



Società Chimica Italiana
Divisione di
Didattica Chimica

VII SCUOLA NAZIONALE DI DIDATTICA DELLA CHIMICA
"GIUSEPPE DEL RE"

La Chimica per uno sviluppo sostenibile e l'educazione civica

Bertinoro (FC), 6 - 9 ottobre 2022

Riciclo & Materie Plastiche

ESTRAZIONE CHITOSANO DA GUSCI DI GAMBERO

Produzione di un film biodegradabile

Anna Maria Madaio

IIS «B. Focaccia» Salerno

Chitina

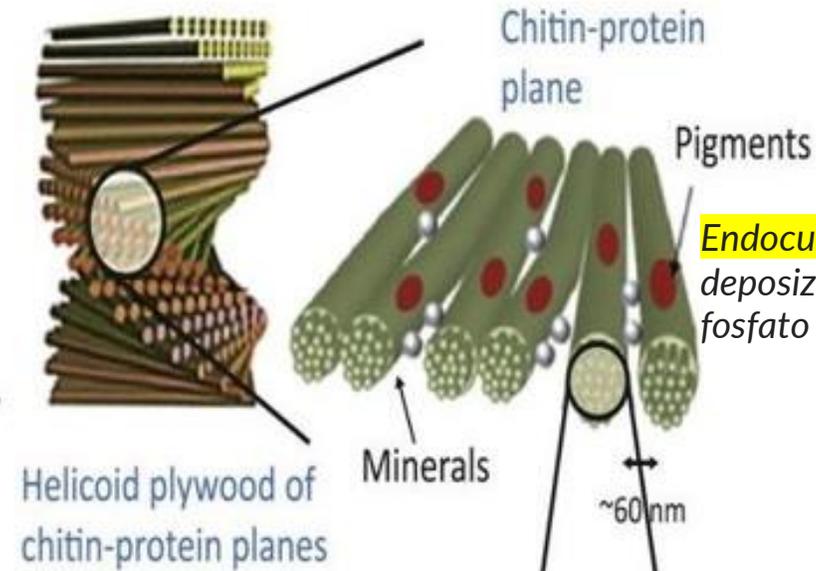
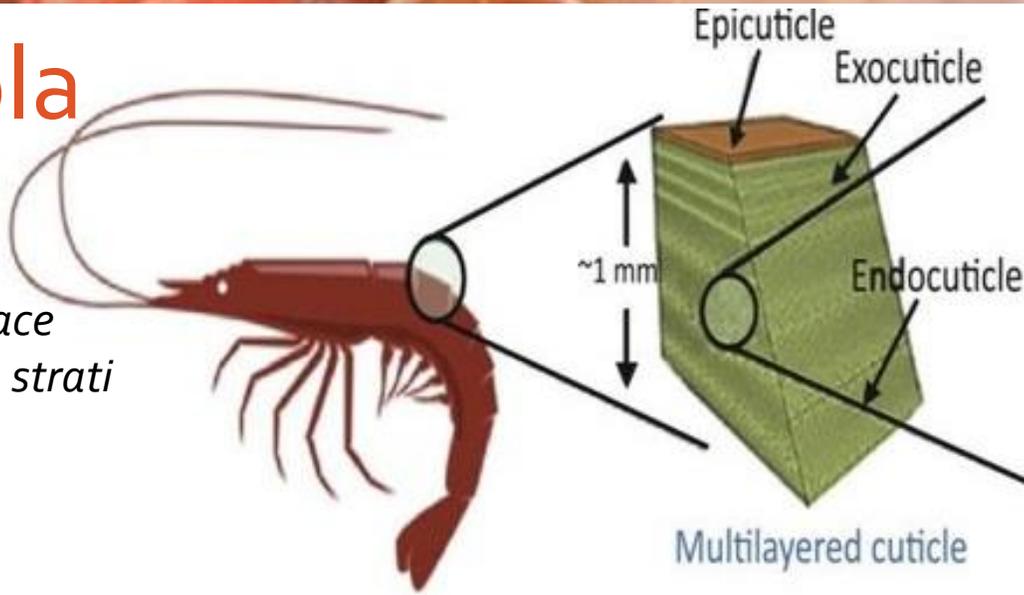
- polisaccaride più abbondante dopo la cellulosa.
- estratta dagli esoscheletri di gamberetti, granchi, aragoste e dalle pareti cellulari fungine .
- polimero altamente insolubile in acqua e nella maggior parte dei solventi organici e quindi scarsamente biodegradabile, con usi e applicazioni limitate.



Cuticola

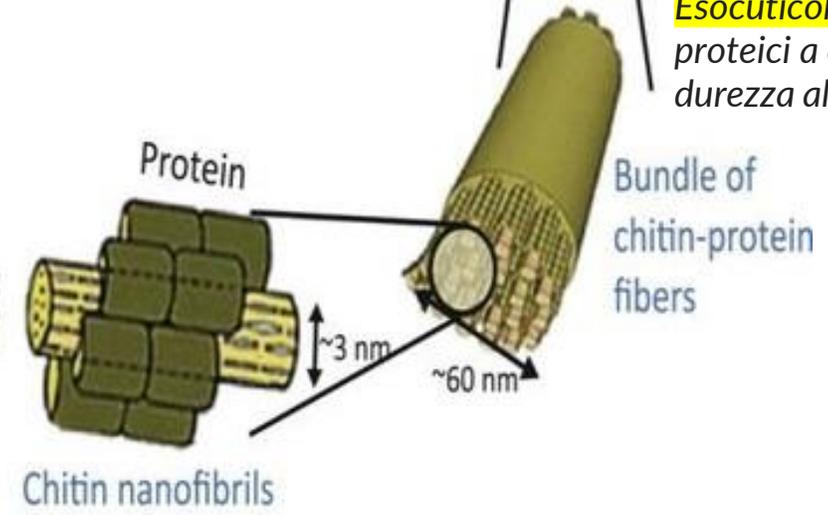
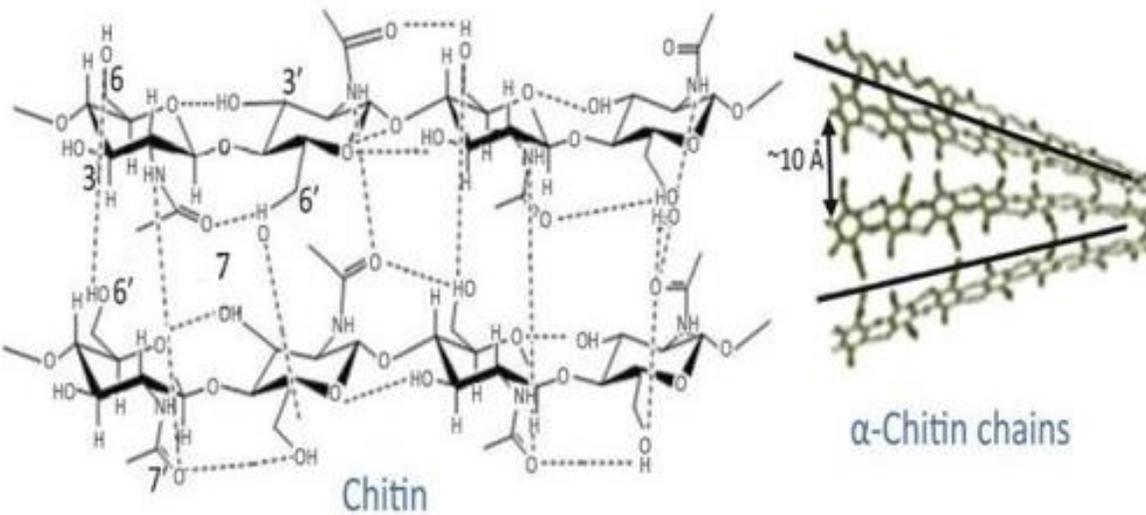
forma il carapace
è formata da 3 strati

Cuticola: costituita per il 30-50% di chitina, una sostanza semirigida e flessibile (in funzione dello spessore) simile alla cellulosa delle piante.



