

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE QUÍMICA**



**"Caracterización de los productos de la desacetilación
selectiva de quitina"**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:
OMAR ERNESTO CÁRDENAS SORIANO**

**PARA OPTAR AL GRADO DE:
LICENCIADO EN CIENCIAS QUÍMICAS**

CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN SALVADOR, NOVIEMBRE DE 2010

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE QUÍMICA



**"Caracterización de los productos de la desacetilación
selectiva de quitina"**

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:
OMAR ERNESTO CÁRDENAS SORIANO

PARA OPTAR AL GRADO DE:
LICENCIADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

ASESORES:
Dr. LUIS GILBERTO PARADA GÓMEZ
Lic. GUILLERMO DÍAZ Crespín

CIUDAD UNIVERSITARIA,

SAN SALVADOR,

NOVIEMBRE DE 2010

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE QUÍMICA**

TRABAJO DE GRADUACION:

**"Caracterización de los productos de la desacetilación
selectiva de quitina"**

PRESENTADO POR:

OMAR ERNESTO CÁRDENAS SORIANO

PARA OPTAR AL GRADO DE:

LICENCIADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

ASESORES: Dr. LUIS GILBERTO PARADA GÓMEZ _____

Lic. GUILLERMO DÍAZ CRESPIÁN _____

CIUDAD UNIVERSITARIA,

SAN SALVADOR,

NOVIEMBRE DE 2010

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

M.Sc. RUFINO ANTONIO QUEZADA SÁNCHEZ

SECRETARIO GENERAL

Lic. DOUGLAS VLADIMIR ALFARO CHÁVEZ

FISCAL

Dr. RENÉ MADECADEL PERLA JIMÉNEZ

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

DECANO

Dr. RAFAEL ANTONIO GÓMEZ ESCOTO

DIRECTOR ESCUELA DE QUÍMICA

Lic. JOSÉ ALFREDO DÍAZ

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
OBJETIVOS	5
FUNDAMENTO TEÓRICO	7
2.1 Aspectos generales	8
2.1.1 Obtención de quitina	8
2.1.2 Obtención de quitosano	10
2.2 Algunas aplicaciones de la quitina y quitosano	11
2.3 Caracterización del quitosano	15
2.3.1 Viscosimetría capilar	16
2.3.2 Espectroscopía Infrarroja	19
2.3.3 Análisis potenciométrico	26
PARTE EXPERIMENTAL	28
3.1 Tratamiento de los exoesqueletos	29
3.2 Obtención de quitina	30
3.3 Obtención de quitosano	30
3.3.1 Método de síntesis 1	31
3.3.2 Método de síntesis 2	31

3.3.3 Método de síntesis 3	32
3.3.4 Método de síntesis 4	32
3.4 Caracterización de las muestras	33
3.4.1 Viscosimetría capilar:	33
3.4.2 Grado de acetilación: Espectroscopia Infrarroja	35
3.4.3 Grado de desacetilación: Potenciometría	36
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
4.1 Porcentaje de rendimiento en las síntesis	38
4.2 Espectroscopia Infrarroja y repetibilidad de los métodos de síntesis	40
4.3 Valoración Potenciométrica de los productos	51
4.4 Determinación del peso molecular promedio viscoso	55
CONCLUSIONES	63
REFERENCIAS	66

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1. Relaciones entre absorbancias para determinar el GA	22
Tabla 4.1 Porcentaje de rendimiento promedio de cada método de síntesis.	39
Tabla 4.2 Resultados del análisis del grado de acetilación para el producto 1.1	44
Tabla 4.3 Grado de acetilación de los productos del método de síntesis 1.	45
Tabla 4.4 ANOVA del grado de acetilación obtenido mediante espectroscopia infrarroja de las tres repeticiones del método de síntesis 1.	46
Tabla 4.5 Grado de acetilación de los productos del método de síntesis 2.	47
Tabla 4.6 ANOVA del grado de acetilación obtenido mediante espectroscopia infrarroja de las tres repeticiones del método de síntesis 2.	48
Tabla 4.7 Grado de acetilación de los productos del método de síntesis 3.	48
Tabla 4.8 ANOVA del grado de acetilación obtenido mediante espectroscopia infrarroja de las tres repeticiones del método de síntesis 3.	49
Tabla 4.9 Grado de acetilación de los productos del método de síntesis 4.	50
Tabla 4.10 ANOVA del grado de acetilación obtenido mediante espectroscopia infrarroja de las tres repeticiones del método de síntesis 4.	50
Tabla 4.11 Porcentaje de grupos amino de los productos obtenidos a partir del método de síntesis 2.	53
Tabla 4.12 Porcentaje de grupos amino de los productos obtenidos a partir del método de síntesis 3.	54
Tabla 4.13 Porcentaje de grupos amino de los productos obtenidos a partir del método de síntesis 4.	54
Tabla 4.14 Análisis viscosimétrico, a 25°C en NaCl/HOAc, del producto 2.1.	56
Tabla 4.15 Análisis viscosimétrico, a 25°C en NaCl/HOAc, del producto 3.1.	57
Tabla 4.16 Análisis viscosimétrico, a 25°C en NaCl/HOAc, del producto 4.1.	58
Tabla 4.17 Resumen del peso molecular promedio viscoso. Se reportan dos repeticiones para cada producto	62

INDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 Estructura de la unidad repetitiva de A) Celulosa, B) Quitina y C) Quitosano.	9
Figura 2.2 Reacción de desacetilación termoalcalina.	11
Figura 2.3 Espectro infrarrojo de la quitina en la región entre 4000 cm ⁻¹ a 400 cm ⁻¹	22
Figura 2.4 Espectro infrarrojo de la quitina en la región de 1200 a 2000 cm ⁻¹ : bandas de evaluación (BE) y las respectivas líneas base (LB).	23
Figura 2.5 Espectro infrarrojo de la quitina: bandas de referencias (BR) y las respectivas líneas base (LB).	24
Figura 4.1 Espectro infrarrojo de quitosano obtenido a partir del método de síntesis 1	40
Figura 4.2 Espectro infrarrojo de quitosano obtenido a partir del método de síntesis 2	41
Figura 4.3 Espectro infrarrojo de quitosano obtenido a partir del método de síntesis 3	41
Figura 4.4 Espectro infrarrojo de quitosano obtenido a partir del método de síntesis 4	42
Figura 4.5 Comparación de la señal próxima a 1655 cm ⁻¹ , método 1(--), método 2(--), método 3(--), método 4(--)	43
Figura 4.6 Curva de titulación producto 2.1. En el recuadro se muestra la primera derivada.	52
Figura 4.7 Curva de titulación producto 3.1. En el recuadro se muestra la primera derivada.	52
Figura 4.8 Curva de titulación producto 4.1. En el recuadro se muestra la primera derivada.	53
Figura 4.9 Representación de Huggins, a 25°C en NaCl/HOAc, del producto 2.1.	59
Figura 4.10 Representación de Huggins, a 25°C en NaCl/HOAc, del producto 3.1.	60
Figura 4.11 Representación de Huggins, a 25°C en NaCl/HOAc, del producto 4.1.	61

RESUMEN

El presente documento contiene los resultados de la caracterización de los productos de la desacetilación química selectiva de la quitina; las muestras han sido obtenidas a partir de cuatro métodos de síntesis diferentes. Las técnicas utilizadas para la caracterización fueron espectroscopía infrarroja, titulación potenciométrica y viscosimetría capilar.

El análisis cualitativo de las bandas características en los espectros infrarrojos de cada una de las muestras indican que el control sobre los parámetros de reacción, tales como: concentración del álcali, tiempo de reacción, temperatura del sistema y polímero de partida, permiten la obtención de quitosanos con grados de desacetilación diferentes. Lo anterior se confirma por el análisis cuantitativo de los espectros y por los resultados de la titulación potenciométrica. El peso molecular promedio viscoso de las muestras obtenidas refleja que las condiciones de reacción propuestas son las adecuadas para obtener polímeros que cumplan con los estándares industriales.

INTRODUCCIÓN

La quitina fue aislada por primera vez en 1811, a partir de hongos superiores, por Braconnot, quien le asignó el nombre de fúngica. En 1823, Odier aisló, a partir de escarabajos, un complejo insoluble al que denominó quitina, un vocablo que proviene del griego “χιτωμυγ” y que significa cubierta o envoltura. En 1859, Rouget observó que tratando quitina con hidróxido de sodio concentrado obtenía un nuevo producto al que denominó “quitina modificada” y que era soluble en ácidos orgánicos. Pero no es hasta 1894 cuando Hoppe- Seyler sometió la quitina a reflujo a 180°C en hidróxido de potasio y observó que el producto que se formaba era bastante soluble en ácido acético y clorhídrico y lo denominó quitosano.

El quitosano está constituido por unidades de 2-amino-2-desoxi-D-glucosa y 2-acetamida-2-desoxi-D-glucosa unidas por enlaces glucosídicos β -(1,4). Este es un polímero que se obtiene por modificación química de la quitina, la cual es tratada con una solución alcalina concentrada y caliente; el producto posee un comportamiento marcadamente básico debido al grupo amino en su estructura, el cual le confiere características físicas y químicas de interés para la industria.

Este documento presenta los resultados de la caracterización de los productos de la desacetilación química selectiva de quitina. Las muestras han sido obtenidas mediante el desarrollo de métodos de síntesis en los que se han controlado los parámetros de temperatura del sistema, tiempo de reacción, polímero de partida y concentración de la base.

Los biopolímeros obtenidos han sido caracterizados mediante un análisis fisicoquímico, el grado de desacetilación y el peso molecular han sido los aspectos a

evaluar, estos fueron determinados por métodos potenciométricos, espectroscópicos y viscosimétricos.

Mediante la espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier se ha caracterizado cada polímero según su grado de desacetilación, a partir de las bandas espectroscópicas correspondientes al grupo carbonilo amídico. El grado de desacetilación fue confirmado utilizando la valoración potenciométrica.

En la caracterización de las muestras de quitosano se ha aplicado la viscosimetría capilar, mediante la cual se determinó el peso molecular promedio viscoso, el cual se basa en la obtención de la viscosidad intrínseca, que esta relacionada con el peso molecular según la ecuación de Mark-Houwink.

Además de esta introducción, el informe consta de otros cuatro capítulos. En el capítulo 2 se presentan los fundamentos teóricos relacionados con la temática en estudio. La descripción de las técnicas usadas en la parte experimental se realiza en el capítulo 3, mientras que en el capítulo 4 se describen los resultados obtenidos y se hace una discusión de ellos. Para finalizar, en el capítulo 5 se presentan las conclusiones correspondientes.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Desarrollar métodos de síntesis que permitan la desacetilación química selectiva de la quitina.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Sintetizar muestras de quitosano con grados de acetilación diferentes.
- 2) Demostrar la repetibilidad de los métodos de las síntesis propuestos.
- 3) Determinar el peso molecular de las muestras de quitosano mediante viscosimetría capilar.
- 4) Cuantificar el grado de acetilación de las muestras por espectroscopia infrarroja.

FUNDAMENTO TEÓRICO

2.1 ASPECTOS GENERALES

La quitina se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza, tanto en el reino animal como en el vegetal. De hecho es el segundo polímero natural más abundante, sólo superado por la celulosa, por lo que constituye un importante recurso renovable. Este polímero está compuesto por aminoazúcares unidos entre sí por enlaces glicosídicos β (1 \rightarrow 4) formando una cadena lineal de unidades de N-acetil-2-amino-desoxi-D-glucosa algunas de las cuales se encuentran desacetiladas [1].

Muchos de los polisacáridos encontrados en la naturaleza como la celulosa, dextrano, pectina, ácido algínico, agar, agarosa, etc. son según su estructura neutros o ácidos en la naturaleza, mientras que la quitina y el quitosano son ejemplos de polisacáridos altamente alcalinos.

La gran similitud estructural existente entre la quitina y la celulosa se muestra en la figura 2.1; la diferencia entre ambas se encuentra en el carbono 2, el cual contiene un grupo hidroxilo en la celulosa y un grupo acetamida en la quitina [2]. Ambos biopolímeros desempeñan roles semejantes, ya que actúan como materiales de soporte y defensa en los organismos que lo contienen.

2.1.1 OBTENCIÓN DE QUITINA

La quitina comercial se extrae generalmente a partir de desechos de crustáceos, siendo la principal fuente los exoesqueletos de camarón, langostino, langosta y cangrejo. Las técnicas de extracción reportadas son muy variadas, pues dependen en gran medida de las características de la fuente, ya que la composición del material de partida varía de una especie a otra.

La mayor parte de las técnicas desarrolladas descansan en procesos químicos de hidrólisis de la proteína y la remoción de la materia inorgánica. Algunos incluyen el paso de decoloración de la quitina extraída, mediante un tratamiento con solventes o la oxidación de los pigmentos remanentes. Estos métodos utilizan generalmente grandes cantidades de agua y energía, y con frecuencia dan lugar a desechos corrosivos.

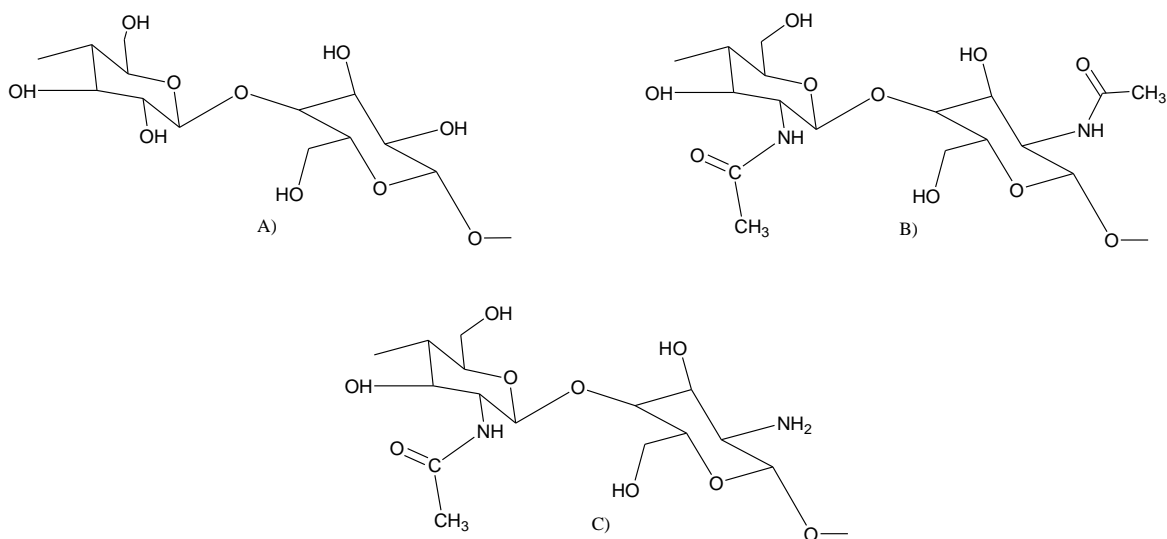


Figura 2.1 Estructura de la unidad repetitiva de A) Celulosa, B) Quitina y C) Quitosano.

