



PREPARACION Y CARACTERIZACIÓN DE ALGUNOS DERIVADOS DEL QUITOSANO

¹Héctor E. Montenegro M., ²Denis Vega M. ³Aelim Hernández M.

¹Universidad de Panamá, Facultad de Ciencias Naturales Exactas y Tecnología, Panamá,
Panamá

hector.montenegro5@gmail.com

²Universidad de Panamá, Facultad de Ciencias Naturales Exactas y Tecnología, Panamá,
Panamá

³Universidad de Panamá, Facultad de Ciencias Naturales Exactas y Tecnología, Panamá,
Panamá

RESUMEN

Se prepararon algunos derivados a partir de quitosano extraído de cascará de camarón con peso molecular de $7,14 \times 10^5$ g/mol. El primero de estos derivados fue el carboximetilquitosano que se preparó por adición de ácido monocloroacético al quitosano dando un producto con peso molecular de $17,97 \times 10^5$ g/mol y grado de desacetilación 2.79 %, el cual fue caracterizado por Espectroscopía Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR).

También se *aciló* el quitosano a través de una reacción con cinamaldehído obteniéndose N-Acil-quitosano como producto, el cual se caracterizó por pruebas de solubilidad y FTIR, con la cual se determinó la formación del producto.

Se realizó el entrecruzamiento de quitosano con alcohol polivinílico y se caracterizó por FTIR y por su morfología superficial usando microscopía electrónica de barrido de electrones (SEM). Adicionalmente, se les determinó la biodegradabilidad como una alternativa eco-amigable y como material de manufactura. En estas pruebas se tomó en cuenta la pérdida de peso de la muestra, espesor y diámetro demostrando que la muestra del quitosano entrecruzado con alcohol polivinílico se degrada a una velocidad menor que la muestra sin entrecruzar.

Por otro lado, también se prepararon hidrogeles por entrecruzamiento de quitosano y alcohol polivinílico seguido de entrecruzamiento con etilenglicol diglicil éter (Q-EDGE-PVA), los cuales fueron caracterizados por espectroscopía infrarrojo y por su morfología superficial usando microscopía electrónica de barrido de electrones (SEM).

PALABRAS CLAVES

Quitosano, carboximetilquitosano, N-acilquitosano, hidrogeles Q-EDGE-PVA

INTRODUCCIÓN

El quitosano o β -(1,4)-2-amino-2-desoxi-D-glucosa, es un polímero catiónico lineal, insoluble en muchos solventes, biodegradable, no tóxico, de alto peso molecular, de fácil aplicación y ambientalmente amigable (Parada *et al.*, 2004).

Se han realizado múltiples estudios en relación a la alta aplicabilidad del quitosano y sus derivados, así como su acoplamiento con agentes plastificantes para el mejoramiento de la calidad de vida del ser humano, ya que, es un polímero biodegradable, amigable con el medio ambiente, de muy bajo coste, de fácil obtención, excelente agente quelante, de alto peso molecular, polielectrólito catiónico (Velásquez, 2008).

Se han encontrado aplicaciones al quitosano en la industria agrícola, cosmetológica, alimenticia, farmacéutica, médica, textil y más en base a sus características que hacen del quitosano una especie química prometedora para la disminución de la contaminación de los suelos por el uso de pesticidas, de la disminución de la materia orgánica en aguas residuales de origen industrial por su acción de agente floculante, usado como recubrimiento de alimentos perecederos alargando su vida útil, en la ingeniería de tejidos para la regeneración de tejido óseo y epitelial, opción eco-amigable en la producción de plásticos biodegradables de uso doméstico, como abono foliar y fungicida orgánico (Bautista *et al.*, 2005).

Se han sintetizado distintos adsorbentes basados en dos polímeros de origen natural, el alginato sódico y el quitosano, para determinar su capacidad de adsorción de diferentes iones metálicos: Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cr^{3+} y Co^{2+} , que pueden estar presentes en efluentes acuosos. Experimentalmente se ha visto que el pH de adsorción óptimo es ligeramente ácido ($\sim 4-5,5$) para todos los cationes metálicos estudiados. Para el Cu^{2+} , el más adecuado ha sido el formado por quitosano entrecruzado con etilenglicoldiglicidil éter (Díaz, *et al.*, 2007).

Se ha desarrollado un nuevo tipo de hidrogel supramolecular mediante polimerización *in situ* de ácido acrílico y acrilamida en la solución acuosa de quitosano. Los hidrogeles obtenidos exhibieron buenas propiedades mecánicas, con una excelente resistencia a la fatiga y una alta tenacidad, resistencia a las fuerzas de tracción y alargamiento. Además, los hidrogeles obtenidos se pueden usar para adsorber iones metálicos en el agua. (Li *et al.*, 2016).

El objetivo del presente trabajo fue obtener algunos derivados de quitosano como carboximetilquitosano, N-Acil quitosano e hidrogeles producto del entrecruzamiento de

quitosano con alcohol polivinílico y etilenglicol diglicil éter, junto a su caracterización. Además, se determinó la biodegradabilidad de las láminas entrecruzadas del polímero con alcohol polivinílico.

PARTE EXPERIMENTAL

- Obtención de carboximetilquitosano (CMQ)

Se pesaron 2,5 gramos de NaOH y se disolvieron en una mezcla de 40 mL de isopropanol y 10 mL de agua destilada, quedando dos fases, a esta mezcla se le añadieron 2,5 gramos de quitosano y se dejó en agitación constante por una hora a temperatura ambiente. Paralelo a esto, se disolvieron 4 gramos de ácido monocloroacético en 10 mL de isopropanol. Luego de una hora de mezclado de la primera disolución se le adicionó a la segunda disolución gota a gota por aproximadamente 30 minutos. Terminado esto, se colocó en un sistema de reflujo por 4 horas a 62°C y se detuvo la reacción con la adición de 50 mL de etanol al 80 %. El sólido se filtró al vacío y se guardó en un desecador.