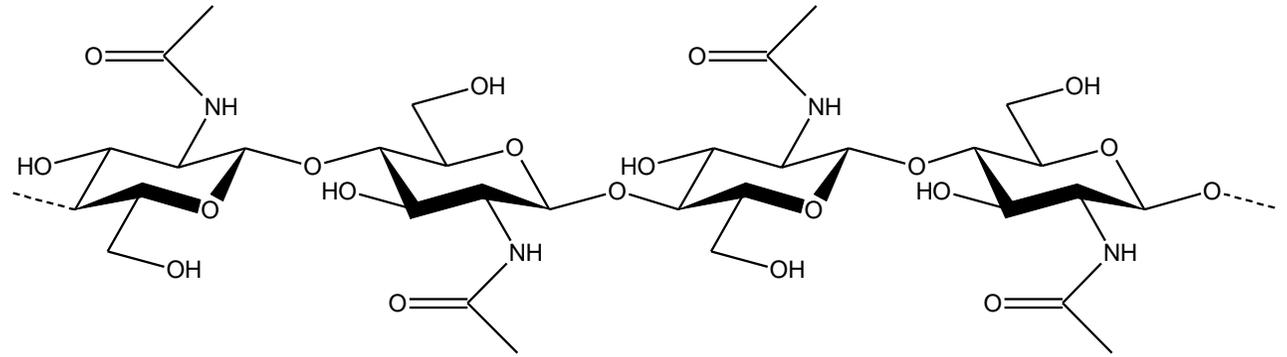
Endocuticola e esocuticola: deposizione di carbonato e fosfato di calcio

Esocuticola: legami proteici a conferire durezza alla cuticola.

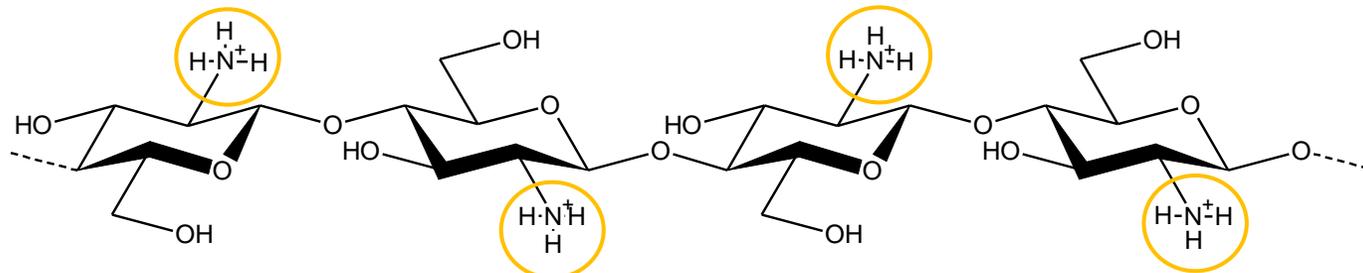


Chitina e Chitosano

Chitina: altamente insolubile in acqua e nella maggior parte dei solventi organici



Chitina: poli- β -1,4-N-acetil-D-glucosamina



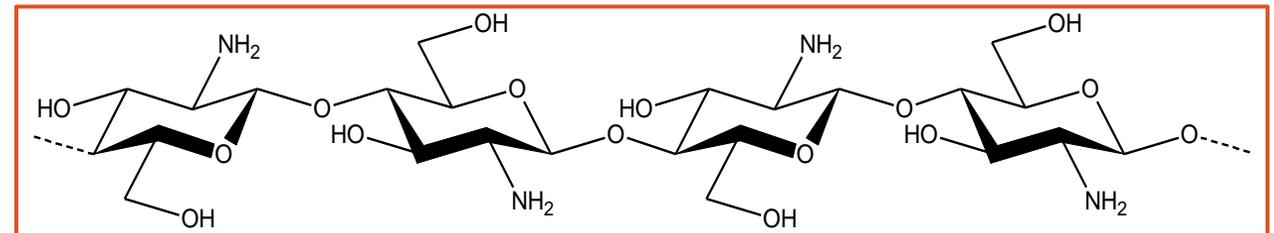
solubile in mezzo acquoso acido
principalmente a pH < 6,0
base debole ($pK_a = 6,3$) a causa della
presenza di gruppi amminici carichi
positivamente



A pH > 6,0 i gruppi amminici dei residui di chitosano
vengono deprotonati e il biopolimero perde la sua
carica portando a un polimero insolubile.

il grado di deacetilazione varia dal 56 al 99%, ma per una buona solubilità del chitosano è
necessaria una deacetilazione almeno dell'85%, raggiungibile con NaOH concentrata

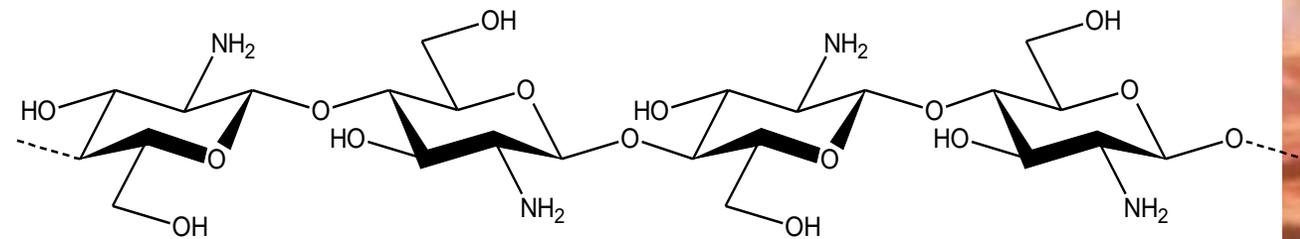
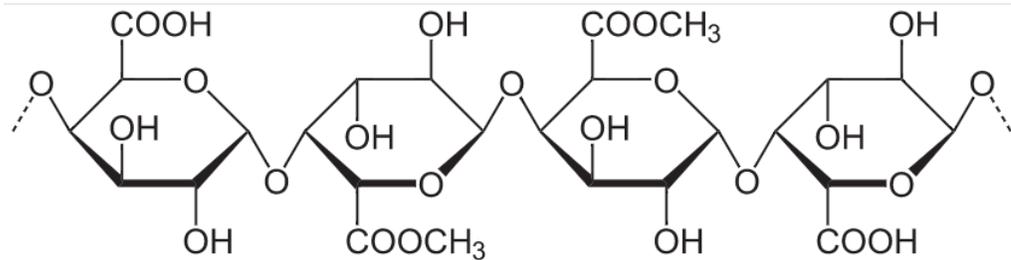
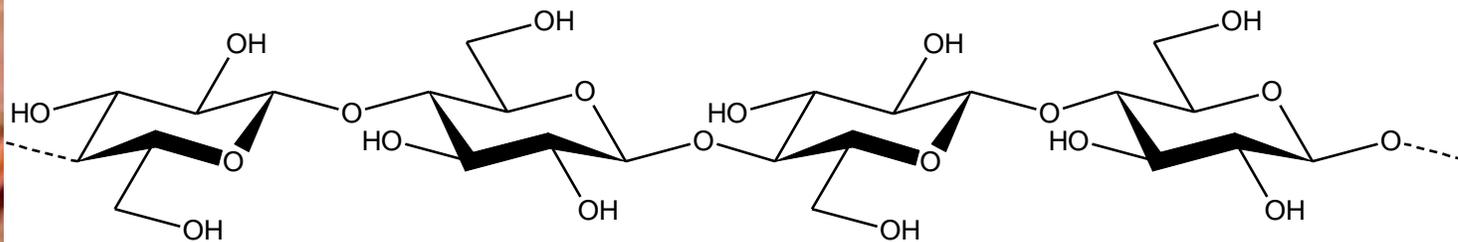
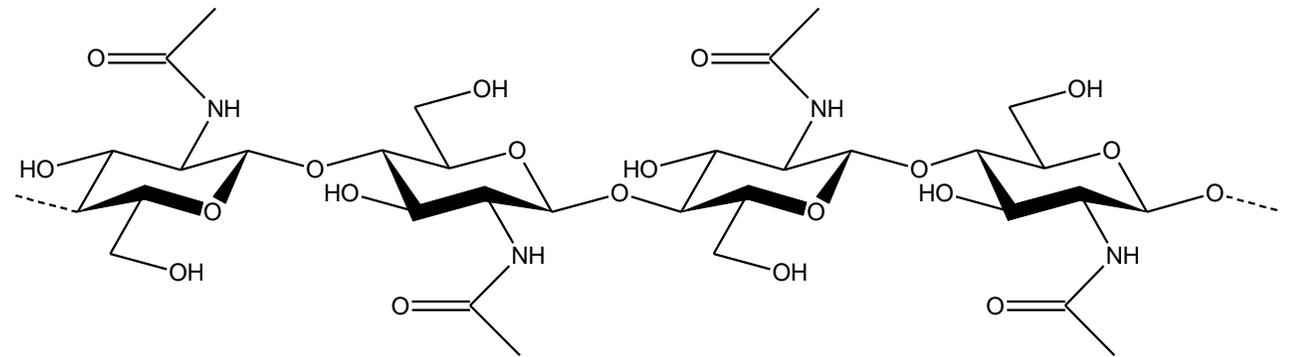
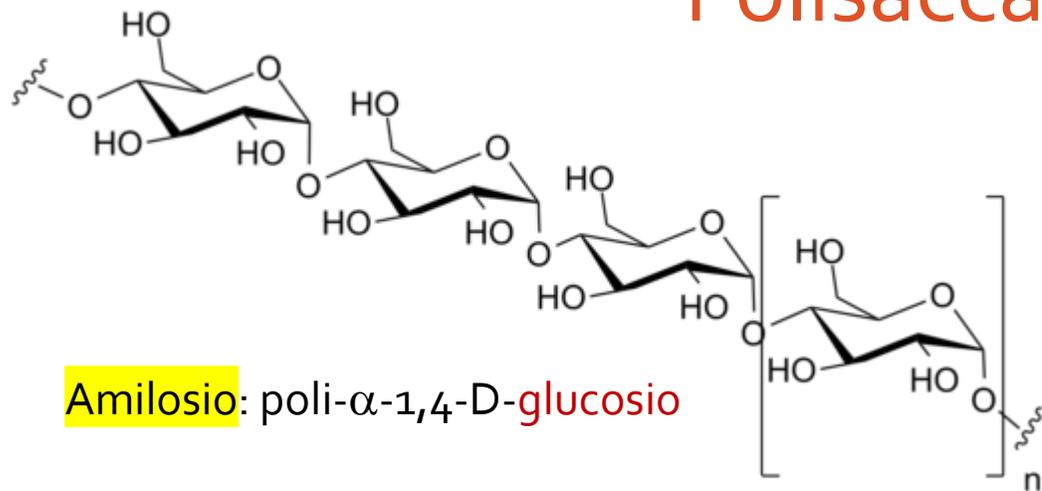
Deacetilazione
(diverso grado di deacetilazione
in base alla concentrazione di
NaOH usata).