En la actualidad se investigan tratamientos enzimáticos como una alternativa promisoriosa. A tal efecto se han reportado procesos que utilizan extractos enzimáticos o enzimas aisladas y fermentaciones microbiológicas, pero aún sin la eficacia de los métodos químicos, fundamentalmente en lo que respecta a la eliminación del material inorgánico [3]. En general los procesos de obtención de quitina se realizan mediante los siguientes pasos consecutivos:

- a) Desproteínización: separación de la proteína.
- b) Desmineralización: Eliminación de la materia orgánica.
- c) Decoloración: Separación de los pigmentos lipídicos (carotenoides).

Con la quitina extraída se procede a la obtención del quitosano por un proceso de desacetilación que puede ser químico o enzimático.

2.1.2 OBTENCIÓN DE QUITOSANO

El quitosano es un polisacárido lineal que se obtiene por desacetilación de la quitina y está compuesto por dos tipos de unidades estructurales, la 2-acetamida-2-desoxi-D-glucopiranososa y 2-amino-2-desoxi-D-glucopiranososa, distribuidas de manera aleatoria (distribución Bernouliana) a lo largo de la cadena; se encuentran unidas entre sí por enlaces del tipo β (1 \rightarrow 4) glicosídicos. En la figura 2.1 se muestran la estructura del quitosano. Sin embargo, resulta muy difícil desacetilar totalmente la quitina, se dice que la quitina presenta un grado de acetilación típico de 0.90, mientras que el quitosano posee un grado de acetilación de menos de 0.35 [4,5]. La capacidad del quitosano de disolverse en soluciones acuosas de ácidos es el criterio comúnmente aceptado para diferenciarlo de la quitina.

La desacetilación de la quitina se puede realizar mediante procesos químicos o enzimáticos. El proceso químico se puede efectuar de forma heterogénea o homogénea. La desacetilación homogénea comienza con un pre-tratamiento de hinchamiento y la eventual disolución completa de la quitina en frío ($\sim 0^{\circ}\text{C}$) mediante la utilización de una relación de quitina a NaOH (p/p) de 1:10. Luego se somete a desacetilación a temperaturas cercanas a la del medioambiente durante períodos largos de tiempo [6].

La desacetilación heterogénea, se lleva a cabo en soluciones acuosas concentradas de bases como hidróxidos de sodio o de potasio (40%-50%), bajo condiciones severas (100-160 $^{\circ}\text{C}$) y sin tratamiento previo de la quitina. Las condiciones en las que se lleva a cabo la

desacetilación heterogénea presentan el riesgo de reducir la longitud de la cadena. Las condiciones específicas de la reacción dependerán de diversos factores, tales como, el grado de desacetilación deseado [6].

No obstante, con un solo tratamiento alcalino, el máximo grado de desacetilación alcanzado no suele sobrepasar del 75% al 85%. Por este motivo es conveniente repetir varias veces el tratamiento alcalino por cortos periodos de tiempo y aislando el producto en cada etapa con el fin de alcanzar grados de desacetilación superior evitándose así la degradación del polímero. En la figura 2.2 se muestra la reacción química de desacetilación de la quitina.

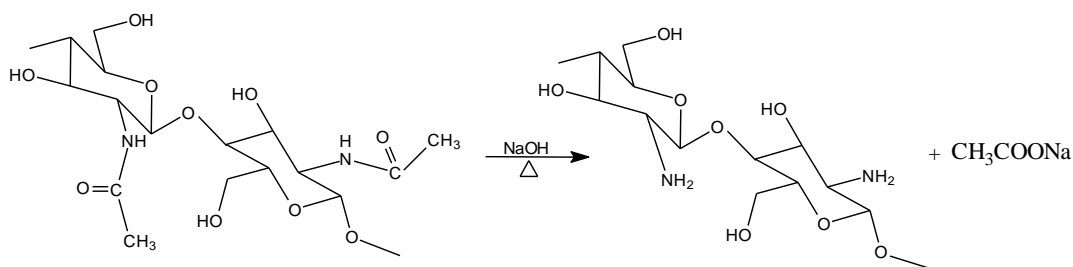


Figura 2.2 Reacción de desacetilación termoalcalina.

2.2 ALGUNAS APLICACIONES DE LA QUITINA Y QUITOSANO

El interés en la quitina se originó a partir de los estudios del comportamiento y las características químicas de la lisozima, una enzima que se encuentra presente en los fluidos corporales humanos [7].

Para la quitina y sus derivados se han reportado una amplia variedad de aplicaciones medicinales a lo largo de las últimas tres décadas [8].

La pobre solubilidad de la quitina es el mayor factor limitante para su utilización; a pesar de esta limitación, varias aplicaciones de la quitina y quitinas modificadas han sido reportadas tales como materia prima para fibras hechas por el hombre [9]. Se ha sugerido que el quitosano puede ser usado para inhibir la fibroplasia de las heridas en sanación y promover el crecimiento de tejidos y la diferenciación en cultivos de tejidos [10].

Las fibras elaboradas basándose en quitina y quitosano son muy útiles como suturas asimilables o como cicatrizantes de heridas [11]. Las suturas de quitina resisten el ataque de la bilis, orina y jugo pancreático, lo cual es un problema cuando se utilizan otro tipo de material [11]. Las aplicaciones en el ámbito de la gran industria podrían ser una posibilidad a largo plazo, algunas de ellas se describen a continuación:

1) Fotografía. En fotografía el quitosano tiene importantes aplicaciones debido a su resistencia a los abrasivos, sus características ópticas y su habilidad de formación de películas. Los complejos de plata no son apreciablemente retenidos por el quitosano, por lo tanto, puede fácilmente ser penetrado de una capa a otra de una película por difusión [7].

2) Cosméticos. Para aplicaciones cosméticas los ácidos orgánicos son usualmente buenos solventes; el quitosano es la única goma natural catiónica que se vuelve viscosa y es neutralizada con ácido. La quitina y el quitosano tienen propiedades fungicidas y fungistáticas. Estos materiales son usados en cremas, lociones, etc., y varios derivados han sido reportados como esmalte para uñas [12].

3) Piel artificial. Malette y colaboradores estudiaron el efecto del tratamiento con quitosano y soluciones salinas sobre la curación y fibroplasia de heridas hechas por incisiones con escalpelo en tejidos de la piel y subcutáneos en la superficie abdominal de los perros [13].

4) **Vendajes basados en quitina y quitosano.** La quitina y el quitosano tienen diferentes propiedades biomédicas distintivas. No obstante los productos cicatrizantes basados en quitina se encuentran todavía en las etapas iniciales de investigación [14].

Recientemente Muzzarelli [15] introdujo otro derivado del quitosano, el 5-metilpirrolidinonaquitosano, el cual se cree puede tener muchas aplicaciones médicas muy promisorias. Este polímero es altamente demandado por ser compatible con otras soluciones poliméricas, incluyendo la gelatina, el alcohol poli(vinílico), la poli(vinilpirrolidona) y el ácido hialurónico. Entre las ventajas se incluyen cicatrizantes de heridas en tejidos meniscales, úlceras, limita y retarda la formación de cicatrices durante la curación. Algunos ejemplos de cicatrizantes fueron preparados a partir de soluciones acuosas de 5-metilpirrolidinonaquitosano. El material podría ser fabricado en formas diferentes, tales como los filamentos, telas sin tejido, etc. Una vez aplicada a una herida, el 5-metilpirrolidinonaquitosano bajo la acción de la lisozima produce oligómeros.

5) **Alimentación y nutrición.** La N-acetilglucosamina (NAG) presente en la leche humana promueve el crecimiento de bacterias bífidas, las cuales generan la lactasa necesaria para la digestión de la lactosa de la leche y bloquean otro tipo de microorganismos. La leche de vaca contiene una limitada cantidad de NAG, por lo tanto algunos infantes que consumen leche de vaca pueden tener indigestión. Muchos animales y algunos humanos (incluyendo los mayores de edad) tienen similar intolerancia a la lactosa [16]. Estudios nutricionales en animales han mostrado que puede ser consumido el suero lácteo si la dieta contiene pequeñas cantidades de quitina; esta mejora es atribuida a los cambios en la microflora intestinal llevada a cabo por el suplemento quitínico [17].

6) Oftalmología. El quitosano posee todas las características ideales para la elaboración de lentes de contacto: claridad óptica, estabilidad mecánica, suficiente corrección óptica, permeabilidad de gases, particularmente con respecto al oxígeno, compatibilidad inmunológica. Los lentes de contacto son hechos a partir del quitosano parcialmente despolimerizado el cual se encuentra en el calamar.

Mediante la técnica de moldeado por hilado; los lentes de contacto obtenidos son claros, resistentes y poseen otras propiedades físicas requeridas tales como módulos de fuerza tensil, fuerza de estiramiento, elongación, contenido de agua y permeabilidad al oxígeno. Las propiedades antimicrobianas y cicatrizantes del quitosano lo hacen muy conveniente para el desarrollo de lentes oculares [18].

7) Captura de metales de las aguas de desecho. Nair y Madhavan [19] utilizaron quitosano para la eliminación de mercurio, y las cinéticas de absorción de los iones de mercurio por el quitosano fueron reportadas por Peniche-Covas [20]. Los resultados indicaron que la eficiencia en la absorción de Hg^{2+} por el quitosano, dependía del tamaño de la partícula, el tiempo de tratamiento, la concentración inicial del Hg^{2+} y de la cantidad de quitosano. McKay y Col. [21] usaron el quitosano para la eliminación de Cu^{2+} , Hg^{2+} , Ni^{2+} y Zn^{2+} dentro de un rango de temperatura de 25-60°C y un pH cercano a la neutralidad.

8) Remoción de color de los desagües de las fábricas textiles. Ningún método simple de decoloración parece ser el óptimo para todas las corrientes de aguas de desecho [22]. Debido a su estructura molecular única, el quitosano tiene una elevada y extrema afinidad para muchas clases de tintes, incluyendo tintes dispersos, directos, reactivos, ácidos, y tintes de sulfuro y naftol. El grado de difusión de tintes en el quitosano es similar al de la celulosa. Solo para tintes básicos es que el quitosano presenta baja afinidad.

La sorción de tintes por el quitosano es exotérmica, un incremento en la temperatura conduce a un incremento en el grado de absorción del tinte, pero disminuye la capacidad de absorción total [23]. Sin embargo, estos efectos pequeños y normales en las variaciones en temperatura de las aguas residuales no afectan significativamente en la realización global de la decoloración [24]. El pH de las aguas residuales puede ser un factor importante en la sorción de ciertos tintes junto con el quitosano, porque a pH bajos los grupos aminos libre de quitosano están protonados, causando que tengan atracción hacia los tintes aniónicos.

Los tiempos de contacto o inversamente, los flujos (aguas residuales por unidad de área de sección transversal) afectan la sorción de una manera compleja debido al tiempo de contacto, penetración básica y efectos límite de capa. Las largas tuberías y flujos elevados generan turbulencias, lo que desvía el líquido alrededor de las partículas de quitosano. En general, flujos bajos tienden a otorgar remociones de contaminantes más completas.

Las aplicaciones de la quitina y el quitosano son numerosas, y mientras en algunos sectores su utilización está consolidada y es habitual (industria farmacéutica, medicina, agricultura, etc.), todavía constituyen una interesante vía de investigación con un prometedor futuro en el caso de la industria alimentaria, entre otras.

2.3 CARACTERIZACIÓN DEL QUITOSANO

Tanto la composición de las cadenas del quitosano como sus dimensiones suelen variar en dependencia del material de partida y de la rigurosidad del método de obtención, por lo que la determinación del grado de desacetilación y su masa molecular son dos parámetros de obligatorio conocimiento para caracterizar una muestra de este polisacárido, ya que ambas tienen una gran incidencia en sus propiedades.

2.3.1 VISCOSIMETRÍA CAPILAR

La viscosidad de las disoluciones diluidas de polímeros a una cierta temperatura se pueden medir adecuadamente utilizando viscosímetros capilares termostatizados. La medida consiste en determinar el tiempo necesario para que una cierta cantidad de disolución pase por un delgado capilar bajo la presión de su propio peso. En este capilar, las moléculas cercanas a la pared viajan a una velocidad inferior a las moléculas del centro. Esta diferencia de velocidad crea rozamientos entre ellas logrando que el paso a través del capilar sea más o menos dificultoso dependiendo de la viscosidad del fluido.

La viscosidad de una disolución polimérica, por diluida que sea, es bastante distinta de la viscosidad del disolvente puro. Esa diferencia puede cuantificarse en términos de la llamada viscosidad relativa o cociente entre la viscosidad de la disolución (η) y la viscosidad del disolvente puro (η_0):

$$\eta_{rel} = \frac{(\eta - \eta_0)}{\eta_0} \approx \frac{(t - t_0)}{t_0} \quad (2.1)$$

t y t_0 son respectivamente, el tiempo de caída de la disolución de polímero y del disolvente puro. También podemos definir la viscosidad específica como:

$$\eta_{esp} = \eta_{rel} - 1 \quad (2.2)$$

la viscosidad específica representa el aumento de viscosidad relativa al polímero.

El número de viscosidad o viscosidad reducida se define como la relación de la viscosidad específica y la concentración, y da la medida de la contribución del soluto a la viscosidad total:

$$\eta_{\text{red}} = \frac{\eta_{\text{esp}}}{C_2} \quad (2.3)$$

En un sistema ideal la viscosidad reducida no es función de la concentración, pero una solución no es un sistema ideal y, por lo tanto, hay que extrapolar a concentración nula; para eliminar las interacciones entre las moléculas de soluto, de modo que resulte una magnitud representativa de la contribución individual que cada una de ellas aporta a la viscosidad de la disolución:

$$[\eta] = \lim_{C_2 \rightarrow 0} \frac{\eta_{\text{esp}}}{C_2} \quad (2.4)$$

donde $[\eta]$ recibe el nombre de viscosidad intrínseca. Dimensionalmente, $[\eta]$ es un volumen por unidad de masa de soluto en la disolución (ya que η_{esp} es adimensional, $[\eta]$ tiene dimensiones de inverso de concentración).

Para efectuar la extrapolación es necesario conocer la dependencia de la viscosidad intrínseca con la concentración. La teoría rigurosa no está aún terminada, pero Huggins propuso una ecuación aproximada [25]:

$$\frac{\eta_{\text{esp}}}{C_2} = [\eta] + K[\eta]^2 C_2 \quad (2.5)$$

la ecuación (2.5) se aplica sólo a soluciones diluidas, generalmente del orden del 1%, para que la viscosidad reducida en función de la concentración de una recta cuya ordenada en el origen es la viscosidad intrínseca. El parámetro **K** es una constante hidrodinámica denominada de Huggins, que depende de las interacciones que se establecen entre las moléculas vecinas de polímeros que se encuentran en disolución.