- Obtención de N- Acil quitosano

Se disolvió un gramo de quitosano en 35 mL de ácido acético al 1 %, después se le agregaron 2 mL de cinamaldehído a temperatura ambiente. La mezcla se mantuvo en agitación constante por 2 horas y 30 minutos. Luego, se destiló el producto a 80°C hasta sequedad, con el fin de separar el disolvente del sólido. Se filtró al vacío, se realizaron 4 lavados con 10 mL de éter etílico y 4 lavados con 10 mL de metanol, y se guardó en un desecador.

- Entrecruzamiento de quitosano con alcohol polivinilico para la formación de discos de quitosano.

Se preparó una disolución con 3 gramos de quitosano en 100 mL de ácido acético al 1 %. Una vez disuelto el quitosano, se adicionaron 8 gotas del mismo, con un gotero en el centro del plato Petri sin esparcirlo, después se le agregó por los bordes interiores del plato Petri una disolución de NaOH al 20 %, tratando que se formara un anillo uniforme de hidróxido de sodio. Se continuó adicionando el hidróxido de sodio hasta que tocará las orillas de la gota de quitosano sin cubrirlo hasta arriba, se dejó reposando por 4 días. Una vez, pasado este tiempo, se lavó con agua destilada hasta conseguir un pH neutro, se secó a temperatura ambiente por 4 días y se guardó en el plato Petri

- **Obtención de láminas quitosano-alcohol polivinílico.**

Se disolvieron 0,5 gramos de quitosano en 50 mL de ácido acético 0,1M. A parte, se preparó una disolución de alcohol polivinílico (PVA), la cual, está constituida de 5,0 gramos de PVA en 50 mL de agua destilada a una temperatura de 85°C. Se mezclaron ambas disoluciones en la siguiente proporción: 6 partes de la solución de PVA por cada 4 partes de la solución de quitosano, agitándola constantemente a 400 rpm por espacio de una hora a 40°C. Se tomaron 9 mL de esta mezcla y se depositaron en un plato Petri y se dejó secar a temperatura ambiente por 5 días, pasado ese tiempo se levantaron las láminas.

- **Esferas de quitosano con alcohol polivinílico y etilenglicoldiglicil éter (EDGE-Q-PVA).**

Se colocaron 0,5 gramos de quitosano en 20 mL de ácido acético 0,4 M y se agitó hasta que se disolvió completamente a temperatura ambiente. En otro recipiente, se pesaron 1,11 gramos de alcohol polivinílico (PVA) que posteriormente se disolvieron en 15 mL de agua destilada a 80°C con agitación constante.

Una vez disueltas por completo ambas disoluciones se mezclaron a 400 rpm por una hora, para luego, adicionarse gota a gota con una jeringa sobre 250 mL de una disolución de NaOH 1,0 M, con agitación constante. La mezcla se dejó agitando por 2 horas, para ayudar a la formación de las esferas, se filtró por gravedad y se lavaron las esferas con agua hasta obtener el pH de 7,33 correspondiente al pH del agua destilada utilizada para la preparación de las disoluciones.

Posteriormente, se llevo a cabo el entrecruzamiento del hidrogel utilizando una proporción de 7 mL de esferas quitosano-alcohol polivinilico más 25 mL de agua desionizada y 0.1 g de etilenglicoldiglicil éter (EDGE), se ajusto el pH a 12 con una disolución de NaOH 0.1 M. La mezcla se colocó en un matraz de dos bocas y se llevó a una temperatura de 70 °C, bajo atmósfera de N₂ y con agitación constante por un periodo de 6 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, las esferas se filtraron por gravedad y se lavaron con agua hasta obtener el pH del agua desionizada, con la cual se trabajó, y se guardaron en un desecador.

- **Caracterización de Carboximetilquitosano (CMQ)**
- **Determinación del Grado de Sustitución del Carboximetilquitosano (CMQ) por el método de solubilidad de la muestra.**

A una muestra sólida de carboximetilquitosano se le adicionó agua destilada y se acidificó adicionando 2 gotas de HCl 0,1 M y se midió el pH por cada adición del ácido clorhídrico. Los datos de solubilidad obtenidos se compararon con los datos teóricos de la Tabla 1, para determinar el grado de sustitución del carboximetilquitosano.

- **Determinación del grado de sustitución.**

Se determinó usando una titulación potenciométrica. Se disolvieron 0,2 gramos de CMC en 40 mL de agua destilada y 10 gotas de HCl concentrado, para obtener un pH por debajo de 2,00; la titulación se efectuó con una disolución acuosa de NaOH 0,1 M, el gráfico

resultante de esta titulación fue sometido al método diferencial de segundo orden obteniéndose los volúmenes que se usaran en la siguiente ecuación:

$$DS = 161 \times (\Delta V_{NaOH} \times C_{NaOH}) / (m_{CMC} - 58) \times (\Delta V_{NaOH} \times C_{NaOH})$$

Donde m_{CMC} es el peso del CMQ, C_{NaOH} y V_{NaOH} son el volumen y concentración del NaOH utilizado en la titulación, 161 y 58 son el peso molecular de la glucosamina y el grupo carboximetil respectivamente.

- **Determinación de la viscosidad**

Se empleo de la metodología descrita en la norma ASTM D 2857, con la utilización de un viscosímetro de Ostwald 100 F 751 y de la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada $[n] = [KM] \cdot v^\alpha$, para determinar el peso molecular promedio viscoso del carboximetilquitosano (donde $[n]$ es la viscosidad intrínseca y M_v es el peso molecular promedio viscoso).

Se disolvieron 0,8 gramos de CMQ en 100 mL de NaCl 0,1 M con agitación constante a temperatura ambiente, se filtró y se procedió a diluir esta muestra para obtener soluciones con concentraciones de 0,5 %, 0,4 %, 0,25 %, 0,125 % y 0,0625 %, se midió el tiempo de caída de las disoluciones y del solvente en segundos utilizando un viscosímetro Ostwald 100 F 751. Utilizando las siguientes ecuaciones:

$$\begin{aligned} n_{rel} &= t/t_0 \\ n_{esp} &= n_{rel} - 1 \\ [n] &= 4n_{esp}^{1,02} \times \ln n_{rel} / c^{1,01} (3n_{esp} + \ln n_{rel}) \\ [n] &= 7,92 \times 10^{-5} M_r^{1,00} \end{aligned}$$

Donde t es el tiempo de caída del CMQ y t_0 es el tiempo de caída del solvente, c es la concentración en g/ml, n_{rel} es la viscosidad relativa y $[n]$ es la viscosidad intrínseca promedio y M_r es el peso molecular del CMQ.