Chitosano: poli- β -1,4-D-glucosamina

Chitosano: insolubile in acqua; la sua
solubilità aumenta in soluzioni
acquose acide diluite.

Polisaccaridi a confronto



Proprietà e Applicazioni Chitosano

Altamente biocompatibile grazie alla sua biodegradabilità, bioadesività e bioattività. Atossico e antimicrobico.

Alcune applicazioni

Industria alimentare:

Chiarificazione succhi di frutta per precipitazione delle pectine

Campo biomedico:

Ingegneria dei tessuti, fili da sutura, bende ed anche pelle sintetica (poiché è degradabile dagli enzimi endogeni e non ha effetti allergici)

Campo ambientale:

Chiarificazione delle acque contenenti proteine derivanti dalla lavorazione di frutta, carne, pesce e latte.

Purificazione dell'acqua da metalli pesanti in quanto agente chelante per i metalli. L'affinità del chitosano per gli ioni metallici ha il seguente ordine: $\text{Cr}^{3+} < \text{Co}^{2+} < \text{Pb}^{2+} < \text{Mn}^{2+} \ll \text{Cd}^{2+} < \text{Ag}^+ < \text{Ni}^{2+} < \text{Fe}^{3+} < \text{Cu}^{2+} < \text{Hg}^{2+}$.

Chitosano: attività antimicrobica

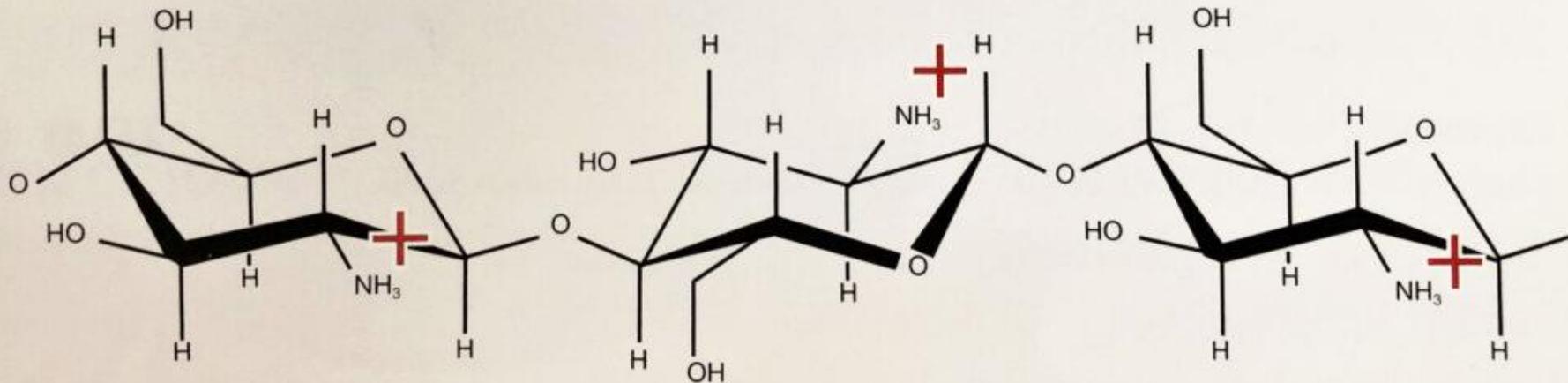
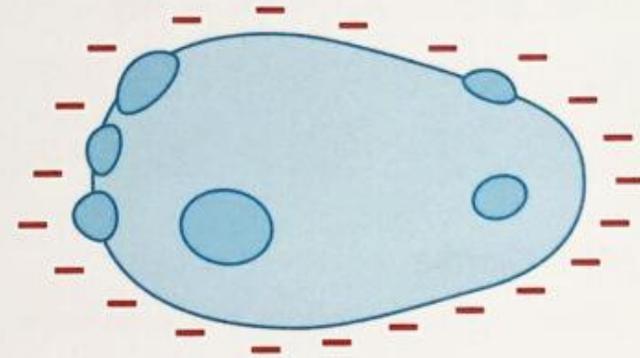
Il chitosano ha un'attività antimicrobica ad ampio spettro contro i batteri Gram-positivi e Gram-negativi

COME FUNZIONA IL CHITOSANO?

A pH del vino (acido): il chitosano ha carica **positiva** i microrganismi hanno carica **negativa**.

Il chitosano si lega con la parete cellulare dei micro organismi provocando:

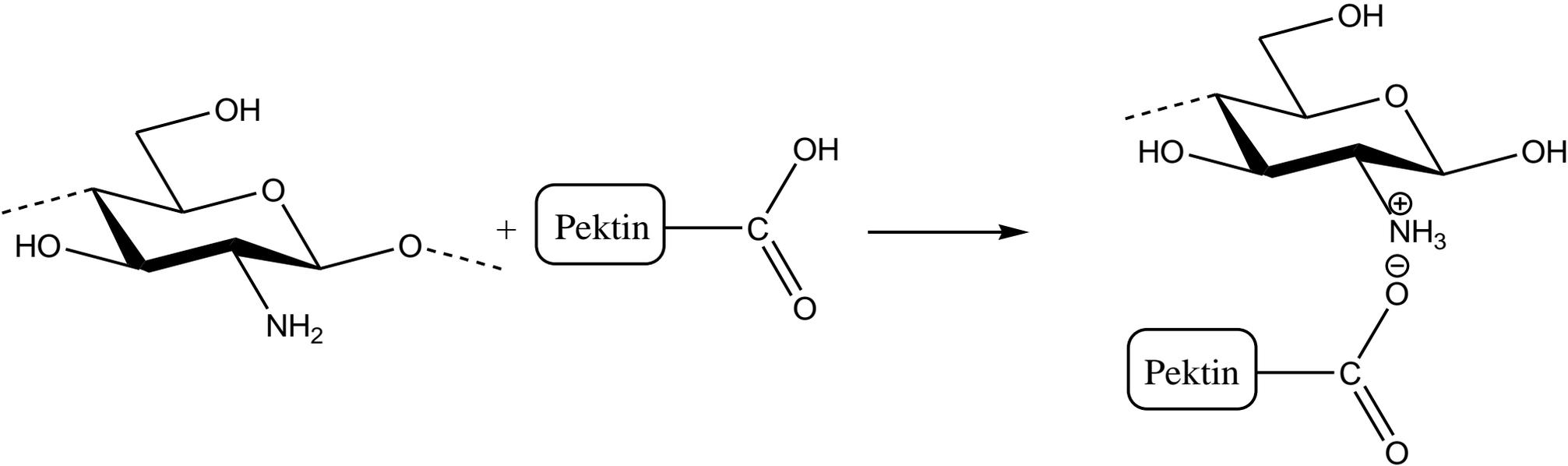
- malfunzionamento della cellula
- precipitazione del complesso chitosano-cellule