La viscosidad intrínseca, o número límite de viscosidad $[\eta]$, depende del polímero, del disolvente y de la temperatura. Para un determinado sistema polímero-disolvente-temperatura, $[\eta]$ es función del peso molecular del polímero.

Los resultados experimentales muestran que la variación de $[\eta]$ con M (para un determinado sistema polímero-disolvente-temperatura) es de la forma:

$$[\eta] = kM^a \quad (2.6)$$

donde k y a son constantes que dependen del sistema polímero-disolvente-temperatura que se trate. Esta expresión se conoce con el nombre de ecuación de Mark-Houwink.

El valor del exponente a está relacionado con la conformación de la macromolécula y con las condiciones termodinámicas de la disolución.

La expresión empírica de Mark-Houwink puede utilizarse para determinar el peso molecular de un polímero, a partir de la medida de su viscosidad intrínseca en un disolvente y temperatura dados, para los cuales se conoce k y a .

El valor del peso molecular que se obtiene de estas medidas de viscosidad intrínseca es un promedio distinto de los que proporcionan la osmometría o la difusión de luz, se denomina promedio viscoso, y queda definido mediante:

$$\bar{M}_v = ([\eta]/k)^{1/a} \quad (2.7)$$

La quitina y el quitosano corresponden a una familia de biopolímeros en los cuales el contenido de los grupos acetilos está definido por el grado de N-acetilación o grado de acetilación (GA).

El GA es un parámetro importante de estudio; ya que tiene un marcado efecto en la solubilidad y las propiedades de ambos polímeros. La quitina presenta un grado de acetilación típico de 0.90, mientras que el quitosano posee un grado de acetilación de menos de 0.35 [4].

Se han desarrollado numerosos métodos para determinar el grado de N-acetilación de estos polímeros basados en diversas técnicas, entre las que se pueden mencionar la espectroscopia infrarroja [26], espectroscopia RMN de protón [27], la potenciometría [28] y la espectroscopia UV primera derivada [29]. Otras técnicas alternativas incluyen el análisis elemental, el análisis térmico [30], la cromatografía de permeación en gel [31] y el dicroísmo circular [32]. Estas técnicas se encuentran descritas con detalle en las referencias indicadas; por tanto, en este trabajo sólo se hace reseña de las utilizadas en nuestra investigación.

2.3.2 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA

La porción infrarroja del espectro electromagnético se divide en tres regiones; el infrarrojo cercano, medio y lejano, así nombrados por su relación con el espectro visible. El infrarrojo lejano (aproximadamente $400\text{-}10\text{ cm}^{-1}$) se encuentra adyacente a la región de microondas, posee una baja energía y puede ser usado en espectroscopia rotacional. El infrarrojo medio (aproximadamente $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$) puede ser usado para estudiar las vibraciones fundamentales y la estructura rotacional vibracional, mientras que el infrarrojo cercano ($14000\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$) puede excitar sobretonos o vibraciones armónicas [33].

La espectroscopia infrarroja funciona porque los enlaces químicos tienen frecuencias específicas a las cuales vibran correspondientes a niveles de energía. Las

frecuencias resonantes o frecuencias vibracionales son determinadas por la forma de las superficies de energía potencial molecular, las masas de los átomos y, eventualmente por el acoplamiento vibracional asociado.

Para que un modo vibracional en una molécula sea activa al IR, debe estar asociada con cambios en el dipolo permanente. Moléculas complejas pueden tener muchos enlaces, y las vibraciones pueden ser conjugadas, llevando a absorciones en el infrarrojo a frecuencias características que pueden relacionarse a grupos químicos. Los átomos en un grupo CH₂, encontrado comúnmente en compuestos orgánicos pueden vibrar de seis formas distintas, estiramientos simétricos y asimétricos, flexiones simétricas y asimétricas en el plano, y flexiones simétricas y asimétricas fuera del plano.

La principal utilización de la espectroscopia infrarroja ha sido la identificación de compuestos orgánicos, ya que los espectros correspondientes representan una de las propiedades físicas características de éstos. Además de esta aplicación cualitativa, la espectroscopia infrarroja se emplea cada vez más en el análisis cuantitativo. En este caso, su enorme ventaja reside en la gran selectividad, lo que posibilita a veces la cuantificación de una sustancia en una mezcla compleja sin la realización de mucho trabajo previo de separación.

Por su simplicidad, hasta el presente el método más empleado para determinar el grado de acetilación del quitosano es el que hace uso de la espectroscopia infrarroja. Las muestras se pueden preparar para su análisis en forma de películas o en pastillas de KBr. Las películas se obtienen esparciendo una solución de quitosano al 1-2% en peso en ácido acético 0.1M sobre una placa de vidrio. Las pastillas se preparan moliendo una pequeña cantidad del polímero finamente dividida conjuntamente con KBr y la mezcla se prensa para obtener una pastilla [34].

El uso de IR para determinar el grado de acetilación requiere de una curva de calibración, usando la relación entre la absorbancia (A) de una banda de evaluación (BE), la cual cambia de intensidad con el grado de acetilación y la banda de referencia (BR) que no cambia de intensidad con el GA. La absorbancia de BE y BR son determinadas mediante el método de la línea base (LB) [35].

Sin embargo, la construcción de una ecuación de calibración fiable no es tan sencilla de elaborar. Por un lado, la elección de la mejor combinación de BE, BR y LB no son tan obvias, lo cual se ilustra en la tabla 2.1 con el gran número de relaciones de $ABE(LB)/ABR(LB)$ que se han planteado hasta el día de hoy.

En la figura 2.3 se muestra el espectro de IR-TF en la región comprendida entre 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} de la quitina obtenida en nuestro laboratorio; en las figuras 2.4 y 2.5 se presentan las porciones del espectro IR-TF de la quitina, así como la asignación de algunas de las bandas más relevantes y las líneas base empleadas hasta ahora para determinar la absorbancia de la banda de evaluación y la de referencia.

El espectro IR de la quitina no muestra ninguna banda libre de solapamiento, como consecuencia se presenta una gran dificultad al momento de seleccionar la correcta LB para evaluar la BE y BR. En general, la complejidad de los espectros se debe a la red de enlaces de hidrógeno en los cuales participan los grupos oxhidrilo (OH), carbonilo (C=O) y amino (NH) presentes en la estructura del polímero [36].

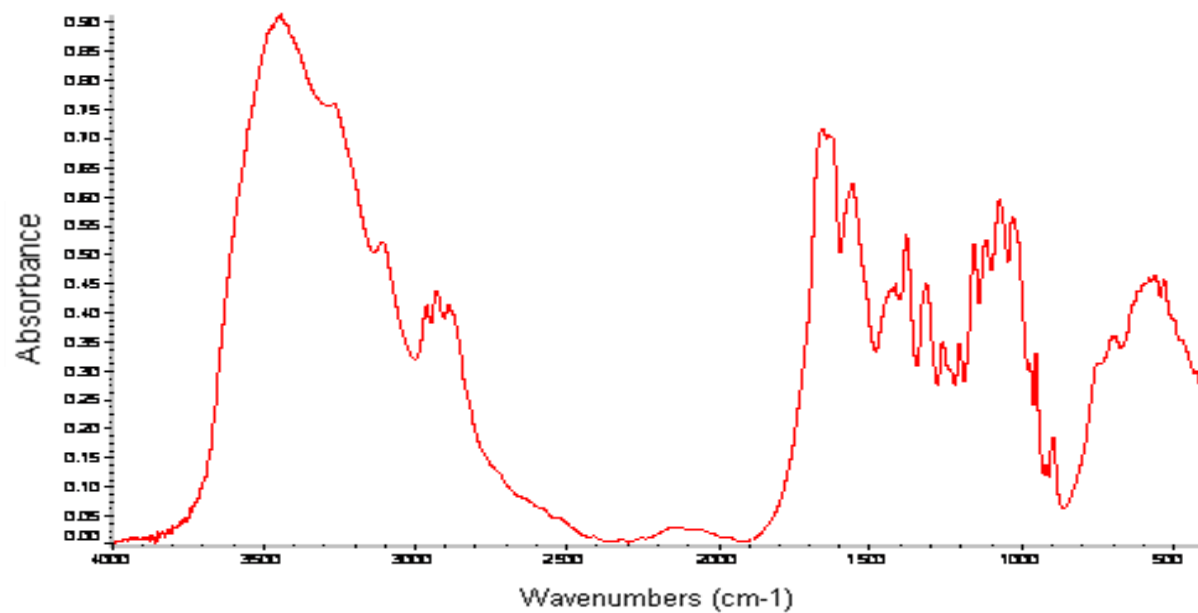


Figura 2.3 Espectro infrarrojo de la quitina en la región entre 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} .

Bandas de evaluación. Las bandas más utilizadas comúnmente son la de tensión de carbonilo, $\nu\text{C}=\text{O}$ (amida I), y la de flexión del enlace nitrógeno-hidrógeno, δNH (amida II), las cuales claramente cambian su intensidad con el GA. Sin embargo, su posición e intensidad son modificadas por la presencia de remanentes de proteínas y calcio contenidos en la matriz de quitina y quitosano [37].

Tabla 2.1. Relaciones entre absorbancias para determinar el GA

$A_{\text{BE(LB)}}/ A_{\text{BR(LB)}}$	Autor
$A_{1550(\text{LB1})}/ A_{2878(\text{LB4})}$	Sannan [37]
$A_{1655(\text{LB3})}/ A_{2867(\text{LB5})}$	Miya [38]
$A_{1655(\text{LB1})}/ A_{3450(\text{LB4})}$	Moore[39], Domszy [40]
$A_{1554(\text{LB2})}/ A_{897(\text{LB7})}$	Miya [41]
$A_{1655(\text{LB3})}/ A_{3450(\text{LB4})}$	Baxter [4], Roberts [42]
$[A_{1655(\text{LB3})} + A_{1630(\text{LB4})}] / A_{1350(\text{LB4})}$	Shigemasa [43]
$[A_{1655(\text{LB3})} + A_{1630(\text{LB8})}] / A_{1070(\text{LB6})}$	Shigemasa [43]

El doblete a 1656 y 1628 cm^{-1} corresponde a $\nu_{\text{C=O}}$ (Figura 2.4) y se deben a la presencia de enlaces de hidrógeno en los que participa el grupo carbonilo [44]. Ambas bandas se ven afectadas por la interferencia de la flexión de los oxhidrilos (δ_{OH}), del agua a 1640 cm^{-1} aproximadamente si las muestras no son secadas apropiadamente.

La banda a 1557 cm^{-1} δ_{NH} , no se considera como una buena banda de prueba para muestras altamente desacetiladas, sin embargo es útil para otro tipo de muestras [45].

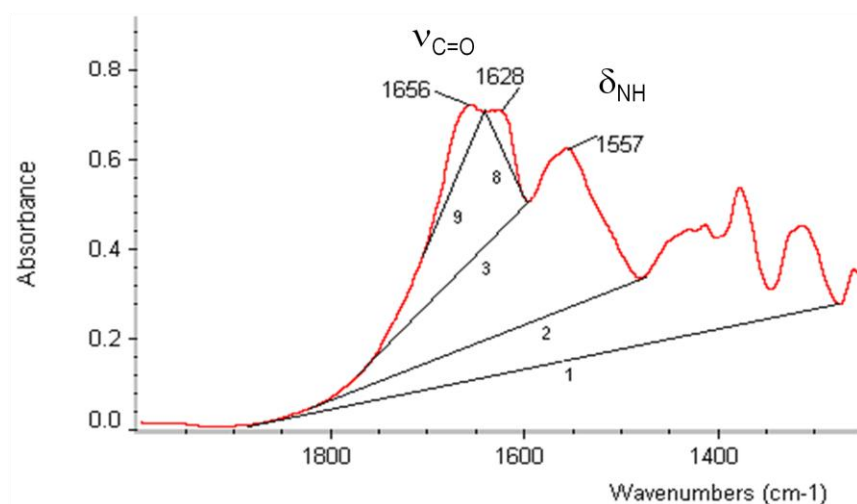


Figura 2.4 Espectro infrarrojo de la quitina en la región de 1200 a 2000 cm^{-1} : bandas de evaluación (BE) y las respectivas líneas base (LB).

Banda de referencia. Hasta el día de hoy la señal de IR más empleada como banda de referencia (BR) ha sido la de tensión oxígeno-hidrógeno y carbono-hidrógeno, respectivamente, ν_{OH} y ν_{CH} , a 3446 y 2888 cm^{-1} ; ver figura 2.5.

Aunque esta señal (ν_{OH}) no sufre modificaciones con la reacción de desacetilación, puede sufrir interferencias de una segunda ν_{OH} a aproximadamente 3475 cm^{-1} , debido a la formación de otro tipo de enlace de hidrógeno, en el cual esta involucrado el grupo CH_2OH

[44]. Así como, la intensidad de ν_{NH} a 3265 cm^{-1} , la cual varía con el GA, son consideraciones que se deben tener en cuenta cuando se utiliza la línea base 4 para determinar la absorbancia del ν_{OH} .

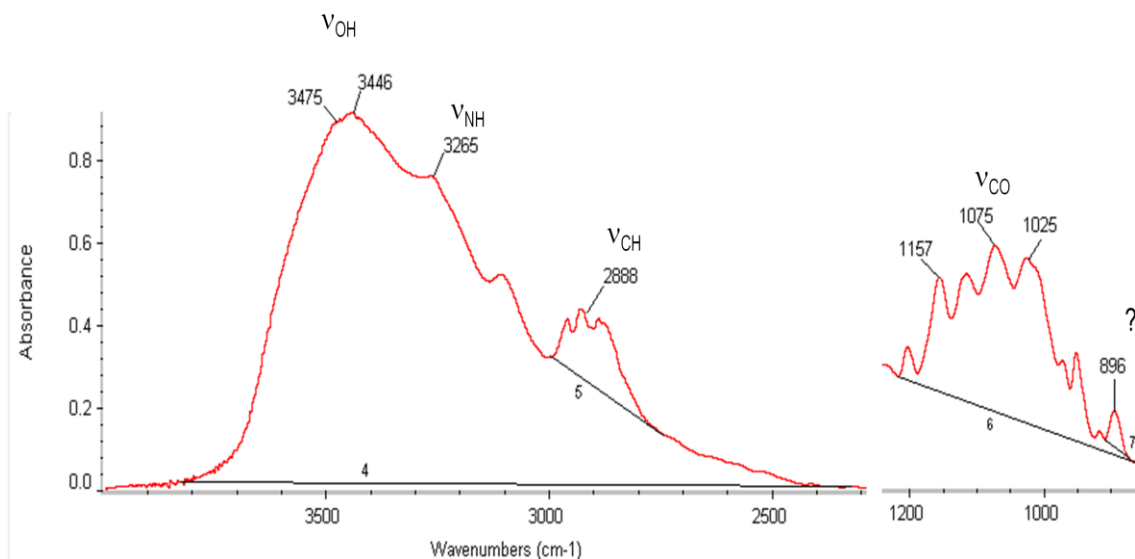


Figura 2.5 Espectro infrarrojo de la quitina: bandas de referencia (BR) y las respectivas líneas base (LB).