- **Espectrofotometría de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR)**

Se tomaron 3 mg de muestras sólidas y secas, se mezclaron con 200 mg de KBr, se comprimió la mezcla hasta obtener una pastilla traslúcida. Se colocó en un porta muestra del FT-IR y se analizó la muestra en un intervalo de 4,000 – 550 cm⁻¹.

- **Caracterización de N- Acilquitosano**
- **Espectrofotometría de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR)**

Se utilizó el mismo método descrito anteriormente y los datos espectroscópicos se compararon con los presentados en la literatura. (Porras *et al.*, 2009).

- **Caracterización de los discos producto del entrecruzamiento del quitosano con alcohol polivinílico**
- **Determinación del Grado de Sustitución**

Se determinó usando una titulación potenciométrica disolviendo 0,0750 gramos de quitosano en 40 mL de HCl 0,3 M; la titulación se efectuó frente a una solución acuosa de NaOH 0,1 M, el gráfico resultante de esta titulación será sometido al método diferencial de segundo orden para obtener los volúmenes que se usaron en la siguiente ecuación:

$$DS = \frac{16,1 (y-x)}{w} (f)$$

Donde w es el peso del quitosano, y, x son el punto de inflexión mayor y menor en volumen del NaOH_(ac) utilizado en la titulación, f es la molaridad de la solución de NaOH valorado.

- **Determinación de la viscosidad**

Se disolvieron 0,8 gramos de quitosano en 100 mL de NaCl/Acetato de Sodio 0,1 M (50 % v/v) con agitación constante a temperatura ambiente, se filtró y se procedió a diluir esta muestra para obtener soluciones a 0,5 %, 0,4 %, 0,25 %, 0,125 % y 0,0625 %, se midió el

tiempo de caída de las disoluciones y del solvente en segundos utilizando un viscosímetro Ostwald 100 F 751. Utilizando las siguientes ecuaciones:

$$n_{rel} = t - t_0/t_0$$
$$n_{esp} = \frac{n_{rel}}{c}$$
$$M_v = \left(\frac{b}{1,81 \times 10^{-3}}\right)^{1/0,93}$$

Donde t es el tiempo de caída del quitosano y t_0 es el tiempo de caída del solvente, n_{rel} es la viscosidad relativa, n_{esp} es la viscosidad específica, c es la concentración de cada analito, M_v es el peso molecular del quitosano y b es el intercepto de la recta por el método de los mínimos cuadrados, cuya gráfica es n_{esp} vs c .

Los discos también fueron caracterizados por espectroscopía infrarrojo y los datos fueron comparados con los reportados en la literatura.

- **Láminas Quitosano-Alcohol Polivinílico (Láminas C-PVA)**
- **Espectrofotometría de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR)**

Se utilizó el mismo método descrito anteriormente y los datos espectroscópicos se compararon con los presentados en la literatura. (Julio, 2007).

- **Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)**

Se colocó en un porta muestra de cobre dos esferas del compuesto sin recubrimiento metálico, se incidió sobre ellas un haz de luz que nos permitirá ver la superficie de la muestra, a 10 kV, además, se le aplicó electrones retro-dispersados en búsqueda de relieve en la superficie de las esferas, se utilizó un SEM marca JEOL modelo JSM-5600 de la *figura 9*.

- **Esferas de alcohol polivinílico y etilenglicoldiglicil éter (EDGE-Q-PVA)**
- **Espectrofotometría de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR)**

Fueron caracterizadas utilizando espectroscopia infrarrojo por el método descrito anteriormente y los resultados comparados con los reportados en la literatura (Julio, 2007).

- **Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)**

Se utilizó el método descrito anteriormente y los resultados se compararon con los reportados en la literatura. (García-Rivas, 2010)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

- **Síntesis y caracterización del N-Acil quitosano**

La reacción entre el quitosano y el cinamaldehído, en proporción 1:2, condujo a la obtención de un sólido amarillo con un peso de 1,61 g que es estable a temperatura ambiente e insoluble en agua y en disolventes orgánicos comunes como acetona, metanol, etanol y acetato de etilo.

La solubilidad del quitosano N-acilado se encuentra relacionada a la cantidad de grupos amino protonados de la cadena polimérica; cuanto mayor sea la cantidad de estos grupos, mayor es la solubilidad del polímero, aspecto que se encuentra relacionado al grado de desacetilación del quitosano, que es mayor para el quitosano purificado, lo que evidencia el aumento en la solubilidad (Porrás *et al*, 2009).

- **Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier del Quitosano N-acilado.**

El quitosano N- acilado es un sólido de color amarillo claro que de acuerdo, al espectros infrarrojo (Figura 1), presento una banda de absorción ancha y marcada a los $3411,97\text{cm}^{-1}$ característica del estiramiento del grupo $-\text{OH}$ y $-\text{NH}$, una banda de absorción fina y pequeña a los 1690 cm^{-1} perteneciente a la unión $\text{C}=\text{N}$, común en las bases de Schiff,

1633,65 cm^{-1} del grupo carbonilo, 1590 cm^{-1} estiramiento N-H, 750,29 cm^{-1} y 689,53 cm^{-1} bandas características de anillos aromáticos, datos que concuerdan con los datos presentados en la bibliografía, lo cual nos indicó compuesto obtenido es el esperado (Porrás *et al.*, 2009).

- **Síntesis y caracterización del Carboximetilquitosano (CMQ)**

La reacción entre el quitosano y el ácido monocloroacético en proporción 1:2, produjo 2,72 g. de un sólido blanco, estable a temperatura ambiente e insoluble en agua a pH neutro y básico. Además, es insoluble en disolventes orgánicos como acetona, etanol y acetato de etilo.

