparación con el PLA puro. Esto podría indicar que el quitosano actúa como agente nucleante, promoviendo una rápida cristalización del PLA (Bonilla *et al.*, 2013; Correlo *et al.*, 2005). Sin embargo, estas diferencias también pueden ser asociadas con la disminución del peso molecular de PLA. Para el PLA puro se observaron dos picos de fusión. Las mezclas con quitosano presentaron este mismo comportamiento que fue disminuyendo hasta que el pico más pequeño desaparece por completo en la mezcla con mayor contenido de quitosano. Adicionalmente se encontró que el agregado de quitosano produce una disminución en la temperatura de fusión del PLA. Correlo *et al.* (2005), han reportado resultados similares para mezclas de CS con polibutilensuccinato, adipato de polibutilensuccinato y poli(3-hidroxitbutirato) y atribuyen este comportamiento a las fuertes interacciones entre el CS y las cadenas de poliéster, resultando en la formación de cristales de espesor más delgado. Puede considerarse entonces, que la disminución de la  $T_f$  en las mezclas de CS y PLA con el aumento del contenido de CS, se deben a las fuertes interacciones presentes debidas probablemente a la reacción química de compatibilización realizada entre ambas cadenas poliméricas. En cuanto a la cristalinidad del material, se encontró que el aumento de contenido de quitosano produce un aumento en la cristalinidad del mismo, lo que se relaciona con el efecto nucleante de este último en el proceso de cristalización del PLA.

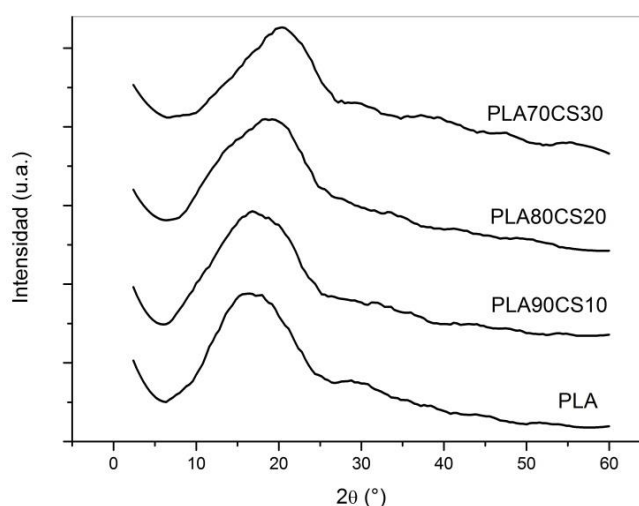


Fig. 6: Patrones de difracción de rayos X de PLA y las mezclas.

La cristalinidad inicial de las muestras se estudió por DRX. Se encontró que todos los materiales presentaron una estructura mayoritariamente amorfa (Figura 6), indicado por la ausencia de los picos de difracción característicos de cada material (Kim, 2010; Ortenzi *et al.*, 2015). La ausencia de picos de difracción puede ser interpretada como una señal de buena compatibilización ya que al haber una fuerte interacción, o unión química en este caso, entre las cadenas de polímero éstas no pueden cristalizar debido a que se encuentran muy bien mezcladas y los dominios de ambos polímeros se forman muy escasamente (Sakurai *et al.*, 2000; Martel-Estrada *et al.*, 2010).

En la Figura 7 se muestra un experimento representativo referido a los bioensayos de inhibición del crecimiento bacteriano realizados para cada una de las mezclas de PLA-CS (b, c, d) y PLA (a) utilizado como control. La actividad antimicrobiana se visualizó como un halo translúcido propio de la inhibición del crecimiento bacteriano adyacente a la aplicación del films. En el caso de PLA puro, no se observó un halo de inhibición en el crecimiento de *P. syringae*, reflejando que este material no posee actividad antibacteriana.

Se observó un incremento gradual en la formación del halo translúcido a medida que aumenta la concentración de CS en los films, obteniéndose un halo marcadamente translúcido en el film PLA70CS30.

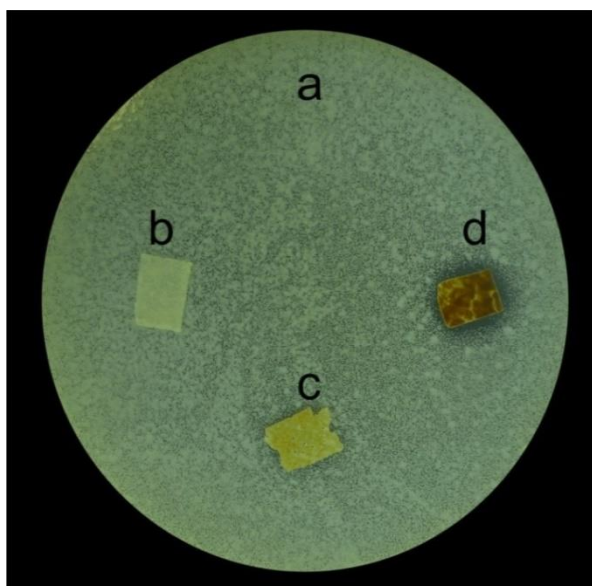


Fig. 7: Actividad antibacteriana de las mezclas PLA-CS sobre *P. syringae*. a) PLA b) PLA90CS10 c) PLA80CS20 y d) PLA70CS30