Come agisce il Chitosano nel vino? <https://www.youtube.com/watch?v=8-nWwfJx1RE>

Chitosano: agente flocculante

Chiarificazione succhi di frutta per interazione con le pectine





LABORATORIO

Estrazione Chitosano da gusci di gambero

Metodica 1

Metodica 1

Estrazione Chitosano

Reagenti e materiali

Gusci di gamberi: 35 g

HCl 0,1M - 200 mL

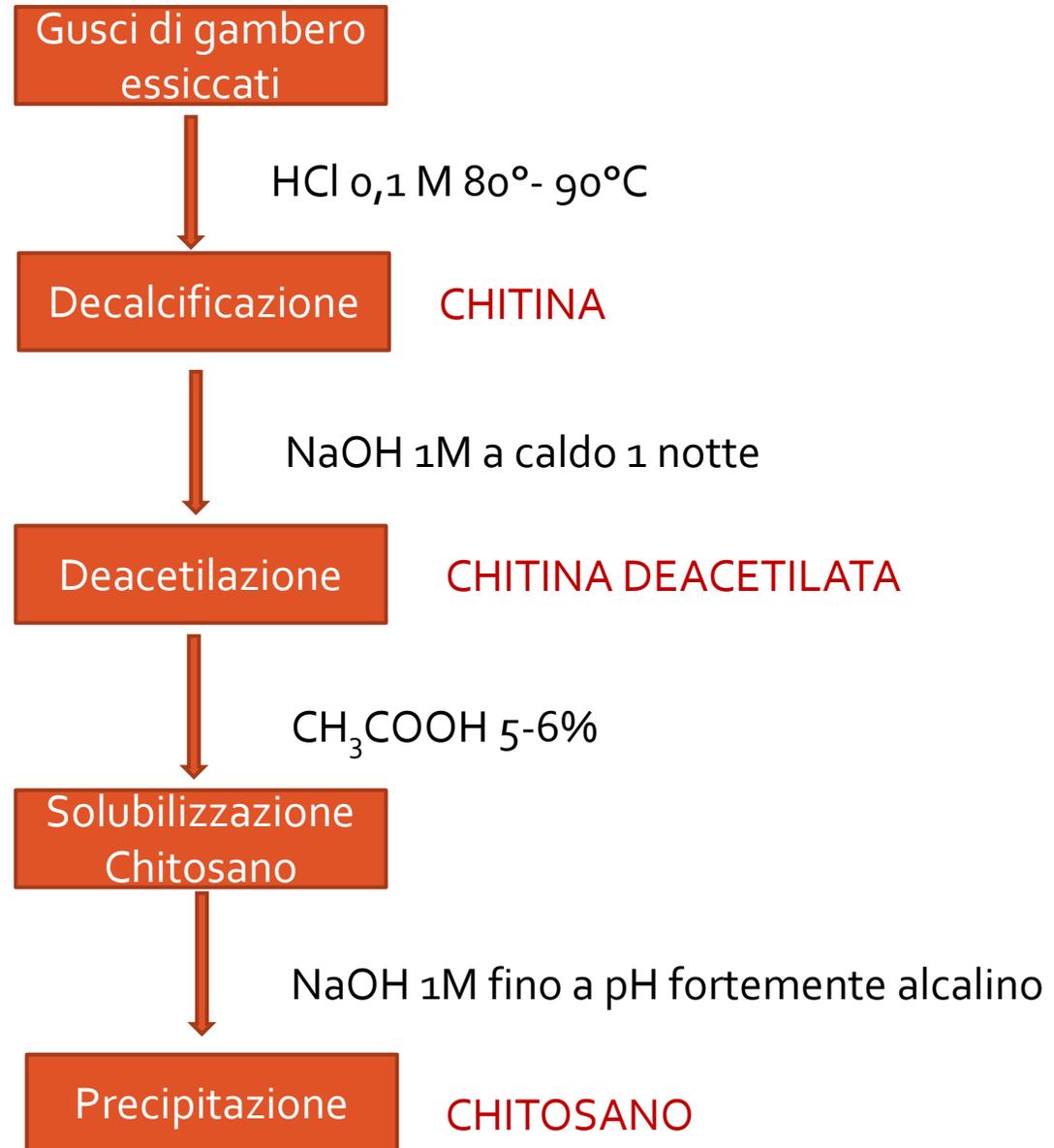
NaOH 1 M – 200 mL + q.b.

CH₃COOH 5-6 % - 100 mL

H₂O distillata

N.B.

35 g di gusci di gambero sono stati ottenuti da 500 g di gamberi freschi



Essiccazione gusci di gambero

35 g di gusci di gamberi, accuratamente lavati, vengono essiccati in stufa alla temperatura di 60°C per 30-60 min oppure all'aria per 1 giorno



Decalcificazione dei gamberi con HCl diluito



Si trasferiscono i gusci in un becher da 400 – 500 ml e si aggiungono, lentamente, circa 200 ml di **HCl 0,1 M**.
Si pone il becher su piastra riscaldante, mantenendo a una temperatura di 80-90 °C per 25-30 minuti.
I gusci decalcificati vengono filtrati e separati dalla soluzione **acida**



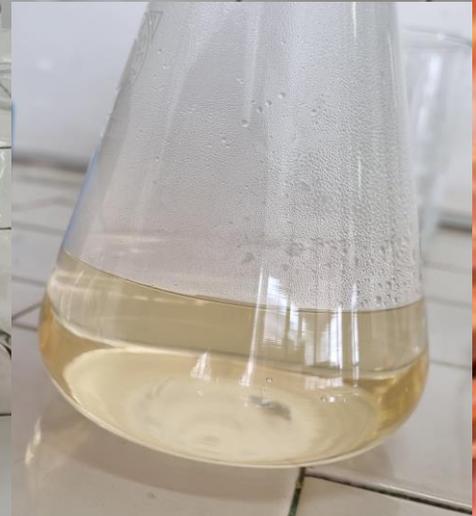
Deacetilazione della chitina

I gusci decalcificati, separati dal filtrato, vengono inseriti in un becher da 400-500 ml, trattati a caldo (80° - 90°C) con 200 ml di **NaOH 1M** per 30 min e lasciati riposare in NaOH per una notte. Dopo il trattamento basico, i gusci vengono filtrati nuovamente



Solubilizzazione del chitosano in acido acetico al 6%

I gusci filtrati vengono trattati a caldo con 100 ml di CH_3COOH al 6% per solubilizzare il chitosano. La miscela ottenuta viene filtrata su filtro a pieghe, ottenendo una soluzione limpida.



Confronto varie fasi

Gusci in ac. acetico

acque da
deacetilazione

acque da
decalcificazione



Produzione di bioplastica

Scopo dell'esperimento è quello di produrre un film plastico in grado di imitare quello prodotto dai gusci dei gamberi.

Reagenti:

Cantori di gamberi: 50g	Campione standard
NaCl 0,1M - 200 ml	Verona standard
NaOH 1M - 200 ml - 4L	Metano 400 ml
CH ₃ COOH 5% - 100 ml	Metano da vuoto
Beaker	Vetro

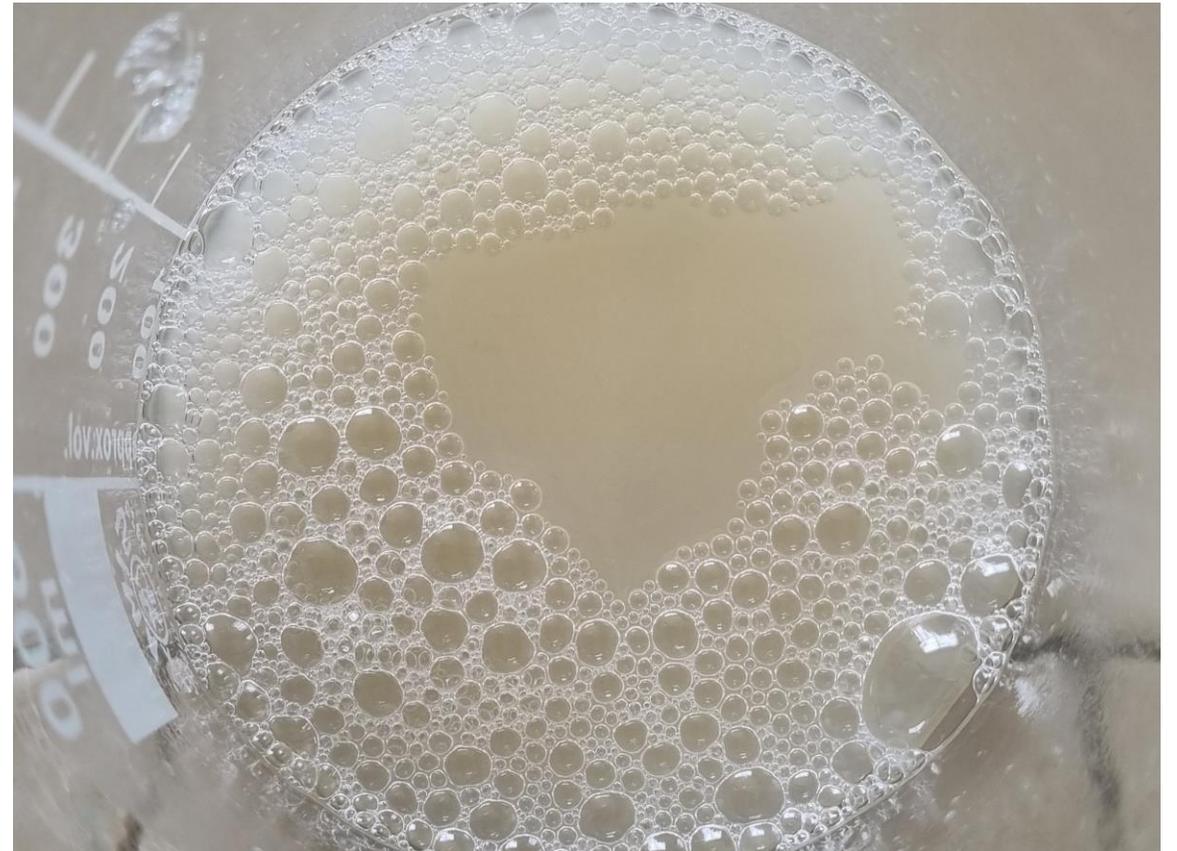
Strumentazione:

- 1° Fase: Emulsione
1 gusci dei gamberi vengono emulsionati in acqua alla temperatura di 40°C per 30-45 min, ripete all'aria per 1 giorno.
- 2° Fase: Decalcificazione dei gamberi con HCl diluito
1 gusci dei gamberi emulsionati vengono trattati a caldo con HCl diluito per eliminare il carbonato di calcio. Si trasferiscono i gusci in un becher da 600 - 800 ml, si aggiungono, lentamente, circa 200 ml di HCl e si pone il becher su piastra riscaldante mantenendo a una temperatura di 50-60°C, per 15-30 minuti.
- 3° Fase: Deacetilazione della chitina
La chitina si trasforma in chitosano per deacetilazione basica. 1 gusci deacetilati vengono trattati e trattati in un becher da 600-800 ml e trattati a caldo, a 70°C, con NaOH 1M per 30 min e lasciati riposare in NaOH per una notte.
- 4° Fase: Solubilizzazione del chitosano in acido acetico al 5%
Dopo il trattamento con NaOH, il chitosano viene filtrato ed i gusci vengono trattati con 100 ml di acido acetico 1M dove il chitosano si solubilizza.

Precipitazione del chitosano con NaOH 1M



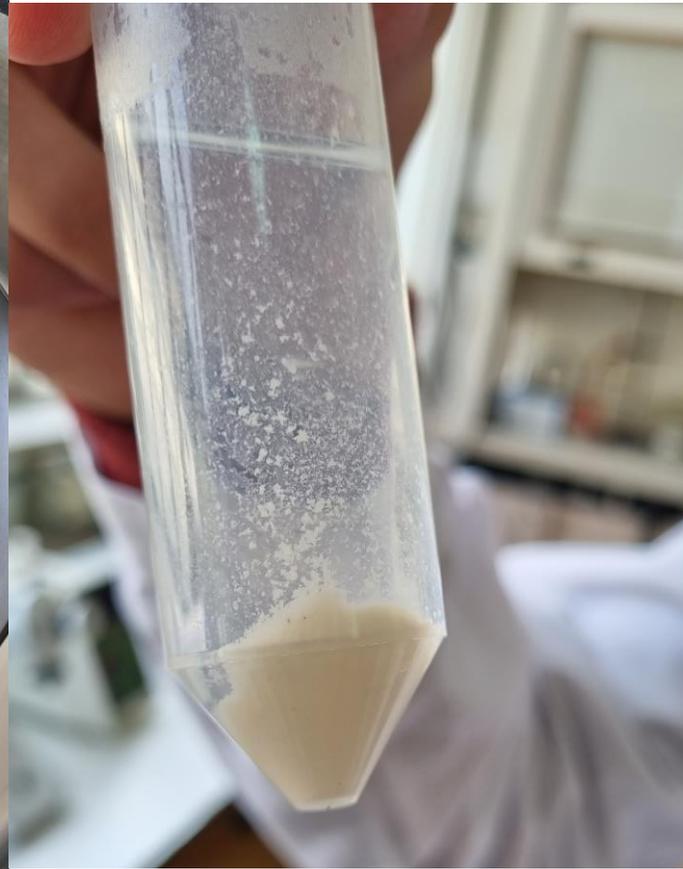
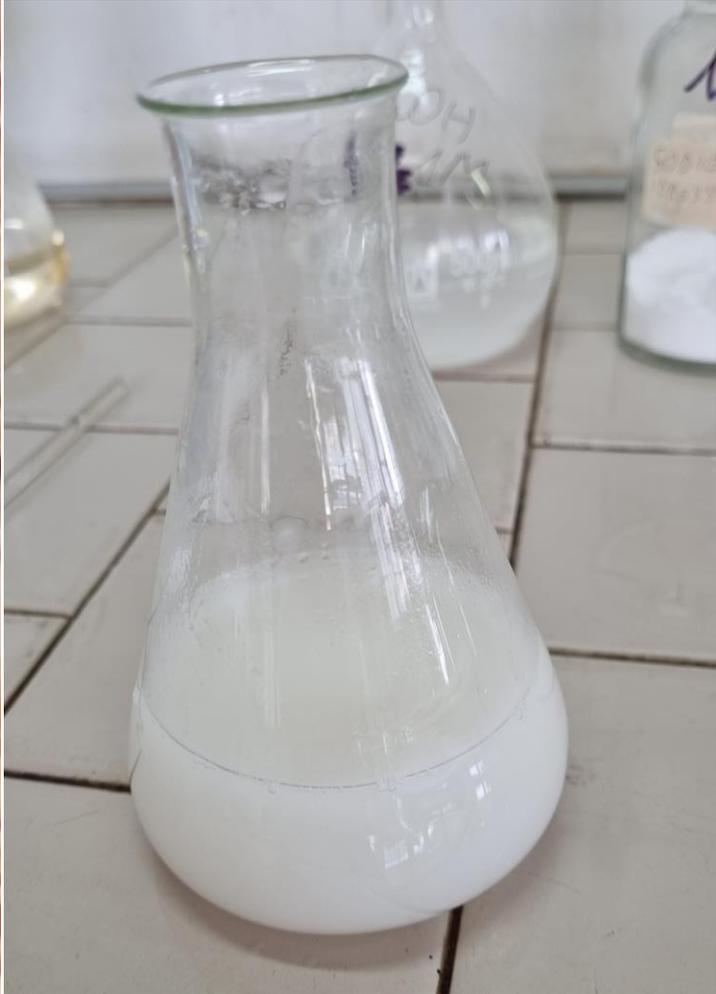
Il filtrato, limpido, contenente chitosano viene trattato con **NaOH 1 M** goccia a goccia fino ad ottenere un pH fortemente basico, valore al quale precipita il chitosano.



Recupero del chitosano 1

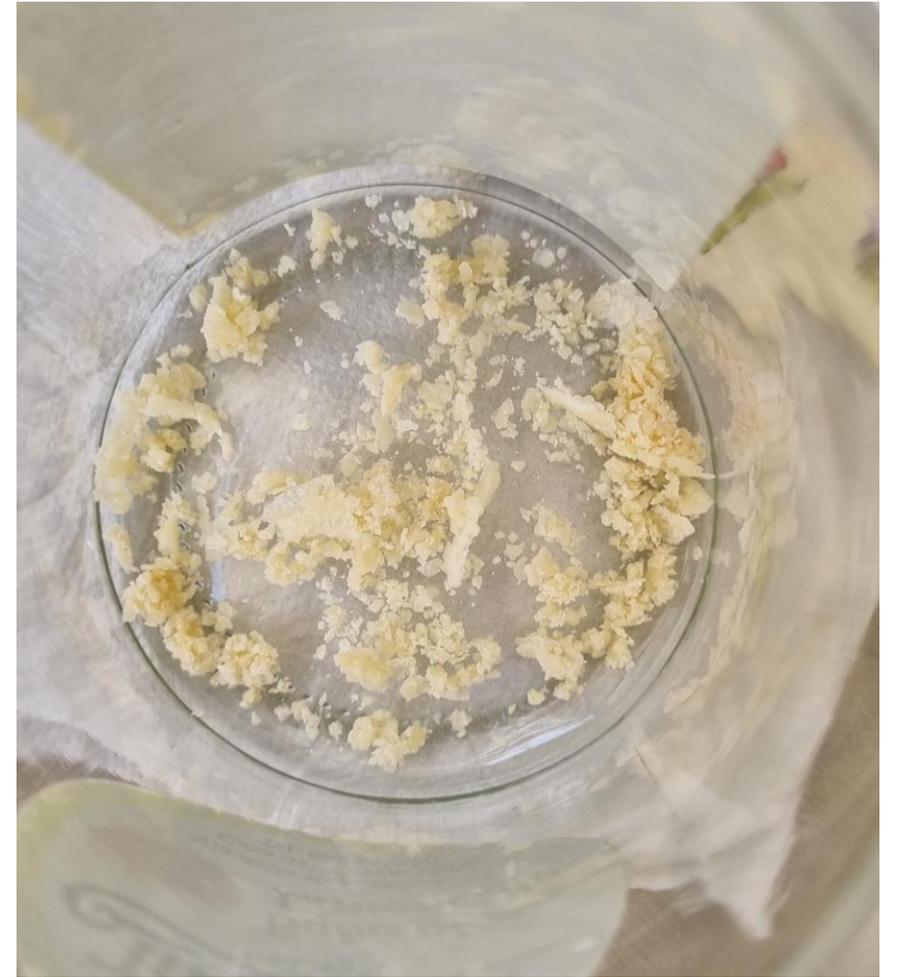
La sospensione ottenuta viene centrifugata a 4000 giri per 5 min. Il residuo di chitosano viene più volte lavato con acqua distillata e poi centrifugato fino a raggiungere pH neutro.