- **Determinación del grado de sustitución del carboximetilquitosano (CMQ), por el método de solubilidad.**

La prueba de solubilidad de la muestra de carboximetilquitosano (CMQ), mostró que es una sustancia insoluble frente a disolventes orgánicos comunes, por ende se realizó la prueba de solubilidad con el método reportado por Sashiwa y Shigemasa (1999) en el cual, a la muestra sólida de carboximetilquitosano se le adicionó agua destilada acidificada con seguimiento de pH mediante acidificación del medio adicionando 2 gotas de HCl 0,1M y midiendo el potencial de hidrogeno por cada adición del ácido clorhídrico. La Tabla 1 presenta los resultados de pH ideal en el que se solubiliza la muestra resultando que a partir de un pH de 1,35 (24 gotas de HCl) el compuesto se hace totalmente soluble. También se realizó el mismo procedimiento en medio básico (Tabla 1), donde los resultados de solubilidad fueron negativos en los rangos de pH básicos medidos (7,14 - 12,29). La Tabla 2 muestra los resultados esperados por el método de Sashiwa y Shigemasa (1999) en donde podemos notar que los resultados de pH obtenidos coinciden con lo establecido por la metodología.

Este comportamiento de la solubilidad se debe a la agregación de cadenas segmentadas altamente acetiladas o a la formación de amidas posterior al secado térmico, que nos da como resultado para esta muestra un grado de sustitución de 0,31 como lo podemos observar al comparar los resultados de la Tabla 1 con los resultados de la Tabla 2, que relaciona la solubilidad con el grado de sustitución de la muestra que fue sometida a la reacción de carboximetilación. Abou-Zied (2013)

- **Determinación del Grado de desacetilación del quitosano y carboximetilquitosano por el método potenciométrico de la segunda derivada.**

El grado de desacetilación obtenido experimentalmente para el quitosano utilizado en la síntesis del derivado fue de 90,9 % NH_2 , obtenido como se explica en la sección experimental.

Las Figuras 2 y 3 muestran los datos del proceso de titulación de carboximetilquitosano con NaOH en donde se observa los puntos inicial y final de la titulación.

El grado de desacetilación del quitosano es de 90,9% y el del carboximetilquitosano es de 2,79%, estos resultados nos indican que del 90,9% de desacetilación del quitosano solo el 2,79% de ello reacciono con el ácido monocloroacético esto se debe a los impedimentos estéricos que hay en el sistema de equilibrio. Tales impedimentos no permiten que haya sustitución en todas las áreas reactivas del quitosano.

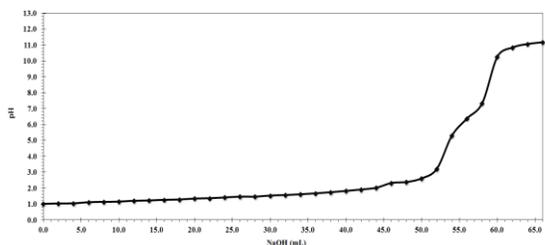


Figura 1. Curva de titulación del

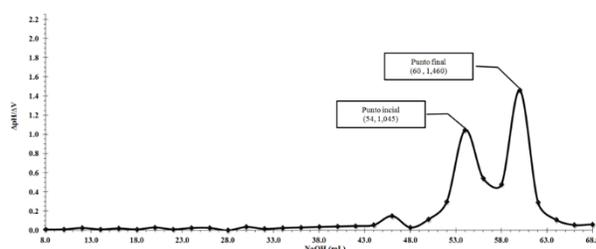


Figura 2. Gráfica de la segunda derivada

carboximetilquitosano (CMQ)
frente a NaOH.

para el carboximetilquitosano (CMC)
de $\Delta\text{pH}/\Delta V$ vs V (mL).

Tabla 1. Solubilidad CMC en agua destilada a diferentes pH en medio ácidos (izquierda) y básico (derecha).

Gotas de HCL 0,1 M	pH	Solubilidad		Gotas de NaOH 0,1 M	pH	Solubilidad
0	7,14	Insoluble		0	7,14	Insoluble
2	4,00	Insoluble		2	8,50	Insoluble
4	3,42	Insoluble		4	9,25	Insoluble
6	2,50	Insoluble		6	10,65	Insoluble
8	2,24	Insoluble		8	11,34	Insoluble
10	2,15	Insoluble		10	11,66	Insoluble
12	2,01	Parcialmente soluble		12	11,80	Insoluble
14	1,88	Parcialmente soluble		14	11,86	Insoluble
16	1,73	Parcialmente soluble		16	11,98	Insoluble
18	1,63	Parcialmente soluble		18	12,06	Insoluble
20	1,57	Parcialmente soluble		20	12,08	Insoluble
22	1,55	Parcialmente soluble		22	12,18	Insoluble
24	1,35	Soluble		24	12,27	Insoluble
26	1,34	Soluble		26	12,27	Insoluble
28	1,20	Soluble		28	12,29	Insoluble

Nota: para obtener estos resultados se pesaron 0,002g de carboximetilquitosano en 10 ml de agua destilada.

- **Determinación de la viscosidad del quitosano y carboximetilquitosano**

Para la determinación del peso molecular promedio viscoso del quitosano (Tabla 4) se empleó regresión lineal por el método de los mínimos cuadrados de la Figura 4 y las ecuaciones expuestas en la Tabla 6 propuestas por Muzzarelli (1998), la pendiente fue de

374737 y el intercepto 503,26, este último se aplicó para calcular el peso molecular viscoso del quitosano, el cual fue de $7,14 \times 10^5$ g/mol y la masa molar relativa del polímero de carboximetilquitosano (CMQ) que fue de $17,97 \times 10^5$ g/mol (Tablas 8, 9 y 10). El valor de la constante K para el carboximetilquitosano es $7,92 \times 10^{-5}$ y el del exponente α para el carboximetilquitosano fue de 1,00.

Tabla 2. Método Sashiwa y Shigemasa (1999) para la solubilidad del quitosano y CMC en agua destilada a diferentes pHs y su relación con el grado de sustitución.