## CONCLUSIONES

De la caracterización de los films obtenidos se puede concluir que el agente compatibilizante ha reaccionado. Esto se evidencia por la aparición de bandas de grupos amida en los espectros de FTIR de las mezclas de 20 y 30% de CS y la ausencia de la banda de estiramiento del grupo isocianato en todos los casos. En general, se encontró que el aumento del contenido de quitosano en las mezclas da lugar a una mayor heterogeneidad. Este resultado observado por microscopía óptica, junto con los resultados obtenidos por FTIR y DSC, indicaría que las mismas presentan una estructura parcialmente miscible. Adicionalmente, se observó que un aumento en la cantidad de CS empleada produce un descenso en la estabilidad térmica respecto del PLA puro y un aumento en la cristalinidad del material final. El método de procesamiento utilizado condujo a materiales amorfos. Se encontró también que el CS actúa como agente nucleante disminuyendo la temperatura de cristalización del PLA en las mismas. Con relación a su utilización en el área agrícola como acolchado, se encontró que el quitosano presente en los films tiene efectos beneficiosos para la protección de la planta de tomate, relacionados a la actividad antimicrobiana observada contra *p. syringae*. Actualmente se está trabajando para producir un aumento en la compatibilización de ambos polímeros mediante la técnica de mezclado intensivo.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece el soporte financiero del CONICET, la ANPCyT y de la Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMdP).

## REFERENCIAS

1. Bonilla, J., Fortunati, E., Vargas, M., Chiralt, A. & Kenny, J.M. (2013). Effects of chitosan on the physicochemical and antimicrobial properties of PLA films. *Journal of Food Engineering*, 119 (2), 236-243.
2. Briassoulis, D. (2007). Analysis of the mechanical and degradation performances of optimised agricultural biodegradable films. *Polymer Degradation and Stability*, 92 (6), 1115-1132.

3. Carluccio, C., Lenscak, M., Panelo, M., Colombo, M., Cáceres, S., Molina, N., *et al.* (2002). *Desarrollo actual de los cultivos protegidos en la República Argentina. Situación de la Agroplasticultura en Países Iberoamericanos*. Tercera Reunión de Coordinación en Caracas, Venezuela. Cytel, Almería, España. Setiembre, 2002, 30-71.
4. Cecchini, N.M., Monteoliva, M.I. & Alvarez, M.E. (2011) Proline dehydrogenase contributes to pathogen defense in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 155, 1947-1959.
5. Chen, X.G., Kong, M., Cheng, X.J., Dang, Q.F., Zhou, X., Wei, Y.N., *et al.* (2012). Preparation of biocompatible chitosan grafted poly (lactic acid) nanoparticles. *International journal of biological macromolecules*, 51 (3), 221-227.
6. Choi, C., Nam, J.P. & Nah, J.W. (2016). Application of chitosan and chitosan derivatives as biomaterials. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 33, 1-10.
7. Correlo, V.M., Boesel, L.F., Bhattacharya, M., Mano, J.F., Neves, N.M. & Reis, R.L. (2005). Properties of melt processed chitosan and aliphatic polyester blends. *Materials Science and Engineering: A*, 403 (1), 57-68.
8. Costa, R., Saraiva, A., Carvalho, L. & Duarte, E. (2014). The use of biodegradable mulch films on strawberry crop in Portugal. *Scientia Horticulturae*, 173, 65-70.
9. Finkenstadt, V.L. & Tisserat, B. (2010). Poly (lactic acid) and Osage Orange wood fiber composites for agricultural mulch films. *Industrial crops and products*, 31 (2), 316-320.
10. Han, Y.S., Lee, S.H., Choi, K.H. & Park, I. (2010). Preparation and characterization of chitosan–clay nanocomposites with antimicrobial activity. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 71 (4), 464-467.
11. Kim, S.K. (Ed.). (2010). *Chitin, chitosan, oligosaccharides and their derivatives: biological activities and applications*. CRC Press.
12. Lahalih, S.M., Akashah, S.A. & Al-Hajjar, F.H. (1987). Development of degradable slow-release multinutritional agricultural mulch film. *Industrial & engineering chemistry research*, 26 (11), 2366-2372.
13. Lewandowska, K. (2009). Miscibility and thermal stability of poly (vinyl alcohol)/chitosan mixtures. *Thermochemica Acta*, 493 (1), 42-48.
14. Li, C., Moore-Kucera, J., Lee, J., Corbin, A., Brodhagen, M., Miles, C., *et al.* (2014). Effects of biodegradable mulch on soil quality. *Applied Soil Ecology*, 79, 59-69.
15. Li, W., Wang, J., Chi, H., Wei, G., Zhang, J., & Dai, L. (2012). Preparation and antibacterial activity of polyvinyl alcohol/regenerated silk fibroin composite fibers containing Ag nanoparticles. *Journal of Applied Polymer Science*, 123 (1), 20-25.
16. Liling, G., Di, Z., Jiachao, X., Xin, G., Xiaoting, F. & Qing, Z. (2016). Effects of ionic crosslinking on physical and mechanical properties of alginate mulching films. *Carbohydrate polymers*, 136, 259-265.
17. Lim, L.T., Auras, R. & Rubino, M. (2008). Processing technologies for poly (lactic acid). *Progress in polymer science*, 33 (8), 820-852.