La ν_{CH} a 2888 cm^{-1} se esconde en una región compleja del espectro donde al menos cinco bandas se observan debido a estiramiento simétricos y asimétricos a los CH del anillo y del CH_3 , así como del CH_2OH presentes en la estructura [36], está última es la única que cambia su intensidad con el GA.

Entre 1300 y 800 cm^{-1} , se han estudiado tres señales correspondientes a estiramientos del CO, ν_{CO} , a 1157 , 1075 y 1025 cm^{-1} , [41] y solamente dos han sido propuestas como BR [43]. La intensidad de la banda a 1157 cm^{-1} , asignado al estiramiento asimétrico de, ν_{CO} , del puente de oxígeno, puede cambiar si se verifica un depolimerización durante la reacción de desacetilación.

En la región de las bandas a 1074 y 1025 cm^{-1} , se observan al menos cuatro bandas que se atribuyen al ν_{CO} , del anillo COH y de los grupos COC y CH_2OH , intensidad de los cuales no se espera que cambia con el GA. Finalmente, la banda que aparece a 896 cm^{-1} no está claramente asignada y es relativamente débil.

El método de Baxter y col. [4] ha sido empleado ampliamente por su relativa facilidad, el grado de acetilación se calcula por la ecuación:

$$\%GA = \left(\frac{A_{1655}}{A_{3450}} \right) 115 \quad (2.8)$$

donde A_{1655} y A_{3450} son las adsorbancias del pico correspondiente a la banda de evaluación (amida I) y de la banda tomada como referencia (estiramiento de OH), respectivamente.

Sin embargo, más recientemente Brugnerotto y colaboradores [46] realizaron una extensiva investigación en la que analizaron 25 muestras de quitina y quitosano de diferentes fuentes y con grados de acetilación, determinados por espectroscopia RMN, que iban desde 0.5% hasta 97.9%. Tomando como banda característica la banda localizada a 1320 cm^{-1} y como referencia la banda a 1420 cm^{-1} obteniéndose una correlación lineal que viene expresada por la siguiente relación; con $r = 0.990$:

$$\%GA = 31.92 \left(\frac{A_{1320}}{A_{1420}} \right) - 12.20 \quad (2.9)$$

En todas estas determinaciones por IR es muy importante la selección adecuada de las líneas de base en el cálculo de la absorbancia para obtener buenos resultados [42].

2.3.3 ANÁLISIS POTENCIOMÉTRICO

Se denomina titulación al procedimiento para determinar la concentración de un ácido o una base en solución, por medio de la adición de una base o un ácido de concentración conocida. Durante la titulación, el punto en que se neutraliza un ácido o una base se denomina punto de equivalencia.

Si se va añadiendo poco a poco una base a un ácido, el pH de la solución se incrementa con cada adición de base. El diagrama que representa la variación del pH durante la valoración se denomina curva de titulación.

En la representación gráfica del pH, en función de la cantidad de base añadida se observa una subida brusca en el punto de equivalencia. El pH de la solución antes del punto de equivalencia se determina por la concentración del ácido que aún no ha sido neutralizado por la base. El pH en el punto de equivalencia es el pH de la sal resultante.

Así, el punto final de la titulación se determina calculando el cambio de potencial por unidad de cambio en el volumen del reactivo (es decir $\Delta E/\Delta V$; primera derivada de la curva) [33], donde se supone que la curva de titulación es asimétrica con relación al verdadero punto de equivalencia, y que la inflexión en la curva corresponde a dicho punto. Este supuesto es perfectamente válido, siempre que las especies químicas participantes en el proceso reaccionen entre sí en una forma equimolar.

La determinación del contenido de grupos amino en el quitosano se realiza por una titulación potenciométrica ácido-base, método propuesto por Broussignac [47], la cual consiste en medir las variaciones de los valores de pH al titular una solución de quitosano.

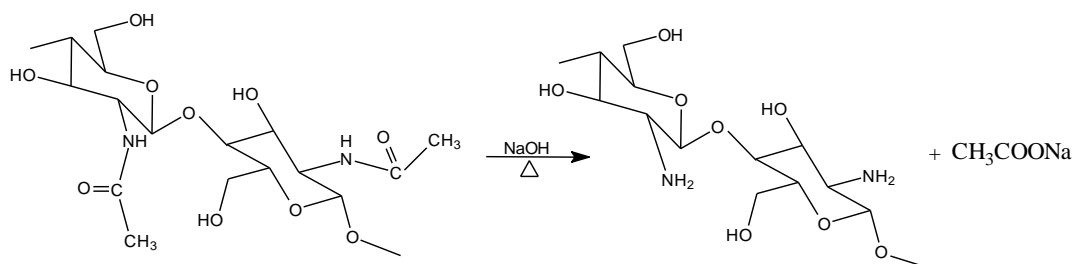
El quitosano es disuelto en HCl y titulado con NaOH; esto produce una curva de titulación con dos puntos de inflexión, la diferencia entre las dos abscisas corresponde a la cantidad de ácido requerido para protonar los grupos amino del quitosano. La concentración del grupo amino esta determinada por la ecuación:

$$\% \text{NH}_2 = \frac{16.1(Y - X)}{W} f \quad (2.10)$$

donde **Y** es el punto de inflexión mayor, **X** corresponde al punto de inflexión menor, ambos expresados como volúmenes, **f** es la molaridad de la solución de NaOH, **W** el peso en gramos de la muestra y 16.1 es un valor relacionado con el peso equivalente del quitosano.

PARTE EXPERIMENTAL

En este apartado se describen los métodos de síntesis de muestras de quitosano con grados de acetilación diferentes. Para lo cual se partió de quitina extraída de exoesqueletos de camarón; la que se modificó químicamente mediante una reacción termoalcalina, dicho proceso de modificación consiste en la remoción de unidades acetilo, de acuerdo a la siguiente ecuación:



Cada uno de los métodos aquí descritos se realizaron por triplicado. A continuación se detallan los procedimientos para la obtención de los polímeros, los parámetros controlados en cada síntesis, así como las técnicas experimentales empleadas en su caracterización.

3.1 TRATAMIENTO DE LOS EXOESQUELETOS

La quitina se obtuvo a partir de exoesqueletos de camarón, para ello fue necesario remover los pigmentos, sales y proteínas asociadas al biopolímero, mediante tratamientos consecutivos con sustancias químicas. Posteriormente se procedió a realizar una modificación química con hidróxido de sodio concentrado, para la obtención de quitosano.

Preparación de las muestras. Las muestras fueron lavadas bajo el chorro de agua corriente, se secaron en una estufa eléctrica a 80°C por 3 días. Los exoesqueletos secos se trituraron y molieron en una licuadora convencional, posteriormente se tamizaron utilizando una malla Mesh No. 40.

3.2 OBTENCIÓN DE QUITINA.

La quitina se obtuvo a través del siguiente proceso:

1) Los exoqueletos de camarón, molidos y tamizados, se someten a un proceso de despigmentación química con la mezcla de solventes: éter de petróleo, agua y acetona en la proporción 15/10/75. Para ello se coloca la harina en un matraz provisto de agitación magnética, por dos horas a temperatura ambiente. Posteriormente se procede a filtrar el producto en un embudo Buchner y finalmente se seca en una estufa eléctrica a 50°C durante 6 horas.

2) El producto obtenido en la fase anterior se somete a una descalcificación mediante tratamiento con ácido clorhídrico 1 M durante tres horas a temperatura ambiente, en un matraz con agitación constante. Finalmente, se procede a filtrar en un embudo Buchner, haciendo lavados con agua destilada hasta alcanzar la neutralidad del medio.

3) El tratamiento siguiente es la desproteínización química, la cual se lleva a cabo en un matraz equipado con condensador de reflujo, mediante el empleo de hidróxido de sodio al 4.5%. El proceso se realiza durante 3 horas, a 65°C y con agitación constante. El producto obtenido se purifica filtrando en un embudo Buchner y realizando lavados con agua destilada caliente hasta lograr la eliminación del exceso de base.

3.3 OBTENCIÓN DE QUITOSANO

A continuación se describen los métodos de síntesis mediante los cuales se obtuvieron muestras de quitosano con diferente grado de acetilación.

3.3.1 MÉTODO DE SÍNTESIS 1

Se colocan 200 mL de una disolución de hidróxido de sodio al 50% en un matraz de fondo redondo de tres bocas, se acopla al balón un sistema de reflujo, un termómetro y un sistema de agitación. Se agita la disolución a 9500 rpm y utilizando una manta de calentamiento se alcanza una temperatura constante de 120°C. Manteniendo las condiciones se agregan 10 g de quitina. El sistema se mantiene en reflujo, con agitación en una atmósfera de aire, durante 90 minutos. Finalizado el tiempo de reacción se purifica el producto por filtración y continuos lavados con agua destilada, hasta alcanzar la neutralidad en la solución de lavado. El polímero obtenido se coloca en un frasco de vidrio y se conserva a temperatura ambiente en un desecador.

3.3.2 MÉTODO DE SÍNTESIS 2

Se colocan 200 mL de una disolución de hidróxido de sodio al 70% en un matraz de fondo redondo de tres bocas, se acopla al balón un sistema de reflujo, un termómetro y un sistema de agitación. Se agita la disolución a 9500 rpm y utilizando una manta de calentamiento se alcanza una temperatura constante de 135°C. Manteniendo las condiciones se agregan 10 g de quitina. El sistema se mantiene en reflujo, con agitación en una atmósfera de aire, durante 60 minutos. Finalizado el tiempo de reacción se purifica el producto por filtración y continuos lavados con agua destilada, hasta alcanzar la neutralidad en la solución de lavado. El polímero obtenido se coloca en un frasco de vidrio y se conserva a temperatura ambiente en un desecador.

3.3.3 MÉTODO DE SÍNTESIS 3

Se colocan 200 mL de una disolución de hidróxido de sodio al 50% en un matraz de fondo redondo de tres bocas, se acopla al balón un sistema de reflujo, un termómetro y un sistema de agitación. Se agita la disolución a 9500 rpm y utilizando una manta de calentamiento se alcanza una temperatura constante de 120°C. Manteniendo las condiciones se agregan 10 g de quitosano. El sistema se mantiene en reflujo, con agitación en una atmósfera de aire, durante 60 minutos. Finalizado el tiempo de reacción se purifica el producto por filtración y continuos lavados con agua destilada, hasta alcanzar la neutralidad en la solución de lavado. El polímero obtenido se coloca en un frasco de vidrio y se conserva a temperatura ambiente en un desecador.

3.3.4 MÉTODO DE SÍNTESIS 4

Se colocan 200 mL de una disolución de hidróxido de sodio al 50% en un matraz de fondo redondo de tres bocas, se acopla al balón un sistema de reflujo, un termómetro y un sistema de agitación. Se agita la disolución a 9500 rpm y utilizando una manta de calentamiento se alcanza una temperatura constante de 120°C. Manteniendo las condiciones se agregan 10 g de quitosano. El sistema se mantiene en reflujo, con agitación en una atmósfera de aire, durante 60 minutos. Finalizado el tiempo de reacción se purifica el producto por filtración y continuos lavados con agua destilada, hasta alcanzar la neutralidad en la solución de lavado. El polímero obtenido se coloca en un frasco de vidrio y se conserva a temperatura ambiente en un desecador.

3.4 CARACTERIZACIÓN DE LAS MUESTRAS

En la realización de este trabajo, se caracterizaron cada uno de los productos que se obtuvieron en las tres repeticiones realizadas para cada uno de los métodos de síntesis propuestos. Cada uno de ellos fue analizado en forma individual y por triplicado bajo las condiciones descritas en los siguientes apartados.

3.4.1 VISCOSIMETRÍA CAPILAR

Para determinar el peso molecular de los polímeros se utilizó un viscosímetro capilar tipo Ubbelohde, equipado con un baño termostático controlado por un recirculador de agua marca Lauda modelo D-97922, con capacidad de regular la temperatura en $\pm 0.01^\circ\text{C}$. Las muestras de quitosano se prepararon por disolución en una mezcla compuesta de ácido acético 0.1 M y cloruro de sodio 0.2 M. La concentración inicial del polímero fue 1.0×10^{-3} g/mL en todos los casos.

Antes de utilizar el viscosímetro es necesario lavarlo con mezcla sulfocrómica, luego lavar varias veces con agua normal, con agua destilada filtrada y finalmente con acetona filtrada, a fin de facilitar el secado del instrumento. Con el viscosímetro limpio y seco se procede a la determinación de los tiempos de caída del disolvente y de las disoluciones poliméricas.

De acuerdo con la ecuación (2.1), es necesario conocer el tiempo de caída de la mezcla utilizada como disolvente. Para ello se filtran 10 mL de dicha mezcla por tres veces utilizando un embudo Buchner que tenga una placa de vidrio fritado, y se introducen 8 mL en el viscosímetro, procediendo a determinar su tiempo de caída. Una vez finalizado el

proceso, se limpia el viscosímetro con acetona y se seca. Seguidamente se filtra tres veces la disolución de polímero que se va a analizar y se introducen en el viscosímetro 8 mL.

Se sitúa el viscosímetro en el baño termostático y se mide el tiempo de caída de la solución. Una vez determinado éste se procede a efectuar la primera dilución, añadiendo 1 mL de disolvente perfectamente medido con una pipeta. Se agita con cuidado el viscosímetro para homogenizar la disolución y se mide su tiempo de caída. De igual forma se efectúan las diluciones y medidas posteriores. La secuencia de dilución es: 1 mL, 1 mL, 2 mL y 2 mL.

La viscosidad relativa (η_{rel}) se determina en cada caso mediante la ecuación (2.1) a partir de los tiempos de caída de las disoluciones poliméricas (t) y el tiempo de caída del disolvente (t_0); a continuación se calcula la viscosidad específica usando la ecuación (2.2).

Una vez conocidos los valores de viscosidad reducida para cada concentración, según la ecuación (2.3), la viscosidad intrínseca se obtiene por extrapolación a concentración nula, usando la ecuación de Huggins (2.5).

Como se mencionó en el fundamento teórico, la relación empírica de Mark-Houwink puede utilizarse para determinar el peso molecular promedio viscoso de un polímero, a partir de la medida de su viscosidad intrínseca en un disolvente y temperatura dados, para los cuales se conocen las constantes **k** y **a** de la ecuación (2.6).