DS	Solubility, pHs											
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
0.05	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Blue						
0.15	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
0.27	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
0.29	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
0.31	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
0.45	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Green	Green	Green	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow
0.46	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Green	Green	Green	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow
0.57	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Green	Green	Green	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow
0.59	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Green	Green	Green	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow
0.63	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow
0.68	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Blue	Blue	Blue	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow
0.81	Yellow	Yellow	Yellow	Blue	Blue	Blue	Blue	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow
0.83	Yellow	Yellow	Yellow	Blue	Blue	Blue	Blue	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow
0.08	Yellow	Yellow	Yellow	Blue	Blue	Blue	Green	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow
1.10	Yellow	Yellow	Yellow	Blue	Blue	Blue	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow
1.21	Yellow	Yellow	Yellow	Blue	Blue	Blue	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow
CS	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Blue						

*Nota: código de color de los resultados teóricos. Soluble (color amarillo), parcialmente soluble (color verde) e insoluble (color azul).

El incremento de la masa molecular del quitosano de $7,14 \times 10^5$ g/mol al ser mezclado con el ácido monocloroacético formando así el carboximetilquitosano de $17,97 \times 10^5$ g/mol es evidencia de que realmente hubo la reacción.

Tabla 4. Viscosidad del Quitosano (Q)

Concentración	Viscosidad relativa	Viscosidad específica
C	$n_{rel} = \frac{t - t_0}{t_0}$	$n_{esp} = \frac{n_{rel}}{C}$
$6,25 \times 10^{-4}$	0,487003365	779,205384
$1,25 \times 10^{-3}$	1,216422173	973,1377384
$2,50 \times 10^{-3}$	3,5477917	1419,11668
$4,00 \times 10^{-3}$	7,466322577	1866,580644
$5,00 \times 10^{-3}$	12,45174172	2490,348344

***Nota:** En esta tabla se expone las concentraciones preparadas de quitosano (Q) para determinar el peso molecular promedio. En la segunda fila de la tabla se encuentran las formulas, donde t_0 es el tiempo de caída del solvente y t es el tiempo de caída de la muestra para su respectiva concentración.

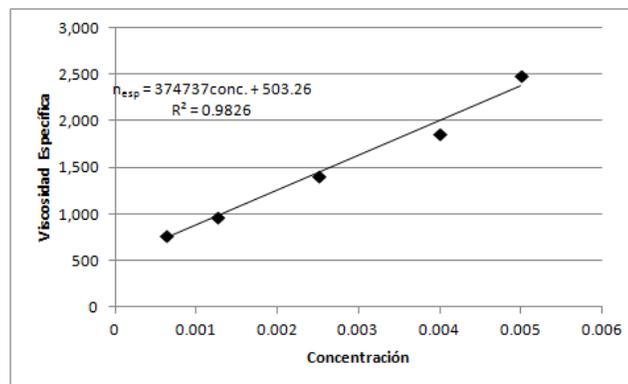


Figura 3. Métodos de los mínimos cuadrados para el quitosano.

Tabla 8. Viscosidad específica y relativa del Carboximetilquitosano (CMQ).

Concentración	Viscosidad específica	Viscosidad relativa	Viscosidad intrínseca
C	$n_{esp} = n_{rel} - 1$	$n_{rel} = \frac{t}{t_0}$	$[n] = \frac{4n_{esp}^{1,02} \times \ln n_{rel}}{C^{1,01} (3n_{esp} + \ln n_{rel})}$
6.25×10^{-4}	1.54×10^{-01}	1.15	241
1.25×10^{-3}	1.57×10^{-01}	1.16	122
2.50×10^{-3}	4.35×10^{-01}	1.44	157
4.00×10^{-3}	7.23×10^{-01}	1.72	152
5.00×10^{-3}	9.23×10^{-01}	1.92	148

- Espectro infrarrojo del Carboximetilquitosano (CMQ)

El carboximetilquitosano un sólido de color blanco, cuyo espectro IR (Figura 5), presenta un espectro con banda de absorción ancha e intensa correspondiente del grupo –OH a unos $3466,94\text{ cm}^{-1}$, el estiramiento C-H se manifiesta a $2873,84\text{ cm}^{-1}$, a 1720 cm^{-1} se ve la banda N-H, se aprecia a $1609,55\text{ cm}^{-1}$ el grupo carbonilo, la banda del grupo carboximetil se observó a $1407,99\text{ cm}^{-1}$, los estiramientos C-N se presentan a $1325,05\text{ cm}^{-1}$, a $1153,40\text{ cm}^{-1}$ se aprecia el estiramiento O-H y el estiramiento C-O a $1078,71\text{ cm}^{-1}$ que concuerda con valores teóricos reportados por Abou-Zied (2013), por ende se puede estimar que el compuesto analizado presenta las señales características del carboximetilquitosano.

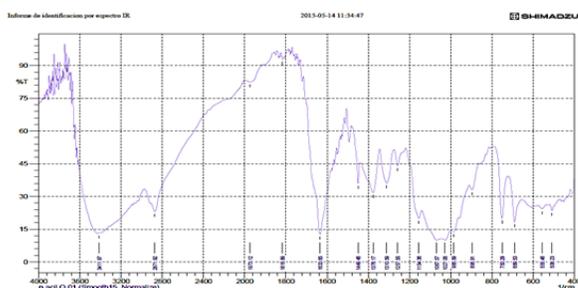


Figura 4. Espectro en infrarrojo (FTRI) para el quitosano N-acilado.

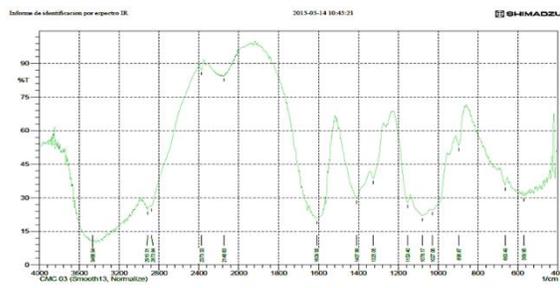


Figura 5. Espectro en infrarrojo (FTRI) para el carboximetilquitosano (CMQ).