Allontanato il surnatante, il chitosano viene recuperato e essiccato al sole o temp ambiente.



Recupero del chitosano 2

La sospensione bianca viene distribuita in capsule di Petri e messa ad essiccare all'aria o al sole.
Si ottiene un residuo solido formato da Chitosano e NaOH.



Recupero del chitosano 2

Il residuo di chitosano e NaOH viene più volte lavato con H₂O distillata fino a pH neutro e poi filtrato per tela. Successivamente il residuo viene essiccato al sole o a temperatura ambiente.



Confronto varie fasi

Soluzione di
chitosano in CH_3COOH

Precipitato di
chitosano in NaOH

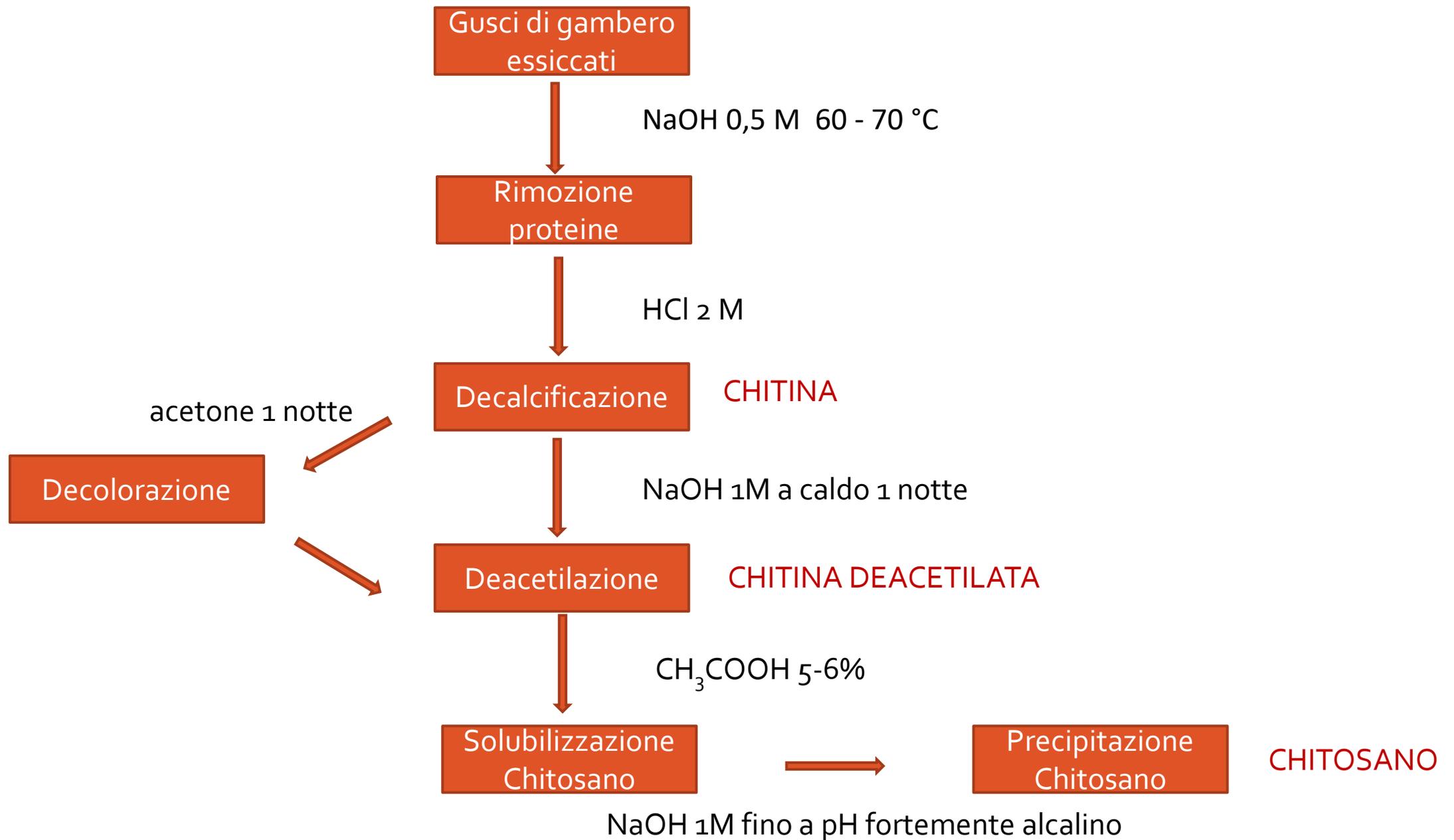




LABORATORIO

Estrazione Chitosano da gusci di gambero

Metodica 2



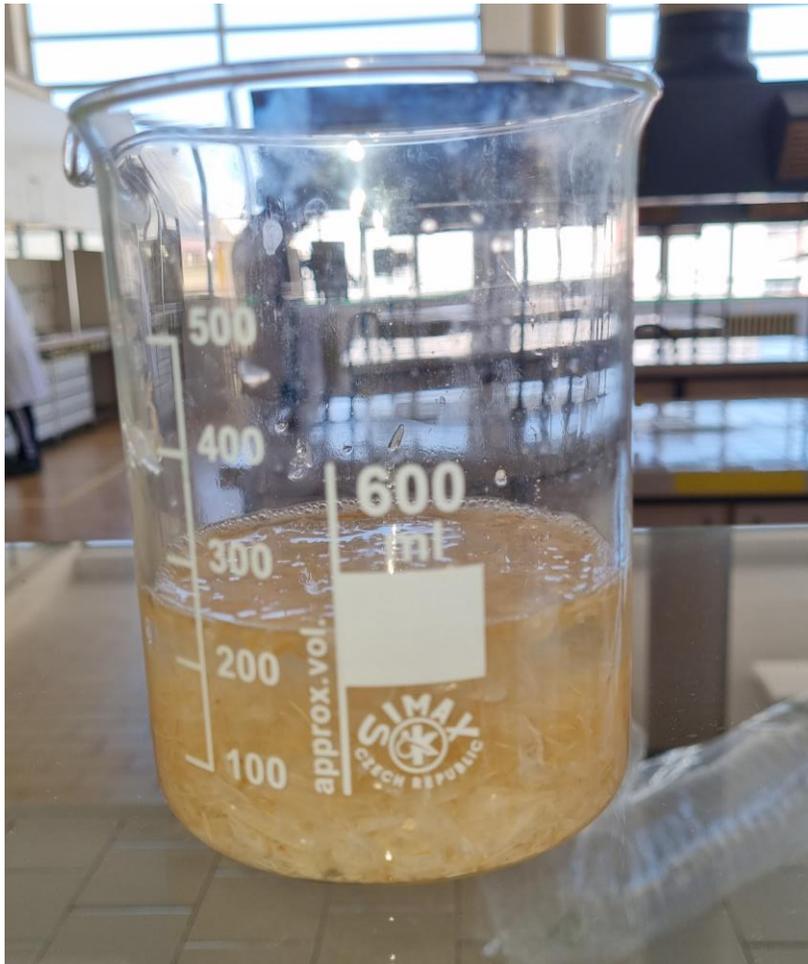
Rimozione delle proteine

15 g di gusci essiccati vengono macinati in un mortaio e trasferiti in un becher. Si aggiungono 250 ml di soluzione di **NaOH 0,5 M** e si scalda la miscela sotto agitazione a 60 - 70 °C per mezz'ora. I gusci vengono filtrati e il processo può essere ripetuto nuovamente. I gusci possono anche essere lasciati in NaOH per una notte.



Rimozione del carbonato di calcio

250 ml di **HCl 2 M** vengono aggiunti lentamente ai gusci residui. La miscela viene mescolata a temperatura ambiente fino a quando non c'è più sviluppo di gas.