Para quitosano en la mezcla 0.1 M HOAC-0.2 M NaCl a 25°C tenemos que, según el trabajo de Maghami y Roberts [48], la ecuación viscosimétrica es:

$$[\eta] = 1.81 \times 10^{-3} \bar{M}_v^{0.93}$$

es decir que el peso molecular promedio viscoso se expresa según:

$$\bar{M}_v = ([\eta] / 1.81 \times 10^{-3})^{1/0.93}$$

3.4.2 GRADO DE ACETILACIÓN: ESPECTROSCOPIA INFRARROJA.

Los espectros infrarrojos de los polímeros fueron realizados con un equipo ThermoNicolet modelo avatar 330 FT-IR. Este equipo permite trabajar en el IR medio ($400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$) y dispone de un detector de sulfato de triglicina deuterado (DTGS). Los espectros se obtuvieron con una resolución de 4 cm^{-1} , y corresponden al promedio de 40 barridos en una muestra sólida de polímero en bromuro potásico (KBr).

Para la cual se prepara una mezcla de quitosano-KBr 4%, pesando 0.0120 g de quitosano y 0.3000 g KBr en la balanza analítica; ambas sustancias han sido homogenizadas, por separado, en un mortero de ágata y sometidas a un tratamiento de secado a 100°C en una estufa por 24 horas.

Las pastillas se obtienen de la siguiente forma: colocando el molde de la prensa para pastillas del espectrofotómetro en la balanza; se pesa 0.03g de la mezcla previamente triturada y homogenizada de quitosano-KBr 4%; a continuación se traslada el molde a la prensa para formar la pastilla.

Determinación de las áreas: para la banda a 3450 cm^{-1} que corresponde a la banda de referencia (BR) la línea base se fija en los límites comprendidos entre los números de onda $3900\text{-}1850\text{ cm}^{-1}$. Para la banda de evaluación (BE) a 1655 cm^{-1} , la línea base se fija en los límites comprendidos entre los números de onda $1720\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$. El grado de acetilación se calcula utilizando la ecuación (2.8).

3.4.3 GRADO DE DESACETILACIÓN: POTENCIOMETRÍA.

En la determinación del porcentaje de grupos aminos presentes después de la reacción termoalcalina se utilizo un pHmetro Hanna Instruments, modelo 93140 el cual ha sido previamente calibrado; los buffer de calibración utilizados fueron los de pH 7.01, 4.01 o 10.1 ± 0.1 a 25°C, proveídos por Hanna Instruments .

A continuación se procede a la disolución de 0.5 g de cada uno de las muestras por separado en 20 mL de HCl 0.3 M. La disolución luego se titula con una solución de NaOH 0.1 M, la cual ha sido estandarizada previamente con biftalato de potasio como patrón primario.

La valoración se lleva a cabo midiendo el cambio de pH cada 2 mL de base añadida, la adición se realiza de forma lenta y con agitación continua para homogenizar la solución y evitar errores debidos a la posible precipitación del biopolímero.

Con los datos obtenidos se hace la representación gráfica de cambio de potencial obtenido versus volumen de base gastado; los puntos de inflexión, expresados como volúmenes, se determinan según el criterio de la primera derivada. Los valores obtenidos se tratan según la ecuación (2.10), lo que permite determinar el porcentaje de grupos amino presentes en la estructura de la macromolécula.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este apartado se presentan los resultados obtenidos de la desacetilación selectiva de la quitina, para lo cual se desarrollaron cuatro métodos de síntesis a partir de los que se obtuvieron productos con diferente grado de desacetilación.

Cada método de desacetilación se realizó por triplicado según lo descrito en el capítulo 3, obteniéndose un total de doce productos; a cada uno de ellos se les determinó el grado de acetilación mediante espectroscopia infrarroja, el cual se utilizó como parámetro de representativo de la reacción de desacetilación y mediante un análisis estadístico se determina la repetibilidad de los métodos de síntesis propuestos; finalmente se reporta el peso molecular promedio viscoso de las muestras obtenidas.

4.1 PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DE LAS SÍNTESIS.

MÉTODO DE SÍNTESIS 1: Partiendo de 10 g de quitina y con hidróxido de sodio al 50%, a una temperatura constante de 120°C durante 90 minutos se ha obtenido un porcentaje promedio de rendimiento de 80.6% de producto desacetilado.

MÉTODO DE SÍNTESIS 2: De una muestra de 10 g de quitina y una solución de hidróxido de sodio al 70% a una temperatura constante de 135°C durante 60 minutos se obtuvo un porcentaje promedio de rendimiento de 75.1% de polímero.

MÉTODO DE SÍNTESIS 3: La obtención de los productos del método de síntesis 3, se ha realizado mediante la remoción selectiva de los grupos acetilo de una muestra de quitosano. Se colocaron 10 g de quitosano en un reactor con hidróxido de sodio al 50% y una temperatura constante de 120°C durante 60 minutos, obteniéndose un porcentaje promedio de rendimiento de 80.2%.

MÉTODO DE SÍNTESIS 4: Se colocaron 10 g de quitosano en un reactor con hidróxido de sodio al 50% y una temperatura constante de 120°C durante 60 minutos, obteniéndose un porcentaje promedio de rendimiento de 73.0%. Ver resumen de los porcentajes de rendimiento en la tabla 4.1.

Los resultados indican que las condiciones de reacción planteadas para cada una de las síntesis permiten obtener un buen rendimiento; por lo cual se puede considerar que los métodos descritos son viables desde el punto de vista del porcentaje de obtención de los productos.

Tabla 4.1 Porcentaje de rendimiento promedio de cada método de síntesis.

Método	% R ₁	% R ₂	% R ₃	$\overline{\%R}$
1	81.0	81.0	80.0	80.6
2	74.5	76.0	74.9	75.1
3	80.2	80.0	80.5	80.2
4	72.0	72.0	75.0	73.0

Cada uno de los productos se ha caracterizado determinando el grado de desacetilación y el peso molecular promedio viscoso como parámetros de evaluación.

Por espectroscopia infrarroja, se ha determinado el porcentaje de grupos acetilos presentes en el polímero; utilizando la titulación potenciométrica, se obtuvo el porcentaje de grupos aminos existentes en la muestra de biopolímero y el peso molecular promedio viscoso se determinó por viscosimetría capilar, según lo descrito en el capítulo 3.

4.2 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA Y REPETIBILIDAD DE LOS MÉTODOS DE SÍNTESIS.

Los espectros infrarrojos se tomaron a partir de pastillas formadas por una mezcla del respectivo polímero con bromuro de potasio (quitosano-KBr 4%) una vez formada la pastilla se realiza un proceso de secado para eliminar la humedad. Las condiciones del trabajo en el aparato fueron las siguientes: resolución de 4 cm^{-1} , 40 barridos y corrección automática de H_2O y CO_2 . Los espectros infrarrojos de los productos obtenidos a partir de cada uno de los métodos de síntesis propuestos se muestran en las figuras 4.1 a la 4.4.

Lo más importante que resaltar de los espectros es la diferencia que existe entre la intensidad relativa de la señal que en el espectro de la quitina aparece a 1655 cm^{-1} , que es debida a la tensión de grupos carbonilo amídicos libres, y la banda que corresponde a la flexión del grupo amino, que aparece aproximadamente a 1556 cm^{-1} .

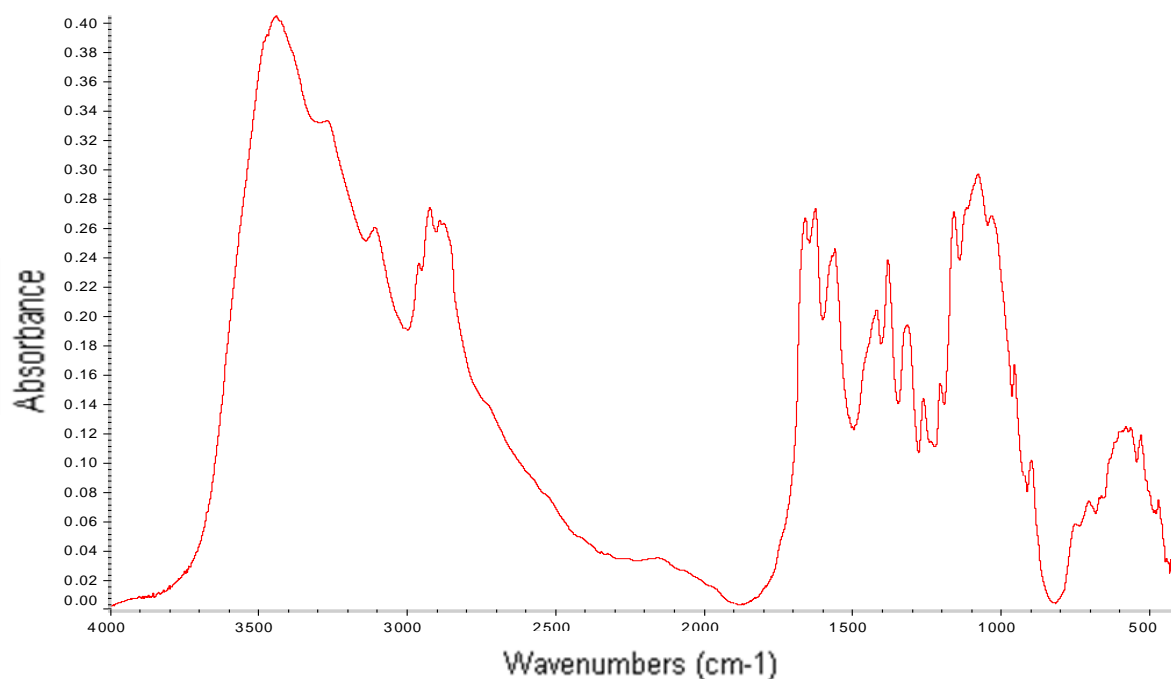


Figura 4.1 Espectro infrarrojo de quitosano obtenido a partir del método de síntesis 1.

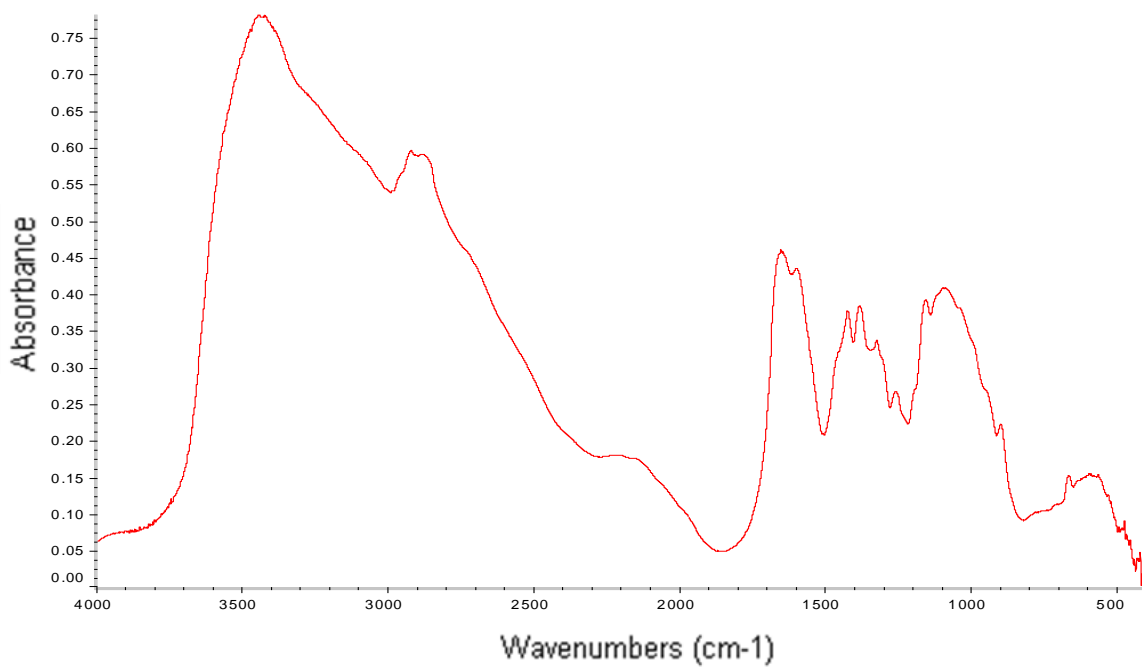


Figura 4.2 Espectro infrarrojo de quitosano obtenido a partir del método de síntesis 2.

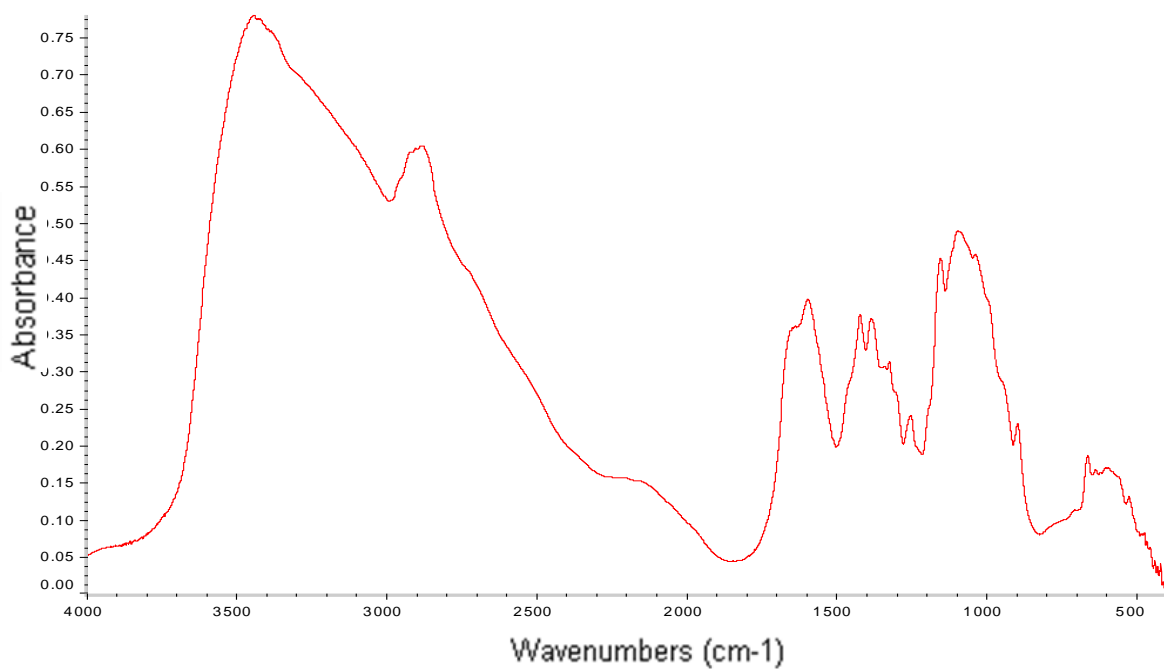


Figura 4.3 Espectro infrarrojo de quitosano obtenido a partir del método de síntesis 3.