- Obtención y caracterización de láminas de alcohol polivinílico.

Se obtuvieron 0,9952 g de láminas incoloras de C-PVA, las cuales se caracterizaron por espectroscopía infrarrojo, observándose a $3340,60\text{ cm}^{-1}$ el estiramiento del grupo –OH y

-NH, las vibraciones de tensión de -CH se encontraron a $2941,35\text{ cm}^{-1}$, el grupo carbonilo del PVA se observó a $1556,50\text{ cm}^{-1}$ y el del quitosano a $1520,55\text{ cm}^{-1}$, la vibración de tensión del PVA se percibió a $1142,79\text{ cm}^{-1}$, mientras que las vibraciones de tensión de -CH₂ a $918,06\text{ cm}^{-1}$, las vibraciones de tensión de C-C de anillo aromático se denoto a $852,51\text{ cm}^{-1}$ como podemos observar en el Figura 6, gracias a estos resultados podemos discernir que el quitosano se entrecruzo con el alcohol polivinílico.

- **Esferas de hidrogeles de quitosano entrecruzado con alcohol polivinílico y etilenglicoldiglicil éter (EDGE-Q-PVA)**

El espectro infrarrojo (Figura 7), de las esferas de hidrogeles de EDGE-PVA-Q de color amarillo claro con un peso de 0,1715 g, presentaron bandas de absorción del grupo -OH y -NH anchas y marcadas alrededor de los $3447,65\text{ cm}^{-1}$, los estiramientos del grupo amino del quitosano están a los 3390 cm^{-1} , la elongación del enlace C-H del grupo metilo y metileno a $2870,95\text{ cm}^{-1}$, la flexión del enlace N-H de la amina y amida se notó a $1653,91\text{ cm}^{-1}$, el estiramiento del grupo carbonilo se vio a $1597,97\text{ cm}^{-1}$, el estiramiento C-OH de un alcohol primario se puede apreciar en la banda de $1032,85\text{ cm}^{-1}$, a $651,92\text{ cm}^{-1}$ se encuentra la banda de anillo aromático, tales resultados confirmaron que los pellets de quitosano entrecruzado con alcohol polivinílico se unieron al etilenglicol diglicil éter formando así el derivado deseado EDGE-Q-PVA.

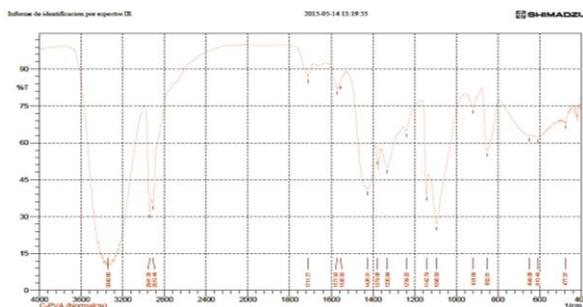


Figura 6. Espectro en infrarrojo (FTIR) para para la lámina del quitosano mezclado

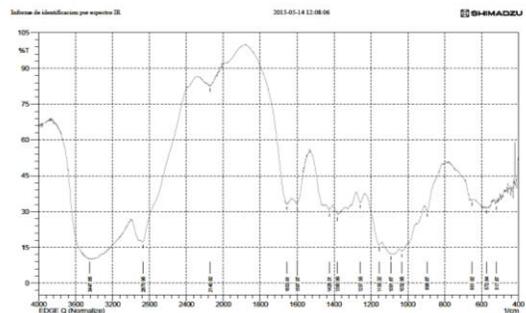


Figura 7. Espectro en infrarrojo (FTIR) de las esferas de quitosano con alcohol

con alcohol polivinílico.

polivinílico y EDGE (EDGE-PVA-Q).

- **Microscopia Electrónica de Barrido de Electrones**

- **Quitosano**

En este análisis se observó la porosidad y características microscópicas superficiales. En los hidrogeles de quitosano sin entrecruzar Figura **8a**, se observan capas superpuestas de quitosano en los bordes, y la superficie no presenta una porosidad definida y es irregular. Sin embargo, en las esferas de hidrogeles de quitosano entrecruzados Figura **8b**, se observa que las características superficiales cambian cuando se entrecruzan con agentes químicos. Se observan bordes lisos y regulares, producto del entrecruzamiento de las cadenas de quitosano; además se define una porosidad irregular que se encuentra en un ámbito de 1 a 20 μm y una superficie más ordenada y lisa, con respecto de los hidrogeles de quitosano sin entrecruzar resultados similares fueron reportados por Sánchez (2007).

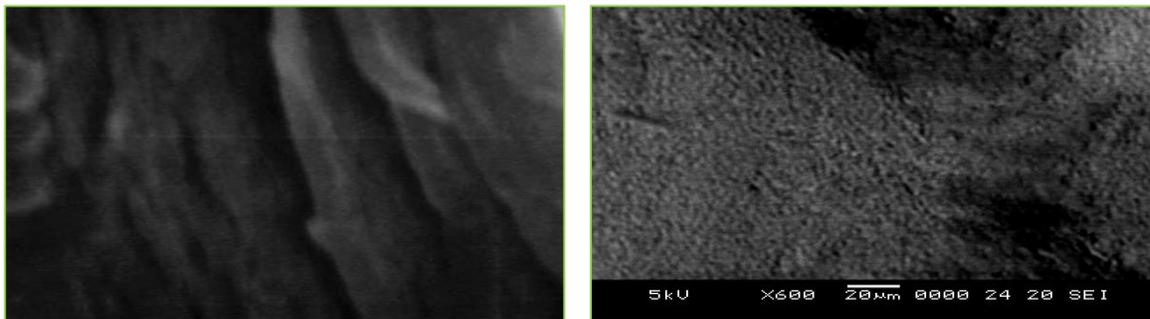


Figura 8. a) Microfotografía de una lámina de quitosano sin ser entrecruzada. b) Microfotografía de una lámina de quitosano entrecruzada con alcohol polivinílico Tomada a 600x y 5kV.