18. Martel-Estrada, S. A., Martínez-Pérez, C. A., Chacón-Nava, J. G., García-Casillas, P. E. & Olivas-Armendariz, I. (2010). Synthesis and thermo-physical properties of chitosan/poly (dl-lactide-co-glycolide) composites prepared by thermally induced phase separation. *Carbohydrate Polymers*, 81 (4), 775-783.
19. Martínez-Camacho, A.P., Cortez-Rocha, M.O., Ezquerro-Brauer, J.M., Graciano-Verdugo, A.Z., Rodríguez-Félix, F., Castillo-Ortega, M.M., *et al.* (2010). Chitosan composite films: Thermal, structural, mechanical and antifungal properties. *Carbohydrate Polymers*, 82 (2), 305-315.
20. Meng, F., Dave, V. & Chauhan, H. (2015). Qualitative and quantitative methods to determine miscibility in amorphous drug-polymer systems. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 77, 106-111.
21. Minfeng, Z., Xudong, S., Yun, W., Xiandong, Y., Huiquan, X., Baoyi, W., *et al.* (2008). Correlations between the free-volume properties and the miscibility of chitosan/polar polymers blend membranes. *Radiation Physics and Chemistry*, 77 (9), 1062-1068.
22. Ortenzi, M.A., Basilissi, L., Farina, H., Di Silvestro, G., Piergiovanni, L. & Mascheroni, E. (2015). Evaluation of crystallinity and gas barrier properties of films obtained from PLA nanocomposites synthesized via "in situ" polymerization of l-lactide with silane-modified nanosilica and montmorillonite. *European Polymer Journal*, 66, 478-491.
23. Otey, F.H., Mark, A.M., Mehlretter, C.L. & Russell, C.R. (1974). Starch-based film for degradable agricultural mulch. *Industrial & Engineering Chemistry Product Research and Development*, 13 (1), 90-92.
24. Ōya, A., Banse, T., Ohashi, F. & Ōtani, S. (1991). An antimicrobial and antifungal agent derived from montmorillonite. *Applied clay science*, 6 (2), 135-142.
25. Rabea, E.I., Badawy, M.E.T., Stevens, C.V., Smagghe, G. & Steurbaut, W. (2003). Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. *Biomacromolecules*, 4 (6), 1457-1465.
26. Sakurai, K., Maegawa, T. & Takahashi, T. (2000). Glass transition temperature of chitosan and miscibility of chitosan/poly (N-vinyl pyrrolidone) blends. *Polymer*, 41 (19), 7051-7056.
27. Scarascia-Mugnozza, G., Schettini, E., Vox, G., Malinconico, M., Immirzi, B. & Pagliara, S. (2006). Mechanical properties decay and morphological behaviour of biodegradable films for agricultural mulching in real scale experiment. *Polymer Degradation and Stability*, 91 (11), 2801-2808.
28. Suyatma, N.E., Copinet, A., Coma, V. & Fricoteaux, F. (2010). Compatibilization method applied to the chitosan-acid poly (L-lactide) solution. *Journal of applied polymer science*, 117(5), 3083-3091.
29. Suyatma, N.E., Copinet, A., Legin-Copinet, E., Fricoteaux, F. & Coma, V. (2011). Different PLA grafting techniques on chitosan. *Journal of Polymers and the Environment*, 19 (1), 166-171.
30. Suyatma, N.E., Copinet, A., Tighzert, L. & Coma, V. (2004). Mechanical and barrier properties of biodegradable films made from chitosan and poly (lactic acid) blends. *Journal of Polymers and the Environment*, 12 (1), 1-6.
31. Torres-Huerta, A. M., Palma-Ramírez, D., Domínguez-Crespo, M. A., Del Angel-López, D. & de la Fuente, D. (2014). Comparative assessment of miscibility and degradability on PET/PLA and PET/chitosan blends. *European Polymer Journal*, 61, 285-299.

32. Touchaleaume, F., Martin-Closas, L., Angellier-Coussy, H., Chevillard, A., Cesar, G., Gontard, N., *et al.* (2016). Performance and environmental impact of biodegradable polymers as agricultural mulching films. *Chemosphere*, 144, 433-439.
33. Xie, D.F., Martino, V.P., Sangwan, P., Way, C., Cash, G. A., Pollet, E., *et al.* (2013). Elaboration and properties of plasticised chitosan-based exfoliated nano-biocomposites. *Polymer*, 54(14), 3654-3662.