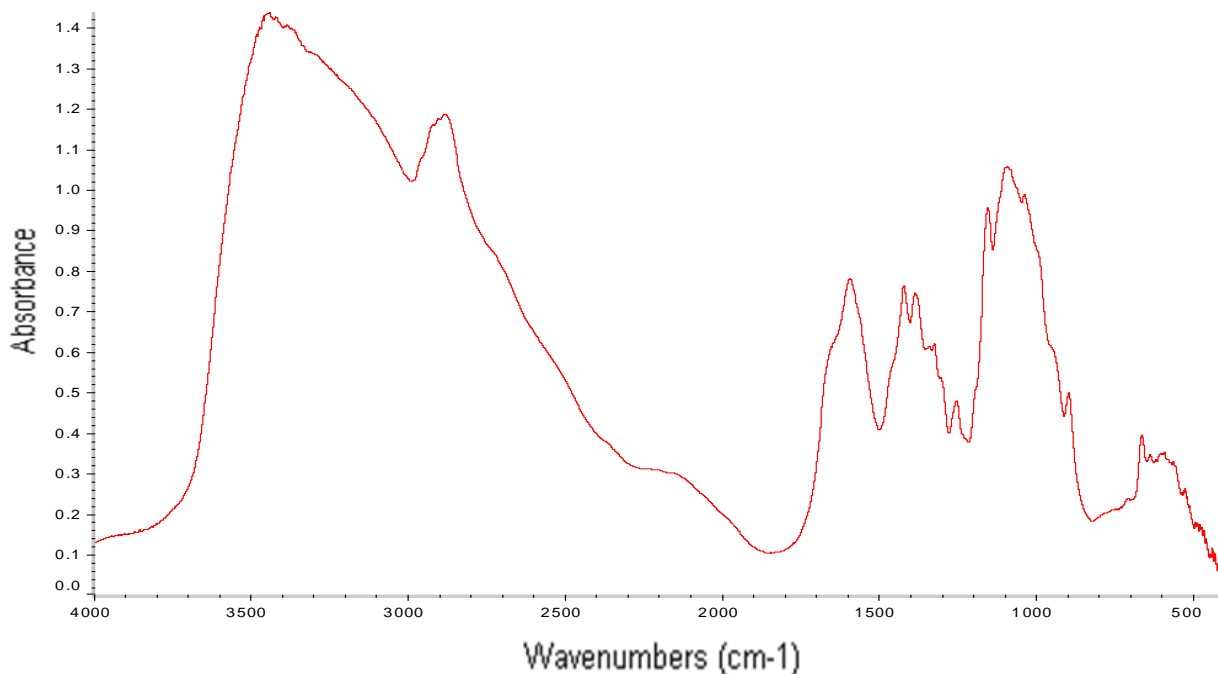


Figura 4.4 Espectro infrarrojo de quitosano obtenido a partir del método de síntesis 4.

En la figura 4.5 se presenta una comparación de las bandas en la región de 2000 a 1200cm⁻¹ de las cuatro muestras de quitosano, ya que es en la intensidad de dicha señal en la que se aprecia la modificación química producida por la desacetilación que ha sufrido el biopolimero. En el espectro del producto obtenido por el método de síntesis 1 (color azul) se aprecia la señal de la banda amida I como dos picos, tal como se ha señalado en el espectro de la quitina. La intensidad de dicha banda disminuye proporcionalmente al grado de desacetilación, tal como se aprecia en los espectros de la síntesis 2 (color verde), síntesis 3 (color celeste) y la muestra de la síntesis 4 en (color rojo). Al mismo tiempo se observa el aumento de la intensidad de la señal de la banda del grupo amino, cercano a 1557 cm⁻¹.

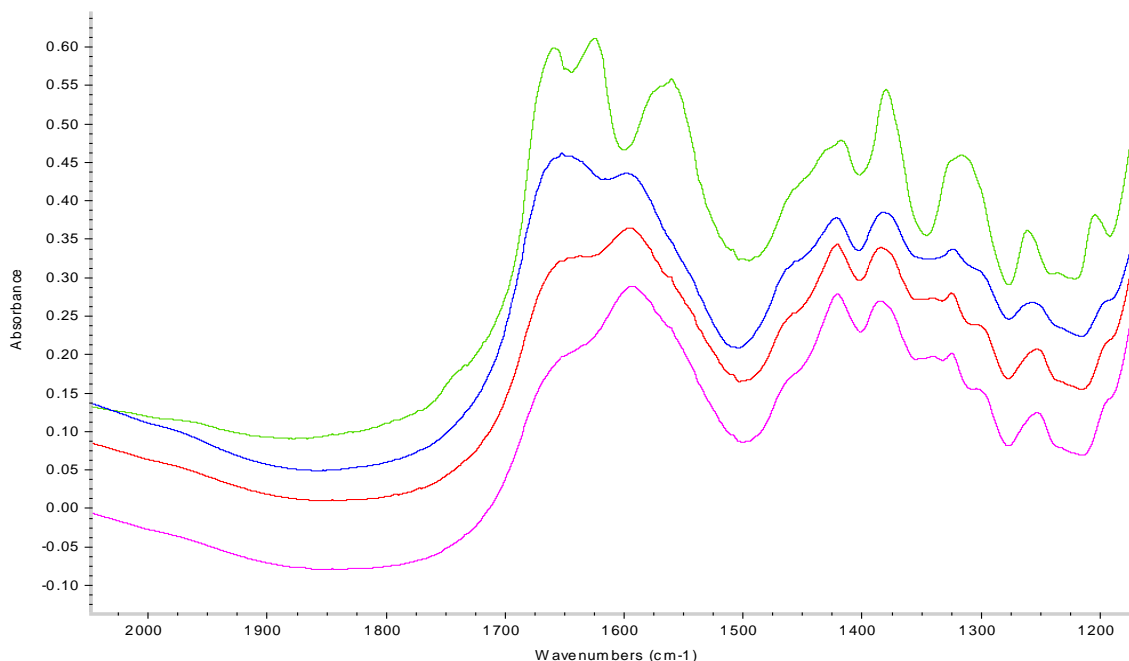


Figura 4.5 Comparación de la señal a 1655 cm^{-1} . método 1 (---), método 2 (---), método 3 (---) y método 4 (---).

El análisis de los espectros infrarrojos consistió en evaluar la intensidad relativa de la señal que aparece aproximadamente a 1655 cm^{-1} , que es debida a la tensión de grupos carbonilo amídicos, la cual se considera como banda de evaluación (BE) y la banda de referencia (BR) que corresponde a la señal de estiramiento de hidroxilos a 3446 cm^{-1} . A cada banda se le asignó la correspondiente línea base según se ha explicado en la parte experimental.

El método utilizado para la determinación del grado de acetilación de las muestras de quitosano es el propuesto por Baxter et. al. [4], que emplea la razón de áreas A_{1655}/A_{3450} , ecuación (2.8).

El grado de acetilación de cada una de las muestras de quitosano se ha calculado mediante la ecuación (2.8), determinando el área de absorbancia de la banda de referencia y la banda de evaluación, las medidas se han realizado por triplicado.

En la tabla 4.2 se reportan las áreas calculadas de las bandas a 1655 y 3450 cm^{-1} , la relación de áreas de los espectros infrarrojos y el grado de acetilación del producto 1.1, el cual ha sido analizado por triplicado.

Tabla 4.2 Resultados del análisis del grado de acetilación para el producto 1.1.

Replica	A_{1655} (cm^2)	A_{3450} (cm^2)	A_{1655}/A_{3450}	%GA
1	0.098	0.314	0.312	35.89
2	0.099	0.331	0.299	34.40
3	0.121	0.398	0.304	34.96

En la tabla 4.3 se resumen los valores de grado de acetilación de los productos obtenidos por el método de la síntesis 1, las replicas se llevaron a cabo todas de la misma forma, según se describe en el apartado 3.3.

Tabla 4.3 Grado de acetilación de los productos del método de síntesis 1.

Producto	GA ₁	GA ₂	GA ₃	$\overline{GA} \pm s$
1.1	35.89	34.40	34.96	35.08 ± 0.76
1.2	33.35	33.55	34.30	33.74 ± 0.50
1.3	32.70	32.47	31.91	32.56 ± 0.40

Para la determinación de la repetibilidad del método se comparan entre sí los resultados obtenidos. El tratamiento estadístico consiste en el análisis de varianza (ANOVA) para establecer si existen o no diferencias significativas entre los valores de grado de acetilación obtenidos a partir de las síntesis hechas, utilizando el mismo método por el mismo analista en diferentes días.

Si no existe diferencia significativa según la prueba F con un nivel de significancia del 5%, se establece que el método es repetible en el intervalo de trabajo. Para ello se determina un valor de F experimental (F_{Exp}) que es igual al cociente $(S_1)^2/(S_2)^2$. Siendo S_1 y S_2 las desviaciones estándar de los grados de acetilación calculados que se están comparando; siendo necesario que se cumpla que $(S_1)^2 > (S_2)^2$.

El valor de F experimental se compara con un valor obtenido de una tabla de distribución F (F_{Tab}), que debe tener n_1-1 grados de libertad en el numerador y n_2-1 grados de libertad en el denominador y un nivel de significancia de al menos 10%. Si $F_{Exp} < F_{Tab}$ se confirma la hipótesis nula, es decir que no existen diferencias estadísticas significativas entre los grados de acetilación y el método cumple con la condición de repetibilidad.

En la Tabla 4.4 se presentan los resultados obtenidos de la comparación estadística de las desviaciones de las tres repeticiones del método de síntesis 1. Para las tres comparaciones se tiene que no existen diferencias estadísticamente significativas, F_{Exp} es menor que F_{Tab} en todos los casos, y por tanto, queda demostrado que el método de síntesis propuesto cumple con la condición de repetibilidad.

Tabla 4.4 ANOVA del grado de acetilación obtenido mediante espectroscopia infrarroja de las tres repeticiones del método de síntesis 1.

Producto	S	S ²	F _{Exp}
1.1	0.76	0.58	2.31
1.2	0.50	0.25	
1.1	0.76	0.58	3.61
1.3	0.40	0.16	
1.2	0.50	0.25	1.56
1.3	0.40	0.16	

$$F_{tab} (F_{2, 2, 0.10}) = 9$$

Consecuentemente se puede concluir que el control sobre los parámetros de temperatura, concentración del álcali y el tiempo de reacción; para el método de síntesis 1, generan como producto de reacción un quitosano con grado de acetilación de 33.79%, lo que equivale a un grado de desacetilación de 66.21%.

Todos los productos provenientes de los métodos de síntesis 2, 3 y 4 se analizaron de forma idéntica a los productos del método de síntesis 1.

Los resultados del estudio espectroscópico de los productos del método de síntesis 2 se reportan en la tabla 4.5 y el análisis de las varianzas en la tabla 4.6.

Tabla 4.5 Grado de acetilación de los productos del método de síntesis 2.

Producto	GA ₁	GA ₂	GA ₃	$\overline{GA} \pm s$
2.1	24.34	24.63	24.14	24.37 ± 0.25
2.2	19.75	19.49	20.59	19.94 ± 0.57
2.3	21.46	22.09	21.07	21.54 ± 0.52

Para las tres comparaciones se tiene que no existen diferencias estadísticamente significativas, F_{Exp} es menor que F_{Tab} en todos los caso, y por tanto, queda demostrado que el método de síntesis propuesto cumple con la condición de repetibilidad; y se puede concluir que el control sobre los parámetros de temperatura, concentración del álcali y el tiempo de reacción; efectuados durante la síntesis 2, generan como producto de reacción un quitosano con grado de acetilación de 21.95, lo que equivale a un grado de desacetilación de 78.05%.

Tabla 4.6 ANOVA del grado de acetilación obtenido mediante espectroscopia infrarroja de las tres repeticiones del método de síntesis 2.

Producto	S	S ²	F _{Exp}
2.2	0.57	0.32	5.19
2.1	0.25	0.06	
2.3	0.52	0.27	4.32
2.1	0.25	0.06	
2.2	0.57	0.32	1.20
2.3	0.52	0.27	

$$F_{\text{tab}} (F_{2, 2, 0.10}) = 9$$

En la tabla 4.7 se recogen los resultados del estudio espectroscópico de los productos del método de síntesis 3 y el análisis estadístico se presenta en la tabla 4.8.

Tabla 4.7 Grado de acetilación de los productos del método de síntesis 3.

Producto	GA ₁	GA ₂	GA ₃	$\overline{GA} \pm s$
3.1	10.43	11.55	12.18	11.39 ± 0.89
3.2	11.34	11.93	11.14	11.47 ± 0.41
3.3	11.21	10.43	12.11	11.25 ± 0.84

Para las tres comparaciones se tiene que no existen diferencias estadísticamente significativas, F_{Exp} es menor que F_{Tab} en todos los caso, por tanto, queda demostrado que el método de síntesis propuesto cumple con la condición de repetibilidad; y se puede concluir que el control sobre los parámetros de temperatura, concentración del álcali, tiempo de reacción y polímero de partida; efectuados durante la síntesis generan como producto de reacción un quitosano con grado de acetilación de 11.37%, lo que equivale a un grado de desacetilación de 88.63%.

Tabla 4.8 ANOVA del grado de acetilación obtenido mediante espectroscopia infrarroja de las tres repeticiones del método de síntesis 3.

Producto	S	S ²	F _{Exp}
3.1	0.89	0.79	4.71
3.2	0.41	0.17	
3.1	0.89	0.79	1.12
3.3	0.84	0.70	
3.3	0.84	0.70	4.20
3.2	0.41	0.17	

$$F_{tab}(F_{2, 2, 0.10}) = 9$$

Los resultados de los productos del método de síntesis 4 se reportan en la tabla 4.9 y el análisis estadístico se presentan en la tabla 4.10. Ya que no existen diferencias estadísticamente significativas, F_{Exp} es menor que F_{Tab} en todos los casos, por lo que queda demostrado que el método de síntesis propuesto cumple con la condición de repetibilidad.

Tabla 4.9 Grado de acetilación de los productos del método de síntesis 4.

Producto	GA ₁	GA ₂	GA ₃	$\overline{GA} \pm s$
4.1	10.43	10.59	8.90	9.97 \pm 0.93
4.2	6.44	5.75	5.60	5.93 \pm 0.44
4.3	8.77	7.85	8.39	8.33 \pm 0.46

Tabla 4.10 ANOVA del grado de acetilación obtenido mediante espectroscopia infrarroja de las tres repeticiones del método de síntesis 4.

Producto	S	S ²	F _{Exp}
4.1	0.93	0.86	4.68
4.2	0.44	0.19	
4.1	0.93	0.86	3.18
4.3	0.46	0.27	
4.3	0.46	0.27	1.42
4.2	0.44	0.19	

$$F_{\text{tab}} (F_{2, 2, 0.10}) = 9$$

Se puede concluir que el control sobre los parámetros de temperatura, concentración del álcali, tiempo de reacción y material de partida efectuados en esta síntesis generan

como producto de reacción un quitosano con grado de acetilación de 8.07, lo que equivale a un grado de desacetilación de 91.92%.

4.3 VALORACIÓN POTENCIOMÉTRICA DE LOS PRODUCTOS

Para corroborar los resultados obtenidos por métodos espectroscópicos, se procedió a analizar el contenido de grupos amino en las muestras de quitosano por titulación potenciométrica. Sin embargo, las muestras obtenidas mediante el método de síntesis 1 no presentan solubilidad en medio ácido, por lo cual no han sido analizadas por esta técnica.