Successivamente, la miscela viene filtrata e il residuo viene lavato con acqua distillata fino a neutralità e poi messo a essiccare in stufa per una notte a 40°C



Chitina: resa e aspetto

15 g di gusci di gamberi essiccati hanno prodotto **2,70 g di chitina**, corrispondenti a una **resa del 17,6%**.

La chitina isolata si presenta soffice, tanto più incolore quanto più efficace (ripetuto) è il precedente processo di pulizia e idrolisi delle proteine.



Decolorazione Chitina

50 mg di Chitina vengono decolorati a temperatura ambiente in 30 mL di **acetone** per una notte.

Successivamente si filtra sotto vuoto, o per gravità, e si lascia seccare il residuo



Deacetilazione della Chitina

1,80 g di chitina vengono trattati a caldo per 30 min con 200 mL di **NaOH 1 M** e lasciati nella soluzione basica per una notte. Successivamente si filtra la miscela per tela e si lascia seccare in stufa a 40°C il prodotto formato da chitina deacetilata (parzialmente).



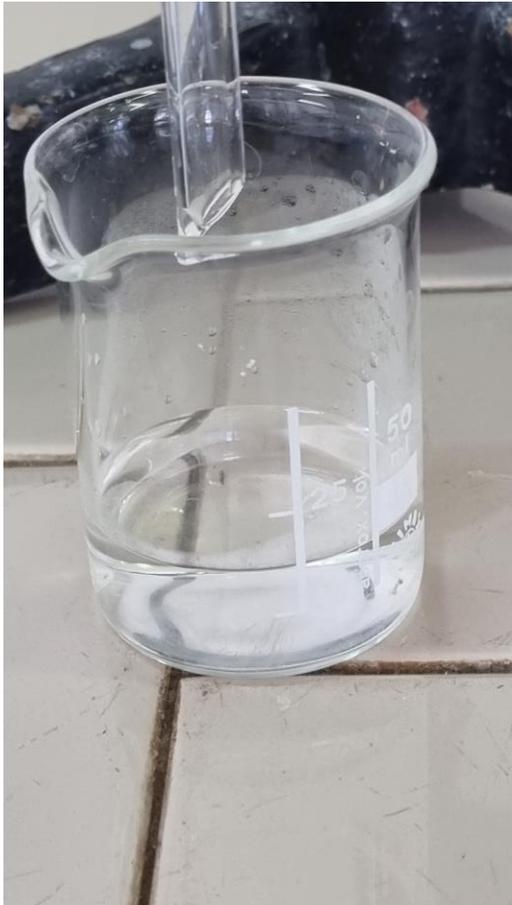
Trattamento residuo chitina deacetilata

0,6 g di chitina deacetilata vengono trattati a caldo con 20 mL di CH_3COOH al 6%.

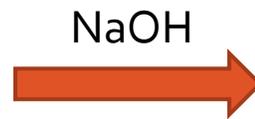
Solo la frazione maggiormente deacetilata si solubilizza in acido acetico. Si filtra e il residuo viene recuperato e essiccato in stufa



Trattamento filtrato contenente chitosano



Al filtrato viene aggiunto **NaOH 1 M** goccia a goccia fino a pH fortemente basico, al quale si nota un piccolo (per le quantità usate) precipitato di chitosano. La miscela viene centrifugata e si recupera il chitosano