- **Lámina de quitosano con alcohol polivinílico**

En la Figura **8b** se expone la superficie de una lámina de quitosano entrecruzada con alcohol polivinílico, en la cual podemos ver lo lisa y uniforme de la misma presentado muy poca porosidad, tal y como lo reporta Abou-Zied *et al.*, (2013).

- **Esferas de Hidrogeles de alcohol polivinílico y etilenglicoldiglicil éter (EDGE-Q-PVA)**

La morfología de la superficie de las esferas de hidrogel entrecruzados estudiados por el microscopio electrónico de barrido de electrones (SEM) se puede observar en la Figura **9a**, en la cual se puede ver los surcos y porosidades de las esferas de hidrogel causados por la interacción del medio básico al que se expuso para darles esa forma redondeada por medio de goteo de la muestra entrecruzada al medio básico y su constante agitación.

Estas porosidades tienen diversos usos ya que sirven como captadores de iones de forma selectiva, dado que, se puede moldear las dimensiones del poro de las esferas de hidrogel al radio atómico del ion que se desea adsorber, esta particularidad de las esferas de hidrogel nos sirve para limpiar residuos de cianuro o metales pesados que se quieren eliminar del medio.

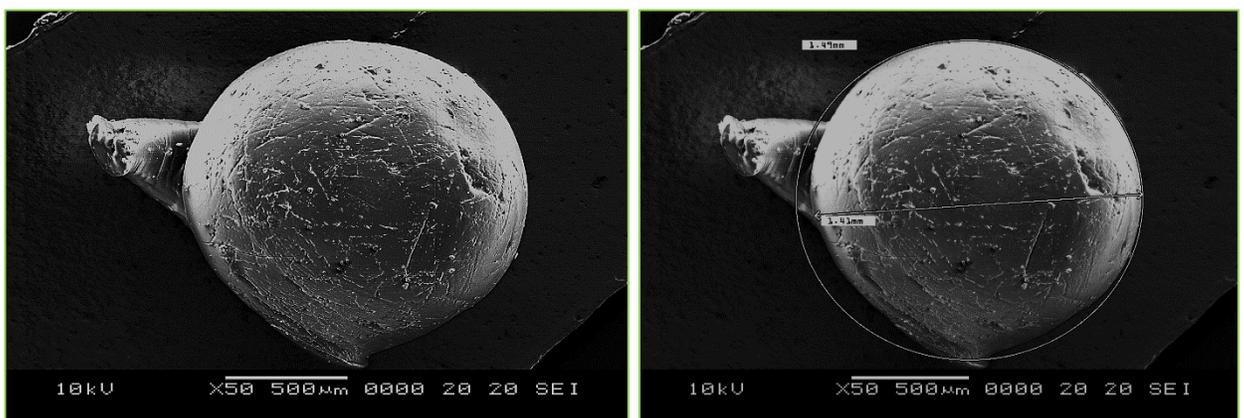


Figura 9. a) Microfotografía de las esferas de hidrogel EDGE-PVA Q tomada con el microscopio de barrido electrónico (SEM) a 10kV. **b)** Microfotografía de las esferas de hidrogel EDGE-PVA-Q con mediciones de circunferencia y dimensiones de la muestra.

En la Figura **9b** se puede observar la medición que se le realizó con el microscopio electrónico de barrido de electrones (SEM) de la circunferencia, la cual dio 1,41 mm una vez que se le realizó un baño de oro previo para su mejor visualización en el SEM.

En la Figura **10** se puede observar con mayor detalle las porosidades de los pellet entrecruzados EDGE-PVA-Q, debido, al aumento que se le realizó con el microscopio de barrido electrónico.

- **Biodegradabilidad de las láminas quitosano-alcohol polivinílico y discos de quitosano.**

Se realizó un ensayo de biodegradabilidad colocando láminas de quitosano-alcohol polivinílico (láminas Q-PVA) y discos de quitosano (discos Q) en tierra abonada y tierra con humus de lombriz. Se les midió a estos materiales el diámetro, el espesor y el peso una vez a la semana por un periodo de 12 semanas. Los resultados del cambio de diámetro en los ensayos de degradación mostraron que los discos Q, disminuyeron más su diámetro entre las láminas Q-PVA. En la semana 12 se noto más la mayor variación de los diámetros en ambos materiales.

En cuanto al espesor se pudo observar que las láminas Q-PVA disminuyen más rápidamente su espesor que los discos Q. Los cambios en el espesor fueron mayores en la semana 6 para ambos sustratos. Con respecto al peso se observó la mayor pérdida de peso en los discos Q. Tal como lo registro (López, 2010), la velocidad de degradación de las películas en los diferentes tierras se debe a la diferencia de humedad, temperatura, presencia de diversas poblaciones de microorganismos y que la pérdida de peso se ve ligeramente disminuida por la presencia de aditivos, pues podría considerarse que el aditivo solvata las moléculas de este, dándole estabilidad a las redes poliméricas que

forman películas y a su vez les protege en cierta medida del ataque de microorganismos y otros elementos que generan la degradación de las películas, lo cual implica que está actuando como aditivo antifúngico. A partir de la semana 5 el peso de ambos materiales disminuyó, variando su valor hasta la semana 12.

CONCLUSIÓN

Las pruebas de caracterización dieron como resultado un producto con las características esperadas en cuanto a solubilidad, y señales de infrarrojo, por lo que se pudo concluir que el compuesto obtenido es N-Acil quitosano. La solubilidad del quitosano se encuentra relacionada a la cantidad de grupos amino protonados de la cadena polimérica y al grado de desacetilación del quitosano; en cuanto mayor sea la cantidad de estos grupos mayor, la solubilidad del polímero. Por otro lado la prueba de solubilidad de CMQ también mostró resultados dentro de lo esperado, debido a que el compuesto sintetizado no se disolvió en ninguno de los solventes usados. Los valores de espectroscopía infrarrojo indicaron la formación de CMQ. Lo cual fue corroborado con las pruebas de valoración potenciométrica y viscosidad que dieron valores de porcentaje de desacetilación y peso molecular muy similares a los presentados en la literatura.