Para realizar la cuantificación se disuelve el polímero en ácido clorhídrico y se valora la mezcla con hidróxido sódico, tal y como se describió en el apartado 3.4.3. En las figuras 4.6 a la 4.8 se presentan las curvas de titulación de los productos 2.1, 3.1 y 4.1. En todos los casos se obtiene una curva de titulación con dos puntos de inflexión, cuyos valores exactos se determinaron según el criterio de la primera derivada.

Tal y como se explicó en la sección 2.3.3, la diferencia entre los dos puntos de inflexión en la curva de titulación, corresponde a la cantidad de ácido requerido para protonar los grupos amino presentes en la estructura del quitosano, la concentración de éstos se determina por la ecuación (2.10).

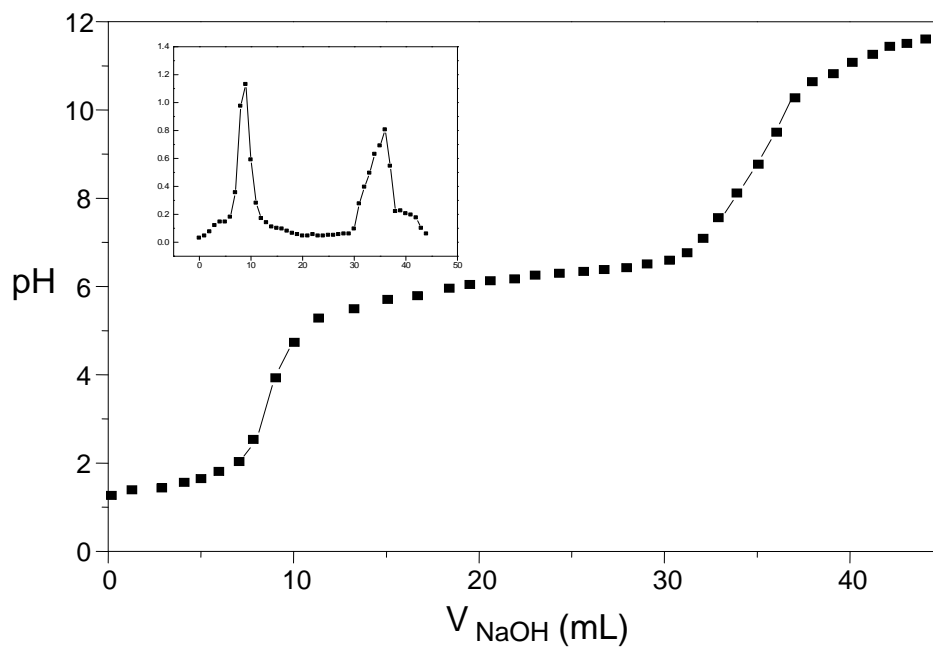


Figura 4.6 Curva de titulación producto 2.1. En el recuadro se muestra la primera derivada.

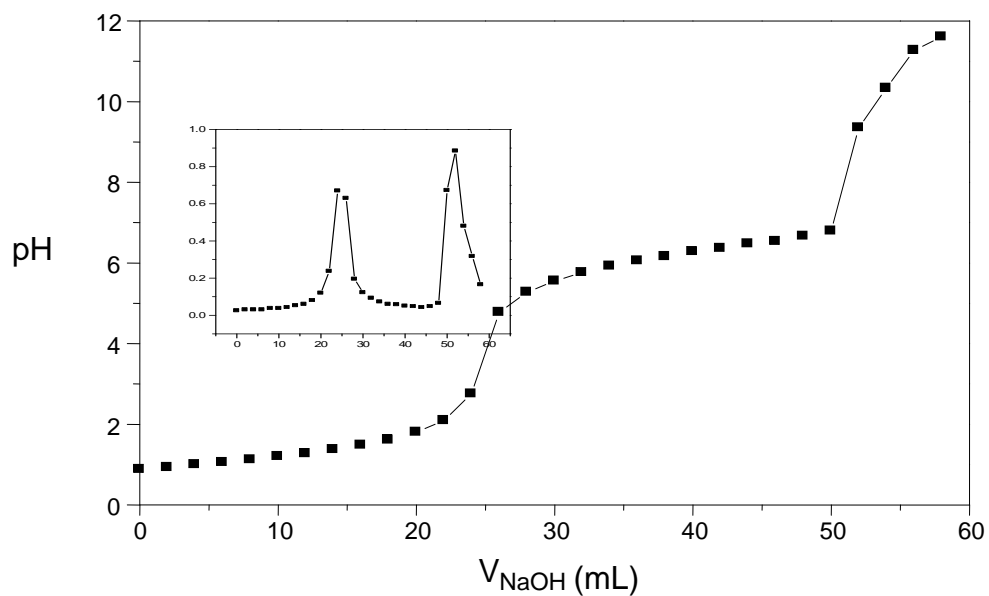


Figura 4.7. Curva de titulación producto 3.1. En el recuadro se muestra la primera derivada.

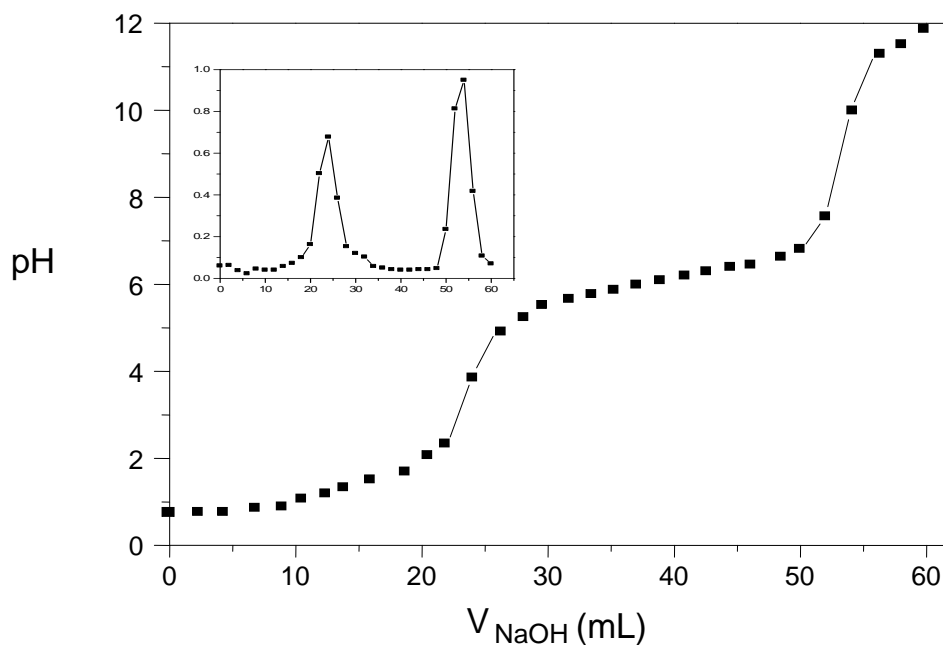


Figura 4.8. Curva de titulación producto 4.1. En el recuadro se muestra la primera derivada.

Las titulaciones realizadas a los productos obtenidos a partir de los métodos de síntesis 2, 3 y 4 se realizaron por triplicado; el porcentaje de grupos amino promedio calculados para cada método de síntesis se muestran en las tablas 4.11, 4.12 y 4.13, respectivamente.

Tabla 4.11 Porcentaje de grupos amino de los productos obtenidos a partir del método de síntesis 2.

Producto	(% NH ₂) ₁	(% NH ₂) ₂	(% NH ₂) ₃	% $\overline{\text{NH}}_2 \pm s$
2.1	77.28	76.74	77.45	77.16 \pm 0.37
2.2	77.15	77.80	77.07	77.34 \pm 0.40
2.3	74.06	73.55	76.50	74.70 \pm 1.58

Tabla 4.12 Porcentaje de grupos amino de los productos obtenidos a partir del método de síntesis 3.

Producto	(% NH ₂) ₁	(% NH ₂) ₂	(% NH ₂) ₃	% $\overline{\text{NH}}_2 \pm s$
3.1	83.75	83.53	83.63	83.63 \pm 0.10
3.2	86.94	86.70	85.06	86.23 \pm 1.02
3.3	83.05	83.17	83.94	83.39 \pm 0.48

Tabla 4.13 Porcentaje de grupos amino de los productos obtenidos a partir del método de síntesis 4.

Producto	(% NH ₂) ₁	(% NH ₂) ₂	(% NH ₂) ₃	% $\overline{\text{NH}}_2 \pm s$
4.1	94.85	94.79	93.10	94.25 \pm 0.99
4.2	95.49	95.71	96.51	95.90 \pm 0.54
4.3	90.96	91.57	93.72	92.08 \pm 1.45

De los resultados obtenidos en la titulación potenciométrica se concluye que, los productos obtenidos a partir del método de síntesis 2 contienen un porcentaje promedio de grupos aminos de 76.40 %; así mismo, los datos indican que el biopolímero obtenido en las repeticiones del método de síntesis 3 tienen un porcentaje promedio de 84.41% y finalmente que la proporción promedio de grupos amino es mayor en los productos del método de síntesis 4, correspondiente a un 94.07% ; lo que confirma que los métodos de síntesis propuestos permiten la obtención de productos con grados de desacetilación específicos.

4.4 DETERMINACIÓN DEL PESO MOLECULAR PROMEDIO VISCOZO

Los resultados de la determinación del peso molecular promedio viscoso de los productos obtenidos por los métodos de síntesis propuestos, son presentados en este apartado.

Para ello se procedió a determinar la viscosidad intrínseca $[\eta]$ de cada uno de los productos, aplicando la ecuación (2.5) que relaciona la viscosidad reducida (η_{esp} / C_2) con la concentración:

$$\frac{\eta_{\text{esp}}}{C_2} = [\eta] + K[\eta]^2 C_2$$

Las medidas viscosimétricas se han realizado, tal y como se ha comentado en la parte experimental, en un viscosímetro capilar de tipo Ubbelohde, a una temperatura de 25°C, utilizando una mezcla compuesta de ácido acético 0.1 M y cloruro de sodio 0.2 M como disolvente, y a una concentración inicial de 1×10^{-3} g/mL. Una vez establecidas las condiciones de trabajo se procedió a determinar los tiempos de caída de la mezcla disolvente (t_0) y de cinco disoluciones poliméricas de concentración diferente (t), preparadas por dilución al interior del viscosímetro, a partir de la original.

Al dividir el valor de la viscosidad específica entre la concentración se obtiene la viscosidad reducida, que es la que se sustituye en la ecuación de Huggins para determinar la viscosidad intrínseca. Al representar la viscosidad reducida frente a la concentración, para soluciones de concentración diferente, se obtiene una línea recta con un intercepto igual a la viscosidad intrínseca de la muestra polimérica en estudio.

En las tablas 4.14-4.16 se presentan los resultados del análisis viscosimétrico a 25°C en NaCl/HOAc realizado a los productos 2.1, 3.1 y 4.1, obtenidos a partir de los métodos de síntesis 2, 3 y 4; cada uno de los productos se analizó por duplicado. Debido a que los productos del método de síntesis 1 no son solubles en ácido acético diluido no se reporta en esta memoria el valor de su peso molecular promedio viscoso.

El cálculo de las líneas de regresión se efectuó por el método de mínimos cuadrados, a partir del ajuste de los valores de viscosidad reducida (y) versus la concentración (x). El coeficiente de correlación (r) en ninguno de los casos fue menor a 0.997. El intercepto de cada ecuación (a) es igual a la viscosidad intrínseca, y de la pendiente (b) se obtiene la constante de Huggins. Además, se reportan los valores de la desviación estándar de la regresión (S_r), para cada caso.

Tabla 4.14 Análisis viscosimétrico, a 25°C en NaCl/HOAc, del producto 2.1.

Concentración (g/mL)	Tiempo de caída* (s)	η_{esp} / c_2 (mL/g)
1.00×10^{-3}	150.51	754.48
8.89×10^{-4}	141.33	728.39
8.00×10^{-4}	134.54	710.48
6.67×10^{-4}	124.43	675.39
5.71×10^{-4}	118.11	660.00
* $t_0 = 85.79$ s		$a = 529.34$ $b = 224604.86$ $S_r = 2.75$ $r = 0.998$

Tabla 4.15 Análisis viscosimétrico, a 25°C en NaCl/HOAc, del producto 3.1.

Concentración (g/mL)	Tiempo de caída* (s)	η_{esp} / c_2 (mL/g)
1.00×10^{-3}	131.47	532.55
8.89×10^{-4}	126.07	519.01
8.00×10^{-4}	120.70	508.73
6.67×10^{-4}	113.85	490.56
5.71×10^{-4}	109.35	481.12
* $t_0 = 85.79$ s		$a = 410.73$ $b = 121790.55$ $S_r = 1.00$ $r = 0.999$

Tabla 4.16 Análisis viscosimétrico, a 25°C en NaCl/HOAc, del producto 4.1.

Concentración (g/mL)	Tiempo de caída (s)	η_{esp} / c_2 (mL/g)
1.00×10^{-3}	118.38	417.29
8.89×10^{-4}	113.82	411.20
8.00×10^{-4}	110.31	405.31
6.67×10^{-4}	105.59	398.19
5.71×10^{-4}	102.25	392.41
* t_0 = 85.79 s		a = 359.29 b = 58040.50 $S_r = 0.32$ r = 0.999

La representación de la viscosidad reducida como función de la concentración para los productos correspondientes a los métodos de síntesis 2, 3 y 4 se presenta en las figuras 4.9 a 4.11.

En todos los casos se observa una disminución de la viscosidad reducida a medida que la concentración del polímero disminuye, lo que indica que se cumple la expresión de Huggins para el polímero en estudio, en las condiciones de trabajo utilizadas.