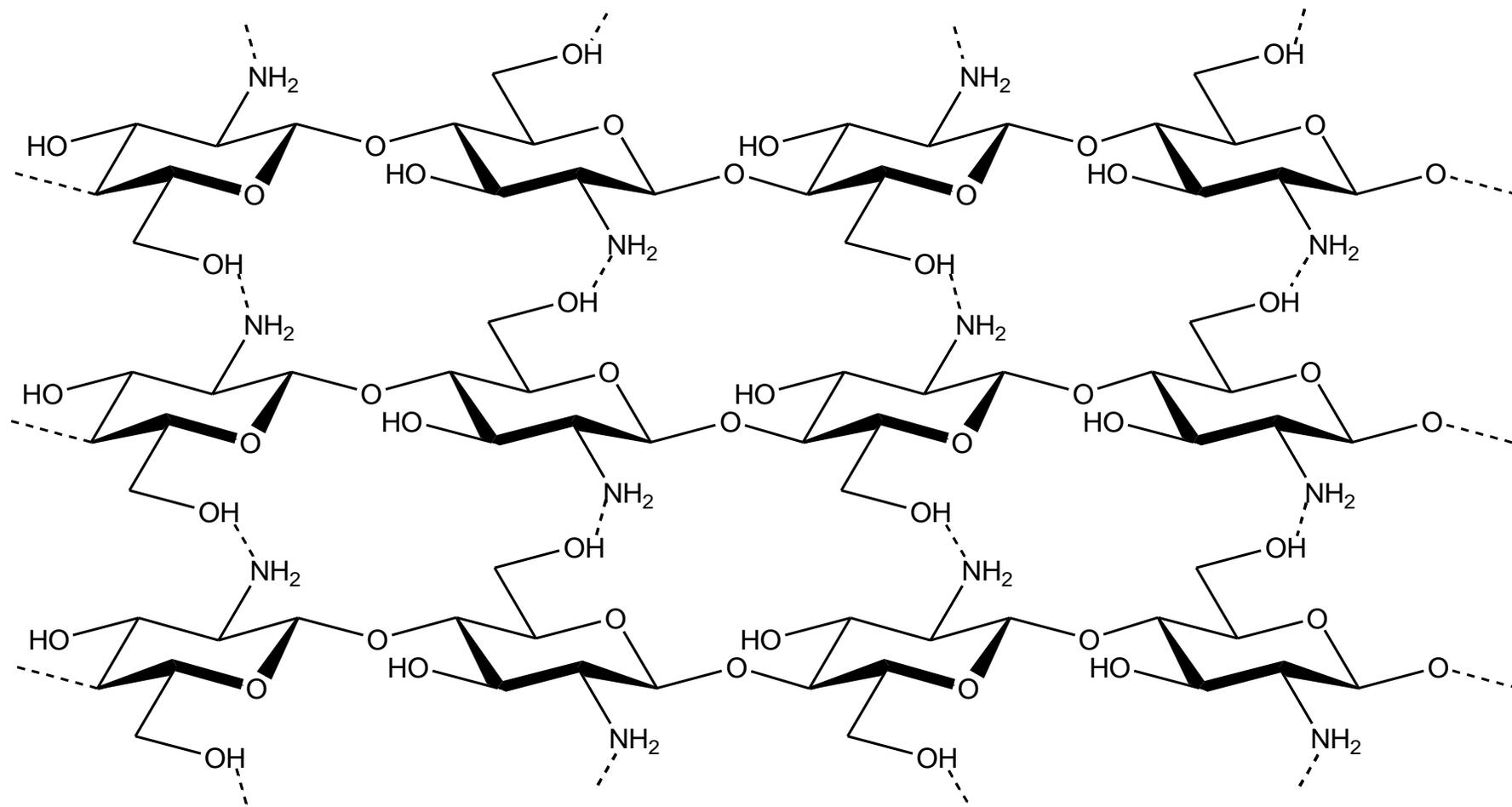


LABORATORIO

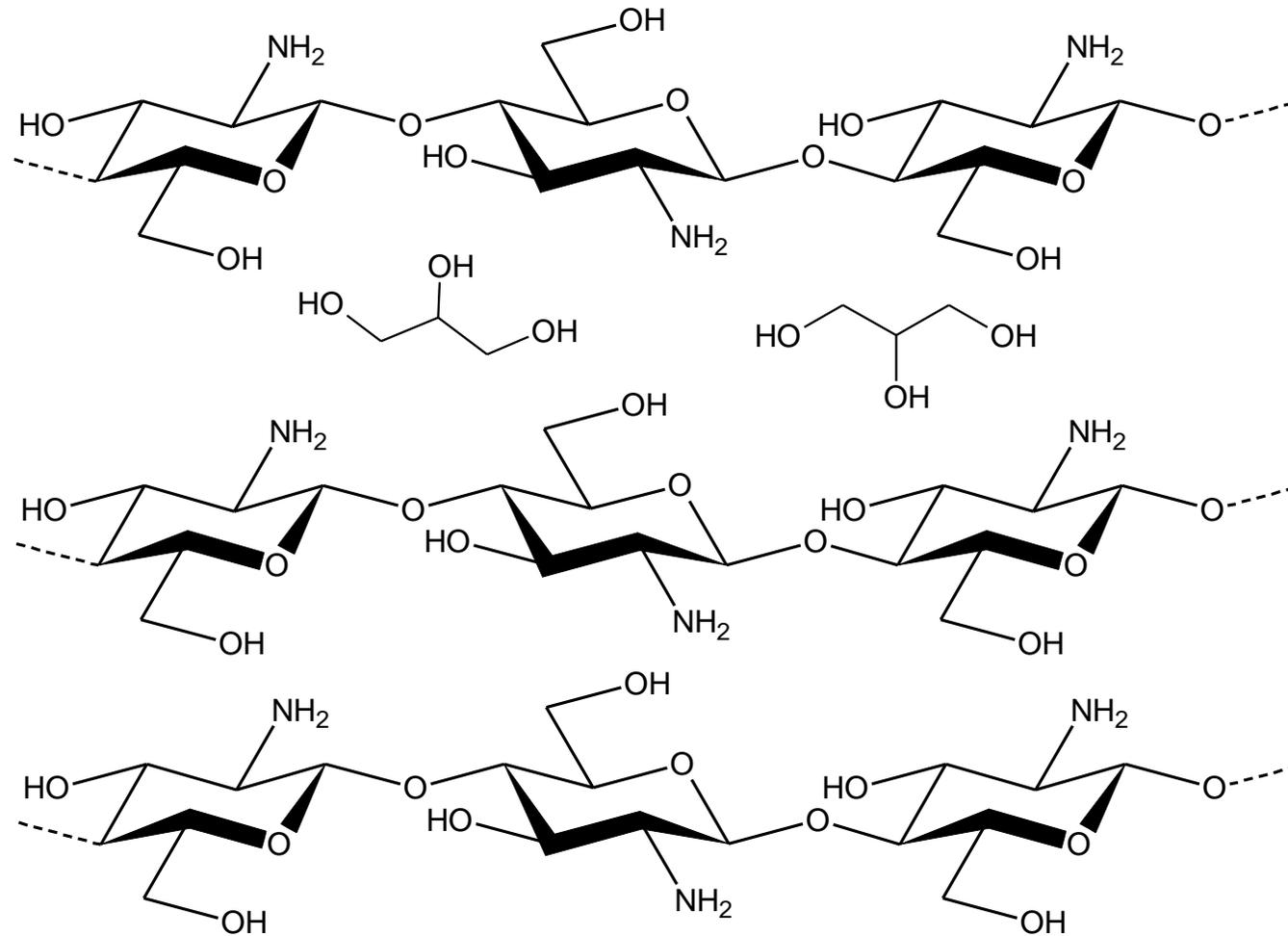
Produzione di biofilm

Poiché il chitosano ha la capacità di formare film, può essere utilizzato per produrre film biodegradabili per imballaggi alimentari con proprietà antibatteriche

Chitosano

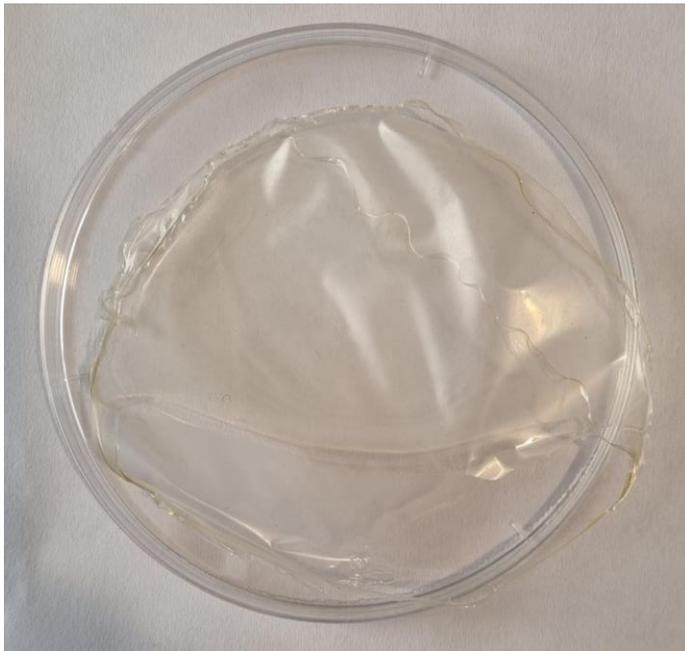


Chitosano e glicerina



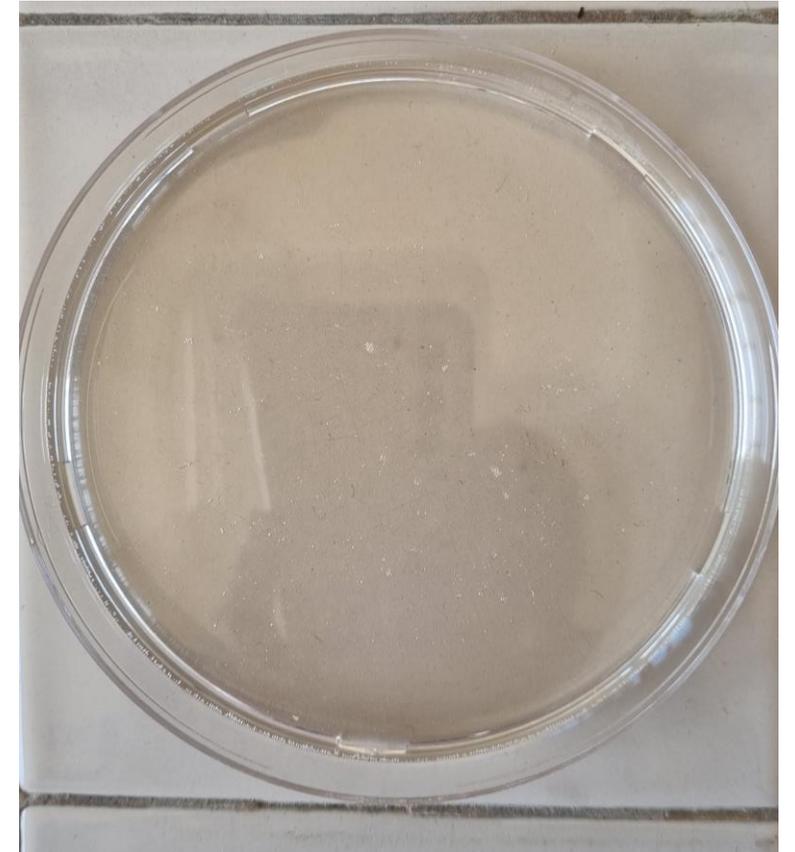
Preparazione biofilm di chitosano in ac. acetico 1

In un becher da 200 mL , vengono inseriti **3 g di chitosano** e **100 ml di acido acetico al 6%**. Con un leggero riscaldamento e mescolando, il chitosano viene sciolto. La soluzione viene versata attraverso un colino in una o più capsule di Petri e lasciata essiccare a T ambiente. Si ottiene un film trasparente.



Preparazione biofilm di chitosano in ac. acetico 2

- In un becher da 50 mL , vengono inseriti **0,6 g di chitosano** e **20 ml di acido acetico al 6%**. Con un leggero riscaldamento e mescolando con una bacchettina di vetro, il chitosano viene sciolto. La soluzione viene versata attraverso un colino in una capsula di Petri e lasciata essiccare a T ambiente.



Preparazione biofilm di chitosano in ac. acetico 2

- Si ottiene un film trasparente.



Preparazione biofilm di chitosano e glicerina

Inserire in un becher da 50 mL, **0,6 g di chitosano**, **20 ml di acido acetico al 6%** e **1 goccia di glicerina**. Con un leggero riscaldamento e mescolando con una bacchettina di vetro, il chitosano viene sciolto. La soluzione viene versata attraverso un colino in una capsula di Petri e lasciata essiccare a T ambiente. Si ripete con **2,3,4 e 5 gocce di glicerina** ottenendo film di diversa plasticità.



Conclusioni

- A differenza delle altre bioplastiche (derivate per lo più da prodotti agricoli come amido di mais, grano e tapioca) quella derivata dalla chitina non richiede sfruttamento di terreno e risorse dedicate, infatti la materia di partenza sono i rifiuti della produzione alimentare.
- Questo materiale dunque risponde perfettamente ai principi dell'economia circolare, che è la direzione verso cui i paesi più industrializzati, ma anche quelli in via di sviluppo, dovrebbero andare per tutelare il pianeta e garantire un futuro alle prossime generazioni.
- Per fare ciò è sicuramente ancora necessario investire molto in ricerca e perfezionare le tecnologie, soprattutto per abbassare i costi di produzione.

Riferimenti

- *J. Chem. educ.* 2015 , 92 , 11 , 1882–1885
- *Open Journal of Organic Polymer Materials*, 2018, 8, 33-42
- *Molecole* 2020 , 25 (17), 3981

*Le attività di laboratorio sono state condotte in collaborazione col prof. **Salvatore Ruggiero**,
Insegnante Tecnico Pratico di Laboratorio di Chimica Organica*