El entrecruzamiento del quitosano con alcohol polivinílico y etilenglicoldiglicil éter llevo a la obtención de un polímero de mayor resistencia el cual fue caracterizado por espectroscopía infrarrojo y microscopia de barrido electrónico comprobando la formación de estos productos debido a la similitud de los datos con los presentados en la literatura.

Podemos concluir que tanto C-PVA como Q se degradan de igual manera tanto en tierra con humus de lombriz como en tierra abonada. Esto indica que su utilización como agente

plastificante contribuirá a la elaboración de materiales ecos-amigables que se degradaran fácilmente en el ambiente sumado a esto, su utilización como antimicrobiano reduciría la huella dejada por el uso de agentes órgano fosforados en la agricultura como un control alternativo de plagas por hongos fitopatógenos.

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF SOME DERIVATIVES OF CHITOSAN

SUMMARY

Some derivatives were prepared from chitosan extracted from shrimp shell with a molecular weight of 7.14×10^5 g / mol. The first of these derivatives was carboxymethylchitosan which was prepared by the addition of monochloroacetic acid to chitosan giving a product with molecular weight of 17.97×10^5 g / mol and degree of deacetylation 2.79%, which was characterized by Infrared Spectrometry with Transformed Fourier (FTIR).

Chitosan was also acylated through a reaction with cinnamaldehyde obtaining N-Acyl-chitosan as a product, which was characterized by solubility tests and FTIR, with which the formation of the product was determined.

Chitosan crosslinking with polyvinyl alcohol was performed and characterized by FTIR and its surface morphology using electron scanning electron microscopy (SEM). Additionally, biodegradability was determined as an eco-friendly alternative and as a manufacturing material. In these tests the loss of sample weight, thickness and diameter was taken into account, demonstrating that the sample of the chitosan crosslinked with polyvinyl alcohol degrades at a lower rate than the uncrosslinked sample.

KEYWORDS

Chitosan, carboximetilchitosan, N-acylchitosane, hydrogels Q-EDGE-PVA

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ABOU-ZIED, N., WALY, A., KANDILE, N., RUSHDY, A., MANAL A., E.-S., & IBRAHIM, H. 2013. Carboxymethyl Chitosan/Viscose Blended Films: Preparation, Characterization and Antibacterial Properties. **Journal of Materials Science and Engineering with Advanced Technology**, 93-123.

BAUTISTA-BAÑOS, S., HERNÁNDEZ-LAUZARDO, A. N., VELÁZQUEZ DEL VALLE, M. G., BOSQUES-MOLINA, E., & SÁNCHEZ-DOMINGUEZ, D. 2005. Quitosano: una alternativa natural para reducir microorganismos post-cosecha y mantener la vida de anaquel de productos hortofrutícolas. **REIALYC**, 7, 1-6.

DÍAZ, E., VILLARÁN, M., RÍO, F., RAMÍREZ, C., LORENZO, L. 2007. Utilización de Adsorbentes Basados en Quitosano y Alginato Sódico para la Eliminación de Iones Metálicos: Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cr^{3+} y Co^{2+} . **Revista Iberoamericana de Polímeros**, 8(1): 20-37.

GARCÍA-RIVAS, L., GARCIA-GAITAN, B., ANTONIO-CRUZ, R., ZAVALA-ARCE, R., GRANADOS-GARCÍA, M., DADÓ-LUJANO, I., REYES-GÓMEZ, J., LUNA-BÁRCENAS, G. 2010. Síntesis y Caracterización de Esferas de Quitosano-EDGE-PVA para adsorción de Cu (II). **Iberoamericana de Polímeros**, 9.

JULIO, L. K. 2007. Propiedades Antimicrobianas de Películas de Quitosano-Alcohol Polivinílico Embebidas en Extracto de Sangre de Grado. **Sociedad Química de Perú**, 158-165.

LI JIN, ZHILONG SU, XIAODONG MA, HONGJIE XU, ZIXING SHI, JIE YIN,

- XUESONG JIANG. 2017. *In situ* polymerization induced supramolecular hydrogels of chitosan and poly(acrylic acid-acrylamide) with high toughness. **The Royal Society of Chemistry and the Chinese Chemical Society**, 1, 310-318.
- MOHAMED, R. F. 2013. Synthesis and Characterization of carboxymethyl Chitosan Nanogels for swelling Studies and Antimicrobial Activity. **Molecules**, 190-203.
- MUZZARELLI R., R. V. 1998. Osteogenesis promoted by calcium phosphate N,N-dicarboxymethyl chitosan. **Carbohydrate Polymers**, 267-276.
- PARADA, L., CRESPIÓN, G., MIRANDA, R., & KATÍME, I. 2004. Caracterización de Quitosano por Viscosimetría Capilar y Valoración Potenciométrica. **Iberoamericana de Polímeros**.
- PORRAS, G., CALVO, M., ESQUIVEL, M., SIBAJA, M., & CARBALLO-MADRIGAL, S. 2009. Quitosano N-Acilado con Cinamaldehído: Un Potencial Bioplaguicida contra Agentes Patógenos en el Campo Agrícola. **Iberoamericana de Polímeros**, 197-206.
- SÁNCHEZ A., S. M.-B. 2007. Síntesis y Caracterización de Hidrogeles de Quitosano Obtenido a partir del Camarón Langostino (*Pleuroncodes planipes*) con Potenciales Aplicaciones Biomédicas. **Iberoamericana de Polímeros**, 4-31.
- SASHIWA, H., & SHIGEMASA, Y. 1999. Chemical modification of chitin and chitosan: Preparation and water soluble property of N-acetylated or N-alkylated partially deacetylated chitins. **Carbohydrate Polymers**, 127-138.
- SINGH, D., & RAY, A. 2000. Biomedical Applications of chitin chitosane and their derivatives. **J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. Phys.** C40.69-83.
- VELÁSQUEZ, C. 2008. Algunas potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en latinoameica. **UDO Agricola**, 1-22.