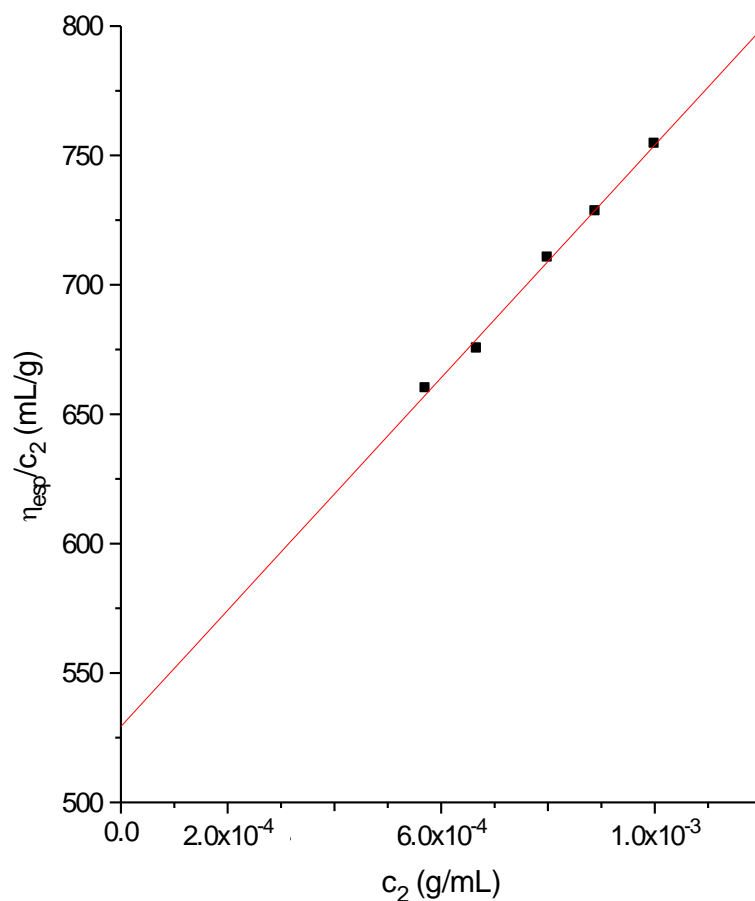


Figura 4.9 Representación de Huggins, a 25°C en NaCl/HOAc, del producto 2.1.

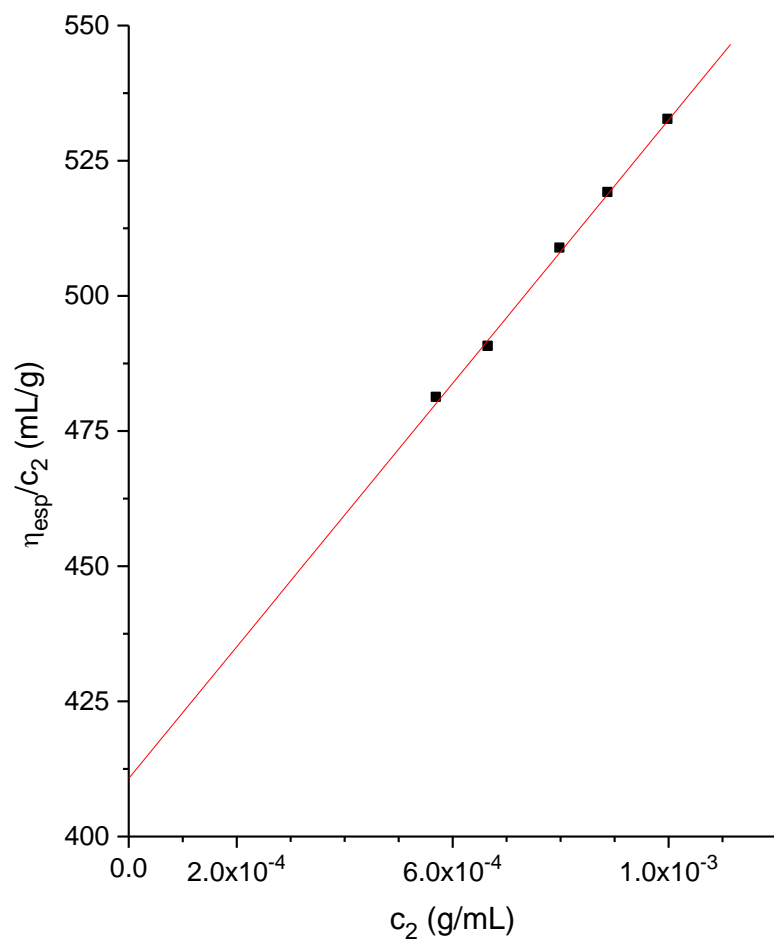


Figura 4.10 Representación de Huggins, a 25°C en NaCl/HOAc, del producto 3.1.

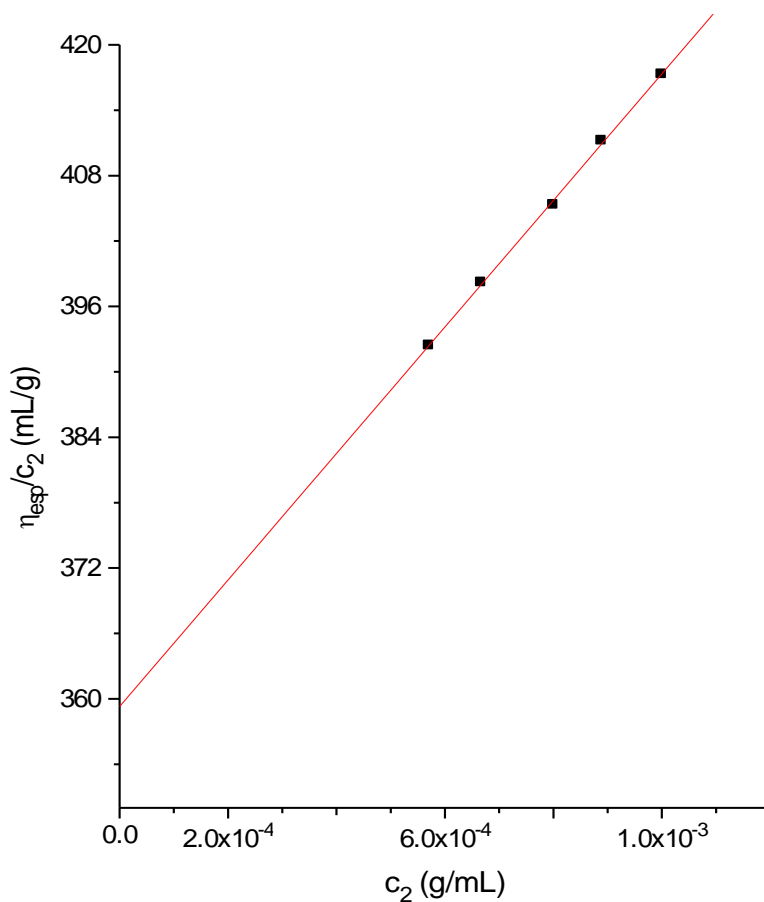


Figura 4.11 Representación de Huggins, a 25°C en NaCl/HOAc, del producto 4.1.

La viscosidad intrínseca mide el volumen específico efectivo de un polímero aislado, razón por la que su determinación se realiza extrapolando a concentración nula. Su valor depende del tamaño y forma de la molécula de soluto, así como de su interacción con el disolvente y de la temperatura de trabajo.

Como hemos señalado previamente, para un sistema polímero-disolvente a una temperatura determinada, la expresión de Mark-Houwink puede utilizarse para determinar el peso molecular promedio viscoso de un polímero. Para quitosano en la mezcla 0.1 M HOAC-0.2 M NaCl a 25°C tenemos que [19]:

$$\bar{M}_v = ([\eta]/1.81 \times 10^{-3})^{1/0.93}$$

En la Tabla 4.17 se reporta el promedio del peso molecular viscoso para las muestras obtenidas de los métodos de síntesis 2, 3 y 4

Tabla 4.17 Resumen del peso molecular promedio viscoso. Se reportan dos repeticiones para cada producto.

Producto	$(\bar{M}_v)_1$ (g/mol)	$(\bar{M}_v)_2$ (g/mol)	$\bar{\bar{M}}_v$
2.1	7.42×10^5	7.54×10^5	7.48×10^5
3.1	5.31×10^5	5.27×10^5	5.29×10^5
4.1	4.70×10^5	4.65×10^5	4.67×10^5

Los valores de peso molecular determinados reflejan que bajo las condiciones de reacción planteadas para cada uno de los métodos de síntesis, son adecuadas para obtener productos con pesos moleculares diferentes; la disminución en el peso molecular es congruente con la pérdida de grupos acetilos producto de la reacción de modificación.

CONCLUSIONES

En el capítulo anterior se han presentado los resultados de la caracterización de cuatro muestras de quitosano sintetizados mediante reacciones de desacetilación selectiva. A partir del análisis de los resultados obtenidos concluimos:

1) El análisis cualitativo de los espectros infrarrojos de cada una de las muestras indican que el control sobre los parámetros de reacción, tales como, concentración del álcali, tiempo de reacción, temperatura del sistema y polímero de partida permiten la obtención de quitosanos con grados de desacetilación específicos.

2) Los resultados del análisis potenciométricos indican que las muestras obtenidas por el método de síntesis 2 presentan un grado de desacetilación del 76.40%, así mismo demuestran que el biopolímero obtenido en el método de síntesis 3 presenta un grado de desacetilación de 84.41% y que las muestras obtenidas de la síntesis 4 poseen un grado de desacetilación del 94.07%, dichos resultados son congruentes con los obtenidos por espectroscopia infrarroja.

3) La insolubilidad en disoluciones diluidas de ácido acético presentada por las muestras obtenidas a partir del método de síntesis 1, prueba que el polímero es quitina, cuyo grado de desacetilación es de 66.21%.

4) A partir de los resultados obtenidos del análisis de varianza se ha demostrado que los métodos de síntesis propuestos cumplen con la condición de repetibilidad.

5) El peso molecular promedio viscoso de las muestras obtenidas por los métodos de síntesis 2, 3 y 4 reflejan que las condiciones de reacción propuestas son las adecuadas para obtener polímeros con pesos moleculares diferentes, la disminución en el peso molecular es congruente con la pérdida de grupos acetilos producto de la reacción de modificación.

REFERENCIAS

- [1] Kato Y., Onishi H. Machida Y.; *Current Pharmaceutical Biotechnology*, **4**: 303 (2003)
- [2] Abram A.P.; *Tesis doctoral*. Pontificia Universidad Católica del Perú (2004).
- [3] Beaney P., Lizardi-Mendoza J., Healy M.; *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **80**: 145 (2005)
- [4] Baxter A., Dillon M., Taylor K.D.A., Roberts G.A.F.; *Int. J. Biol. Macromol.* **14**: 166 (1992)
- [5] Raymond L., Morin F.G., Marchessault R.H.; *Carbohydr. Res.* **246**: 331 (1993)
- [6] Vílchez S.M.; *Tesis doctoral*. Universitat de Barcelona (2005)
- [7] Muzzarelli R.A.A.; *Cell Mol. Biol. Life Sci.* **53**: 131 (1997)
- [8] Whistler R.L.; *Polysaccharide Chemistry*. Academic Press, New York, (1983)
- [9] Rathke T.D, Hodson S.M.; *J.M.S.-Rev. Macromol. Chem.***34**: 375 (1994)
- [10] Muzzarelli R.A., Jollès P.; *Chitin and Chitinases*. Birkhauser, Alemania (1999)
- [11] Nakajima M., Atsumi K., Kifune K. Miura K, Kanamaru H.; *Jpn J Surg.* **16**: 418 (1986)
- [12] Mark H.F., Bikales N.M., Overberger C.G.; *Encyclopedia of Polymer Science and Engineering*. Vol. 1, Wiley, New York (1985)
- [13] Maletta W.G., Quingley H.J. Gaines R.D., Johnson N.D., Rainer, W.G.; *Ann Thorac Surg.***36**: 55 (1983)
- [14] Le Y., Anand S.C., Horrocks A.R.; *Indian J. Fibre Textile Res.* **22**: 337 (1997)
- [15] Muzzarelli, R.A.A. US Patent 5378472 (1995)
- [16] Nicol S. *Bioscience.* **40**: 833 (1991)
- [17] Austin P.R., Brine C.J., Castle J.E., Zikakis J.P.; *Science.* **212**: 749 (1981)
- [18] Markey M.L., Bowman M.L., Bergamini M.V.W.; *Applied Science.* 713 (1989)
- [19] Nair, K.G. Madhavan, R. P.; *Fishery Tech.* **21**: 109 (1984)
- [20] Peniche-Covas C., Alvarez L.W., Arguelles-Monal L.W.; *J. Appl. Polym. Sci.* **22**: 40 (1987)
- [21] McKay G., Blair H.S., Gardner J.R.; *J. Appl. Polym. Sci.* **27**: 3043 (1982)
- [22] Ravi M.N.V., Rajakala T., Durga K., Dutta P.K.; *Colorage* Aug. 25 (1998)
- [23] Harry S.; *Society of Dyers and Colorists*, West Yorkshire, UK, (1989)
- [24] Weber W.B.; Wiley, New York, (1992)
- [25] Huggins M.L.; *J. Am. Chem. Soc.***64**: 1712 (1942)
- [26] Peniche-Covas C.; *Bioorg. Khimia.* **1**: 1248 (1984)
- [27] Inoue Y.; *Chitin Handbook*, Grottammare, Italia (1997)
- [28] Muzzarelli R.A.A.; *Chitin*, Pergamon Press, New York (1977)
- [29] Muzzarelli R.A.A., Rochetti R.; *Carbohydr. Polym,* **5**: 461 (1985)
- [30] García I., Peniche-Covas C., Nieto J.M.; *Journal of Thermal Analysis.* **28**: 189 (1983)
- [31] Aiba S.; *Int. J. Biol. Macromol.***8**: 173 (1986)
- [32] Domard A.; *Int. J. Biol. Macromol.* **9**: 98 (1987)
- [33] Skoog D. A., West D.M.; *Análisis Instrumental*, McGraw-Hill, Mexico (1989)
- [34] Peniche, C. A.; *Tesis doctoral*, Cuba (2006)
- [35] Duarte M.L., Ferreira M.C., Marvão M.R.; *Int. J. Biol. Macromol.* **31**: 18 (2002)
- [36] Pearson F.G., Marchessault R.H., Liang C.Y. *J Polym Sci.* **43**: 101 (1960)
- [37] Sannan T., Kurita K., Ogura K., Iwakura Y.; *Polymer.* **19**: 458 (1978)
- [38] Miya M., Iwamoto R., Yoshikawa S. Mima S.; *Int J Biol Macromol.* **2**: 323 (1980)
- [39] Moore G.K., Roberts G.A.F.; *Int. J. Biol. Macromol.* **2**: 115 (1980)
- [40] Domszy J.G., Roberts G.A.F.; *Makromol Chem.* **186**: 1671 (1985)
- [41] Miya M., Iwamoto R., Ohta K., Mima S.; *Kobunshi Ronbunshu.* **42**: 181 (1985)

- [42] Roberts G.A.F.; Chitin Handbook, Grottammare, Italia (1997)
- [43] Shigemasa Y., Matsuura H., Sashiwa H., Saimoto H.; *Int J Biol. Macromol.* **18**: 237 (1996)
- [44] Minke R., Blackwell J., Gardner K.H. First International Conference on Chitin/Chitosan. Cambridge: MIT Sea Grant Program (1978).
- [45] Ferreira M.C., Marvão M.R., Duarte M.L.; Second Asia Pacific Symposium: Chitin and Chitosan. Bangkok (1994).
- [46] Peniche C., Arguelles W., Satre A.; *Biomaterials.* **20**: 1869 (1999)
- [47] Broussignac J.; *Chin. Ind. Génie Chim.* **99**: 1241 (1968)
- [48] Maghami G. A., Roberts G. A. F.; *Makromol Chem.***189**: 195 (1988)